

● ● ● **Farmacognosia /
Farmacología**

Pósters



CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE POLEN APICOLA: COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA *in vitro* DE UN POLEN COLECTADO EN EL DEPARTAMENTO DE ANTIOQUIA (COLOMBIA)

Eliana M. Cardona¹, Jhony A. Uribe¹, Jesús D. Viloría², Diego L. Durango³, **Jesús H. Gil⁴**

1. Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia

2. Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Facultad de administración, Programa de Gastronomía

3. Universidad Nacional de Colombia-Medellín, Facultad de Ciencias, Escuela de Química

4. Universidad Nacional de Colombia-Medellín, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Ingeniería Agrícola y de Alimentos; jhgilg@unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

El polen es un producto natural generado por las plantas de floración, pertenecientes a las células reproductoras masculinas de la flor^{1,2}. La composición química del polen puede variar debido a su origen botánico y geográfico; contiene carbohidratos, proteínas, lípidos, fenoles, entre otros². Adicionalmente, al polen le han conferido propiedades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes y anticancerígenas^{2,3}. El presente trabajo se realizó con el fin de obtener información sobre algunos parámetros fisicoquímicos y de actividad antioxidante y antimicrobiana del polen.

METODOLOGÍA

El polen fue recolectado en un apiario ubicado en el municipio de la Ceja (Antioquia). Los análisis fisicoquímicos (humedad, cenizas, grasa y proteínas) se realizaron siguiendo metodologías estándar (4); igualmente, se determinó el contenido de fenoles, flavonoides, ceras solubles en etanol y material insoluble en etanol. Adicionalmente, el polen se extrajo con cuatro solventes de polaridad creciente, y se determinó la actividad antimicrobiana (*Enterococcus faecalis* ATCC 25923 y *C. albicans* ATCC10231) y antioxidante (DPPH) de los extractos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los contenidos de humedad (8,08%), cenizas (1,80%), lípidos (13,63%) y proteína (19,20%) del polen estuvieron dentro de los valores establecidos en normativas internacionales (4) y por algunos autores (5). El contenido de fenoles (30,91 mg AG/g polen) y flavonoides (3,53 mg quercetina/g polen) fue semejante al obtenido en muestras de polen colectadas en el desierto de Sonora-EEUU (15,91–34,8 mg AG/g polen y 2,66 – 5,48 mg quercetina/g polen (6)) Los compuestos fenólicos están implicados en la actividad antioxidante y han sido relacionados con las propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antitumorales (2). La actividad antibacteriana y antifúngica (IC₅₀) de los extractos varió entre 438-2914 (µg/mL) y 949-<4000 (µg/mL), respectivamente; siendo mas activo, contra ambos microorganismos, el extracto hexánico. Aunque la actividad biológica del polen puede estar relacionada con el contenido de compuesto fenólicos; es posible que asimismo sea atribuible a compuestos de naturaleza no polar (7). Finalmente, la actividad antioxidante (equivalentes de trolox) varió entre 0.001 y 0.01 mM, siendo mayor la actividad del extracto metanólico. La capacidad antioxidante es asociada principalmente a compuestos de naturaleza fenólica, los cuales son principalmente solubles en solventes polares como el metanol.

CONCLUSIÓN

Con este estudio se muestra que el polen de abejas analizado puede ser una fuente de compuestos con capacidad antioxidante (fenoles y flavonoides); también es notable su potencial para obtener principios con actividad antimicrobiana; no obstante, son necesarios estudios biodirigidos complementarios.

FINANCIAMIENTO

A la Universidad Nacional de Colombia y MADR-CENIREC por la financiación del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Basim, E., et al., *Journal of Food Engineering*, 2006. 77(4): 992-996.
2. Morais, M., et al., *Food and Chemical Toxicology*. 2011. 49 (5): 1096-1101.
3. Šarić, A., et al., *Food and Chemical Toxicology*, 2009. 47(3): p. 547-554.
4. Ministério de Agricultura de Brasil. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de pólen apícola. <http://www.agricultura.gov.br/>.
5. Campos, M., et al.,. *Journal of Apicultural Research* 2008. 47, 156–163.
6. LeBlanc, B., et al., *Food Chemistry* 2009. 115, 1299–1305.
7. Custodio, A., , et.al. *J. Braz. Chem. Soc.*, 2003. 14, 354-357.



TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR DEL EXTRACTO ACUOSO DEL *Oritrophium peruvianum* Y SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Peña Alexis¹, Usubillaga Alfredo², Alarcón Libia^{1,2}, Lorena Díaz³, De Lima Wilberto², Perez Alida², Aparicio Rosa², Rojas Luis²

1. Núcleo Universitario Rafael Rangel, Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela; penaalexis@ula.ve
2. Laboratorio "A" de Productos Naturales, Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela
3. Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela

INTRODUCCIÓN

Las Asteraceae comprenden más de 1700 géneros y unas 24000 especies distribuidas por todo el mundo (distribución cosmopolita), es una de la familia más grande, sola comparada con la familia Orquidiaceae y ha sido objeto de una gran cantidad de estudios. En Venezuela se conocen cerca de 760 géneros y 210 especies. El frailejón morado (*Oritrophium peruvianum* (Lam.) Cuatrec.), es una planta que crece a partir de los 3000 metros de altitud en los Andes de Venezuela. Actualmente comprende 19 especies reconocidas que conforman la subtribu Hinteruberinae (Asteraceae). Los campesinos de la región de los andes venezolanos utilizan la planta para tratar afecciones respiratorias y se utiliza como base para la fabricación de un jarabe para tratar el asma¹. Se estableció como objetivo determinar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso del *Oritrophium peruvianum*, y evaluar su posible actividad antioxidante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: La especie fue colectada en la localidad El pedregal Vía el Tisure en el estado Mérida- Venezuela a una altura aproximada de 3.798 m.s.n.m. N 8°C 4,394', O 70°C 49,233'. Un espécimen testigo fue depositado en el herbario MERF.

Extracción: La planta fue pesada (1 kg) lavada y cortada en trozos pequeños y posteriormente licuada con abundante agua, se colocó en un balón de 12 L y se adiciono agua c/s, luego se sometió a una temperatura de 50°C, durante tres horas aproximadamente y se filtro, posteriormente el extracto concentrado a presión reducida a 50°C.

Tamizaje fitoquímico: El extracto acuoso se evaluó cualitativamente para determinar la presencia de sus constituyentes químicos, usando pruebas químicas estándares²⁻³.

Actividad antioxidante: fue evaluada por el método secuestrante de radicales libres (DPPH)⁶.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los metabolitos secundarios más abundantes encontrados en la planta son las cumarinas y los compuestos fenolicos, seguido de los alcaloides, estos resultados concuerdan con los reportados en la literatura para la familia⁴⁻⁵.

CONCLUSIÓN

El extracto posee actividad antioxidante con un IC₅₀ = 0,49.

FINANCIAMIENTO

Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT-PROYECTO 3371)

BIBLIOGRAFÍA

1. Aranguren, A., Marquéz, J., Prato R., Lesenfants I. Use, collection, commercialization, and vulnerability of two species of the genus *Oritrophium* (*O. venezuelense* and *O. peruvianum*) in the Venezuelan Andes. *Acta Botánica Venezuelica*. 1996; 19: 16- 38.
2. Shyamala –Gowri S, Vasantha K. *Phytochemical screening and antibacterial activity of Syzygium cumini* (L.) (Myrtaceae) leaves extracts. *Int.J. PharmTech Res.* 2012; 2(2): 1569-1573.
3. Orantes, S. *Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca Quararibea yunckeri Standley Subsp. izabalensis W.S. Alverson ex Véliz (Bombacaceae)* [Tesis de Licenciatura en Química]. Guatemala: Universidad de San Carlos. 2010. p. 13.
4. Domínguez D. M., Reina, M., Santos-Guerra, A., Santana, O., Agulló, T., López-Balboa, C., Gonzalez-Coloma, A. Pyrrolizidine alkaloids from Canarian endemic plants and their biological effects. *Bio. System. and Ecol.* 2008; 36 (3):153–166.
5. Souza, S.P.; Cardoso, M.G., Souza, P.E.; Guimaraes, L.G.L.; Andrade, J.; Mallet, A.C.T.; Nelson, D.L. Oleo esencial de *Baccharis tridentata* Vahl: composição química, actividade antioxidante e fungitóxica, e caracterização morfológica das estruturas secretoras por microscopia electrónica de varredura. *Rev. Bras. Pl. Med.* 2011; 13(4): 456-66.



TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE LA CORTEZA Y RAÍCES DE *Solanum psycophanta* (SOLANACEAE) Y SU ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Alarcón Libia^{1,2}, Usubillaga Alfredo², Peña Alexis¹, De Lima Wilberto², Perez Alida², Aparicio Rosa², Rojas Luis², Yudith Velasco³

1. Núcleo Universitario Rafael Rangel, Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela; libialarcon@ula.ve
2. Laboratorio "A" de Productos Naturales, Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela
3. Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Mérida, Venezuela

INTRODUCCIÓN

La familia Solanaceae, pertenece al orden Tubifloreae, el cual se encuentra dentro de la subclase Sympetalae¹. El género *Solanum*, es el de mayor representación en la familia, con alrededor de 1900 especies, distribuido en las regiones tropicales y templadas del mundo. En Venezuela, de muy amplia distribución con alrededor de 109 especies. Este género posee gran importancia desde el punto de vista medicinal ya que se le han atribuido propiedades farmacológicas diversas, estas se han empleado en el tratamiento de heridas, cáncer, hongos, en la hipertensión arterial, como analgésico y antiinflamatorio además de otras aplicaciones como insecticidas naturales y mulusquicidas, existen numerosos estudios que avalan científicamente estas propiedades². El objetivo del presente trabajo es determinar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en los extractos polares de la corteza, y las raíces de *S. psycophanta*, evaluar su posible actividad antibacteriana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: La corteza, y las raíces de *S. psycophanta* fueron colectados en la vía Panamericana, sector denominado La Chorrera, en febrero de 2012, a 13 Km de la carretera Mérida – Jají, La especie fue determinada como *Solanum sycophanta*. Un espécimen testigo (Miranda, D y Usubillaga, A. N° 1946) fue depositado en el herbario MERF.

Extracción: El material vegetal fue secado en una estufa con recirculación de aire a 40 °C, fue molido y extraído exhaustivamente empleando la técnica de reflujo en caliente durante 2 horas a una temperatura constante de 40 °C con una mezcla de solvente MeOH: H₂O (70:30 respectivamente)³.

Tamizaje fitoquímico: Los extractos hidro-alcohólicos crudos se evaluaron cualitativamente para determinar la presencia de sus constituyentes químicos, usando pruebas químicas estándares⁴⁻⁵.

Actividad antibacteriana: Fue evaluada usando el método de difusión en agar con disco².

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los alcaloides, compuestos fenólicos y glucósidos se encontraron en mayor proporción en la corteza, las saponinas, triterpenos y cumarinas se encuentran en cantidades semejantes en ambas partes de la planta, estos resultados concuerdan con los reportados en la literatura para el género².

CONCLUSIONES

El extracto hidroalcolico de la corteza mostró actividad antibacteriana frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y SARM N° 525 (*Staphylococcus aureus* resistente a metilicina), con una CIM entre 500 a 450 µg/mL respectivamente.

FINANCIAMIENTO

Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT)

BIBLIOGRAFÍA

1. Hokche O, Berry PE, & Huber O. *Nuevo Catalogo de la Flora Vascular de Venezuela*. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas Venezuela; 2008. p. 524.
2. Libia Alarcón. Contribución al estudio de los alcaloides esteroidales del *Solanun hypomalocophyllum* Bitter y del *Solanum pscophanta*. Trabajo de grado de maestría en química aplicada. Universidad de Los Andes. Mérida Venezuela; 2006.
3. Marcano D, Hasegawa M. *Fitoquímica orgánica*. 2 da. Edición. Caracas-Venezuela: Universidad Central de Venezuela; 2002. 57-59.
4. Shyamala –Gowri S, Vasantha K. *Phytochemical screening and antibacterial activity of Syzygium cumini (L.) (Myrtaceae) leaves extracts*. Int.J. PharmTech Res. 2012; 2(2): 1569-1573.
5. Orantes, S. *Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca Quararibea yunckeri Standley Subsp. izabalensis W.S. Alverson ex Véliz (Bombacaceae)* [Tesis de Licenciatura en Química]. Guatemala: Universidad de San Carlos. 2010. p. 13.



COMPOSICIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES Y ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE TRES PLANTAS MEDICINALES SOBRE *Botrytis cinerea* PERS: FR. Y *Colletotrichum acutatum* SIMM

Rodolfo Fulgencio-Negrete¹, Rafael Torres-Martínez¹, Yolanda García Rodríguez², Alejandra Hernández-García¹, Rodolfo López-Gómez¹, Mauro M. Martínez-Pacheco¹, Sylvia P. Fernández-Pavía³, Miguel A. Bello-González⁴, Marco A. Cortés-Rodríguez⁵, **Rafael Salgado-Garciglia¹**

1. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), Edif. B3, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán 58030, México; rafael.salgadogarciglia@gmail.com
2. Centro de Investigación en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán 58190, México
3. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, UMSNH). Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro, Tarímbaro, Michoacán 58880, México
4. Facultad de Agrobiología Presidente Juárez, UMSNH, Paseo Lázaro Cárdenas S/N esq. Berlín, Uruapan, Michoacán 60190, México
5. Centro de Bachillerato Tecnológico Industrial y de Servicios No. 149, Paseo Periférico de la Republica 1149, Morelia, Michoacán 58180, México

INTRODUCCIÓN

México ocupa el 7° lugar de producción de fresa a nivel mundial, pero se tienen cuantiosas pérdidas por el ataque de hongos fitopatógenos, que lleva a una disminución en el rendimiento, un 20% por debajo de la producción mundial¹. Una de las alternativas es el utilizar extractos vegetales como antifúngicos, particularmente sobre aquellos de gran importancia como *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum acutatum*. Las plantas medicinales representan la materia prima para obtener compuestos con propiedades antifúngicas. Entre éstos, los componentes volátiles de los aceites esenciales, principalmente los de tipo terpenoide tienen propiedades antifúngicas².

Plantas como nurite (*Satureja macrostema* Benth. 'Briq.'), Santa maría (*Tagetes lucida* Cav.) y toronjil (*Agastache mexicana* 'Kunth' Lint et Epling ssp. *mexicana*), plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana, poseen propiedades antifúngicas contra hongos patógenos de humano, debido al alto contenido de compuestos volátiles^{3,4,5}. El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto antifúngico de extractos de nurite, Santa María y toronjil, sobre los hongos *B. cinerea* y *C. acutatum*, patógenos de fresa.

METODOLOGÍA

Para la obtención de los extractos, se colectó la parte aérea (tallos, hojas y flores) en el período de floración para cada planta, en la comunidad de Nuevo San Juan Parangaricutiro (Michoacán, México). Los extractos se obtuvieron por maceración en hexano (100 g/L) por 5 días a 4-10°C, preparando cada uno en etanol absoluto a una concentración de 1 m/mL. Los ensayos se realizaron por difusión en placa y con discos impregnados, para *B. cinerea* y *C. acutatum*, aplicando 50 µL de cada extracto. Los extractos hexánicos de cada planta fueron analizados por CG-EM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con los resultados obtenidos, se seleccionó el extracto más activo, encontrando que el derivado de *T. lucida* ejerció un 100% de mortalidad en los dos hongos bajo ambos métodos de ensayo. Los extractos de *A. mexicana* y *S. macrostema* mostraron un efecto inhibitorio similar en ambos hongos, con porcentajes de inhibición menores del 30%. Este efecto antifúngico de *T. lucida* corrobora lo ya reportado por diversos investigadores, quienes describen que extractos etanólicos derivados de parte aérea poseen compuestos que inhiben el crecimiento de hongos patógenos de humano^{4,5}. El análisis cromatográfico comparativo de los volátiles de las tres plantas mostró diferencias en el tipo y cantidad de los compuestos mayoritarios. En *S. macrostema* fueron pulegona y linanol, en *A. mexicana* los terpenos estragol y limoneno y en *T. lucida*, metileugenol y estragol.

CONCLUSIONES

El extracto de *T. lucida* (Santa María) mostró el mayor efecto fungicida en ambos hongos y los porcentajes de inhibición fueron dependientes de la planta medicinal, corroborando una relación entre el efecto antifúngico y el contenido de volátiles.

FINANCIAMIENTO

CIC/rsg 2.10-UMSNH (2012-2013).

BIBLIOGRAFÍA

1. FAOSTAT, 2006. Database Gateway.
<http://apps.fao.org/lim500/nphwrap.pl.Production.Crops.Primary&Domain=SUA8Language=espanol8servlet=1>.
2. Singh, R., Sharma R.R. y Goyal R.K. 2007. *Sci. Hort.*, 111:334-351
3. Bello, G.M.A. 2006. Libro Técnico No. 4. CIRPAC. INIFAP. México. 138p.
4. Cespedes, C.L., Avila G.J., Martinez A., Serrato B., Calderon-Mugica J.C. y Salgado-Garciglia R. 2006. *J. Agric. Food Chem.*,54:3521.
5. Damían-Badillo, L.M., Salgado-Garciglia R., Martínez-Muñoz R.E. y Martínez-Pacheco M.M. 2008. *The Open Natural Products J.*,1:27-33.



EFFECTO ANTIHIPERTENSIVO DEL EXTRACTO CLOROFÓRMICO DE *Justicia spicigera* EN RATAS HIPERTENSAS INDUCIDAS CON L-NAME

Edgar R. Esquivel-Gutiérrez¹, Ruth Noriega-Cisneros¹, Melchor Arellano-Plaza¹, Maximiliano Ibarra-Barajas², Alfredo Saavedra-Molina¹ y **Rafael Salgado-Garciglia¹**

1. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, 58030 México; rafael.salgadogarciglia@gmail.com

2. FES-Iztacala, UNAM, Tlalnepantla, Edo. de México, 54090 México

INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial es una condición que afecta a casi 1 billón de personas en todo el mundo y es una causa importante de morbilidad y mortalidad^{1,2}. En México, el 30.8% de las personas mayores de 20 años tienen hipertensión (aprox. 17 millones adultos). En general, el tratamiento actual de la hipertensión es costoso por lo que una parte de la población frecuentemente hace uso de las plantas como terapia alternativa. En México, esta actividad es una práctica común en las comunidades originarias y se correlaciona con la diversidad de plantas y el conocimiento etnobotánico de los pueblos. No obstante, a nivel mundial la validación química de los efectos farmacológicos de plantas sólo se ha realizado en un 5% de las especies vegetales medicinales³. Un ejemplo de éstas es el muicle (*Justicia spicigera*) (Acanthaceae) que se utiliza para el tratamiento de varios trastornos, incluyendo la hipertensión. En esta investigación se estudiaron los efectos del extracto clorofórmico de la parte aérea de muicle sobre la presión arterial en ratas hipertensas L-NAME, identificando los posibles principios activos involucrados en la actividad antihipertensiva del extracto.

METODOLOGÍA

El extracto clorofórmico de muicle se obtuvo por maceración por 5 días, en una proporción de 10 mL de solvente por gramo de materia pulverizada de la parte aérea de plantas (tallo, hojas y flor). El extracto fue disuelto en DMSO 5% a una concentración de 150 mg/mL. Para el estudio, se usó el modelo de ratas hipertensas inducidas con L-N^G-Nitroarginina metil éster (L-NAME) a una dosis de 75 mg/kg/18 días, en las que se administró una dosis de 150 mg/kg del extracto por vía oral, midiendo la presión arterial 3 h después usando un pletismógrafo. Por análisis en HPLC, se determinó la presencia y cantidad de los flavonoides mayoritarios del extracto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran que el extracto clorofórmico tuvo un efecto antihipertensivo, su aplicación fue responsable de la disminución de la presión arterial en ratas L-NAME, de valores de 180/164 ± 1.7/3.2 mmHg a 149/133 ± 4.0/3.7 mmHg (sistólica/diastólica). En animales control tratados con vehículo (DMSO 5%), la presión arterial no se afectó. Extractos clorofórmicos de diferentes plantas han sido utilizados en modelos de hipertensión para evaluar los efectos vaso-relajantes. El análisis por HPLC del extracto clorofórmico de *J. spicigera* mostró tres principales señales correspondientes a hesperidina, naringenina y kaempferol.

CONCLUSIÓN

Estos resultados demuestran el efecto hipotensivo *in vivo* del extracto clorofórmico de *J. spicigera*, lo cual justifica el uso tradicional de esta planta en el tratamiento de la hipertensión. Se requieren más estudios para determinar el perfil farmacológico, los flavonoides son potencialmente los responsables de dicha actividad.

FINANCIAMIENTO Y AGRADECIMIENTOS

CIC/UMSNH-RSG2012, CIC/UMSNH-ASM2011 y CONACYT (169093). Agradecimiento por el apoyo técnico a Q. Yolanda Rodríguez-Aza (CINVESTAV Campus Guanajuato, México).

BIBLIOGRAFÍA

1. www.who.org. 2012. Hypertension guidelines.
2. Vergara-Galicia, J., Ortiz-Andrade R., Rivera-Leyva J., Castillo-España P., Villalobos-Molina R., Ibarra-Barajas M., Gallardo-Ortiz I. y Estrada-Soto S. 2010. *Fitoterapia* 81:350-357.
3. Hernández-Abreu, O., Castillo-España P., León-Rivera I., Ibarra-Barajas M., Villalobos-Molina R., González-Christen J., Vergara-Galicia J. y Estrada-Soto S. 2009. *Biochem Pharmacol* 78:54-61.



EFFECTO DE UN DERIVADO TIPO LIGNANO CON EL ESQUELETO DE 6,7-METILENDIOXI-TETRAHIDROQUINOLINA (DM116) SOBRE EL CICLO CELULAR DE LÍNEAS CELULARES DE LEUCEMIA LINFOIDE Y MIELOIDE, PERO NO DE CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA

Verónica Tangarife Castaño¹, Mauricio Rojas-López², Julieth Correa-Royero¹,
Diego R. Merchan Arenas³, Vladimir V. Kouznetsov³, Liliana Betancur Galvis¹

1. Grupo de Investigación Dermatológica, Facultad de Medicina, Departamento de Medicina Interna, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia; Tel.: +574 2196064; verotanga@gmail.com
2. Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética. Unidad de Citometría, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia
3. Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

INTRODUCCIÓN

Los productos naturales han sido una fuente importante para la obtención de diferentes agentes antineoplásicos (1). Las tetrahydroquinolinas y lignanos son biomoléculas con importante actividad biológica, entre ellas la actividad antitumoral (2-3). Por su parte, las leucemias representan la novena causa de morbilidad y la séptima causa de mortalidad en el mundo, lo que ha impulsado la búsqueda de nuevos tratamientos (4). En este trabajo, se evaluó la actividad citotóxica de treinta y seis derivados de quinolinas sobre líneas celulares de leucemia linfóide, leucemia mieloide y células no tumorales; además del efecto del derivado tipo lignano con el esqueleto de 6,7-metilendioxi-tetrahydroquinolina (DM116) sobre el potencial de membrana mitocondrial, integridad de membrana plasmática, exposición de fosfatidilserina y el ciclo celular en líneas celulares de leucemias y/o MNSP.

METODOLOGÍA

La actividad citotóxica de derivados de tetrahydroquinolinas se evaluó sobre las líneas celulares de leucemia linfóide (Jurkat ATCC TIB-152), leucemia mieloide (U937 ATCC CRL-1593.2) y las células no tumorales (Vero ATCC CCL-81) usando la técnica colorimétrica del MTT. Los efectos sobre potencial de membrana mitocondrial, integridad de membrana plasmática, exposición de fosfatidilserina y el ciclo celular en células Jurkat, U937 y/o MNSP se determinaron por citometría de flujo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La actividad citotóxica de treinta y seis derivados de tetrahydroquinolinas fue evaluada sobre células Jurkat y U937. Cuatro moléculas con actividad citotóxica en concentraciones <50 μ M fueron evaluadas sobre células Vero por la técnica del MTT y sobre MNSP por citometría de flujo. El derivado DM116 presentó un índice de selectividad >4 sobre las células de leucemia respecto a las células Vero, y un efecto sobre el potencial de membrana mitocondrial e integridad de membrana plasmática en menos del 10% en MNSP. El DM116 fue seleccionado para las subsiguientes evaluaciones de especificidad, encontrándose retención en el ciclo celular en la fase G2/M en células Jurkat y U937 a 10 μ M a las 24h de tratamiento, efecto que no se observó en los MNSP, además se encontró exposición de fosfatidilserina y caída de potencial mitocondrial en ~20% de las células Jurkat y U937, y daño de membrana plasmática en ~10% de las células a esta misma concentración.

CONCLUSIONES

Los resultados anteriores demuestran que la actividad citotóxica del derivado DM116 es selectiva sobre células de leucemia, lo que indica la importancia de continuar con el estudio de sus posibles blancos celulares y mecanismos de acción y las consecuentes investigaciones que permitan considerar esta molécula como un nuevo agente potencial para el tratamiento de las leucemias linfoides y mieloides.

FINANCIADORES

COLCIENCIAS Grant RC-366-2011 (Patrimonio Autónomo del Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco José de Caldas).

BIBLIOGRAFÍA

1. Nobili S, Lippi D, Witort E, Donnini M, Bausi L, Mini E, Capaccioli S. *Pharmacol Res.* 2009; 59(6):365-78.
2. Sridharan V, Suryavanshi PA, Menéndez JC. *Chem Rev.* 2011;111(11):7157-259.
3. Saleem M, Kim HJ, Ali MS, Lee YS. *Nat Prod Rep.* 2005; 22(6):696-716.
4. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. *CA Cancer J. Clin.* 2011; 61:69-90.



NEW INSIGHTS IN THE PHARMACOLOGY OF *Lippia alba* ESSENTIAL OIL

Germán A. Colareda¹, Marcos Blanco^{1,3}, Catalina van Baren², Arnaldo L. Bandoni², Jorge Ringuet³,
Alicia E. Consolini¹

1. Cátedra de Farmacología and Magister en Plantas Medicinales, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina; dinamia@biol.unlp.edu.ar

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

3. Bioquímica y Fitoquímica, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

INTRODUCTION

Lippia alba (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) is an aromatic species used as eupeptic for indigestion in Central and South America and, in Argentina, by "criollos" from the Chaco (1, 2). There are several chemotypes which differ in the chemical composition of the essential oils (3). Actually, it is experimentally cultivated in some countries of the region, including Argentina, as response to its widespread popular use.

The aim of this work was to compare the chemical composition and pharmacology of essential oils from two chemotypes of *Lippia alba*, "citral" (CEO) and "linalool" (LEO), in isolated rat duodenum and ileum, and to evaluate the behavioral effects of LEO.

METHODOLOGY

Contractile concentration-response curves (CRC) of acetylcholine (ACh) and calcium in 40 mM K⁺-medium (Ca²⁺-CRC) were done in rat isolated small intestine portions, in the absence and presence of CEO or LEO at different concentrations. Also, LEO was assessed in mice on the open-field to evaluate effects on spontaneous locomotion and exploration.

RESULTS

Both CEO and LEO induced a non-competitive inhibition of the ACh-CRC, as well as verapamil, with IC₅₀ of 7.0 ± 0.3 mg CEO/mL and 37.2 ± 4.2 mg LEO/mL. CEO increased the IC₅₀ to 26.1 ± 8.7 mg CEO/mL by the presence of L-NAME which blocks the NO-synthase. Both, CEO and LEO non-competitively inhibited the Ca²⁺-CRC as well as verapamil, with IC₅₀ of 6.3 ± 1.7 mg CEO/mL, 7.0 ± 2.5 mg LEO/mL and 0.24 ± 0.04 mg verapamil/mL (pIC₅₀: 6.28). CEO has limonene, neral, geranial and (-)-carvone as the major components, while LEO is rich in linalool. In the open-field, LEO at 50 mg/kg reduced the number of rearings regarding a control group, but did not affect the number of crossed lines.

CONCLUSIONS

Results suggest that CEO has 5 times more potency than LEO to inhibit muscarinic contractions. Both interfere the Ca²⁺-influx as well as verapamil, but with an IC₅₀ about 28 times higher than that of verapamil, showing a bit lower potency than it. CEO also partially stimulated the NO production, and LEO induced a slight loss of alert without affecting the spontaneous locomotion. These results show the medicinal usefulness of both *Lippia alba* chemotypes, thus validating its traditional use, and proposes the best chemotype for the antispasmodic application.

FINANCIATION

UNLP-X513, UBA-2002110200118, UBA-20020100100348 and PICT 2008-1969.

REFERENCES

1. Scarpa, G.F., 2004. Medicinal plants used by the Criollos of Northwestern Argentine Chaco. *Journal of Ethnopharmacology*. 91:115–135.
2. Soraru, S.B., Bandoni, A.L., 1978. *Plantas de la medicina popular argentina*. Editorial Albatros, Buenos Aires, pp. 107-109.
3. Ricciardi, G., Cicció, J.F., Ocampo, R., Lorenzo, D., Ricciardi, A., Bandoni, A.L., Dellacassa, E., 2009. Chemical variability of essential oils in *Lippia alba* (Miller) N. E. Brown growing in Costa Rica and Argentina. *Natural Products Communications*. 4, 853-858.



Mikania micrantha Y *M. cordifolia* (ASTERACEAE): ACTIVIDAD DUAL GASTROINTESTINAL DE SUS EXTRACTOS ACUOSOS

Colares, M.¹, Muguerza, A, Rosella, M.², **Consolini, A.E.**³

1. Plantas Medicinales, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), La Plata, Argentina
2. Cátedra de Farmacognosia, Área Ciencias Farmacéuticas, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), La Plata, Argentina
3. Cátedra de Farmacología, Área Ciencias Farmacéuticas, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), La Plata, Argentina; dinamia@biol.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Mikania micrantha Kunth. y *Mikania cordifolia* (L. f.) Willd., son conocidas con el nombre de “guaco” en Argentina y Brasil, donde se las utiliza popularmente por sus propiedades antiespasmódicas, antiparasitarias y antiinflamatorias (1). Se recolectaron especímenes en la reserva de selva marginal de Punta Lara e isla Martín García. A fin de validar el uso tradicional de estas especies, se estudió el efecto antiespasmódico de sus extractos acuosos sobre ileon aislado de ratas, y se efectuaron pruebas químicas orientativas para evaluar la presencia de distintos grupos fitoquímicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los extractos acuosos (decocción al 20%) de ambas especies fueron liofilizados y sobre ellos se efectuaron pruebas químicas orientativas para determinar la presencia de sustancias de tipo polifenólico y alcaloide y se determinaron los perfiles cromatográficos mediante TLC sobre silicagel con distintos sistemas de solventes (AcOEt/MeOH/H₂O 100:13:10 y AcOEt/ácido fórmico/AcOH/H₂O 100:11:11:26) para flavonoides y (tolueno/AcOEt/dietilamina 70:20:10 revelada con el reactivo de Dragendorff) para alcaloides.

La actividad antiespasmódica de ambas especies de *Mikania* se evaluó sobre ileon aislado de ratas, utilizando un extracto crudo acuoso preparado por decocción al 20% seguido de liofilización. Los ileons se aislaron de ratas Sprague-Dawley en ayunas, y se colocaron en cubas con solución Tyrode burbujeada con aire (37° C, pH 8.2). La contracción se midió mediante transductores de fuerza isométricos (WPI). Se realizaron curvas concentración-respuesta (CCR) de acetilcolina (Ach) en ausencia y presencia del respectivo extracto (0.3, 1 o 3 mg liofilizado/ml). También se realizaron CCR de calcio (Ca-CCR) por el agregado acumulativo de CaCl₂ sobre una solución Tyrode con 40 mM KCl-0 Ca²⁺, en presencia y ausencia de una de las concentraciones del extracto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ambas *Mikania* spp exhibieron perfiles cromatográficos diferentes. La coloración al visible y la fluorescencia al UV366 en las pruebas químicas orientativas y en el revelado de cromatogramas se correspondieron con flavonoides y derivados cafeoilquínicos. Las reacciones generales de alcaloides fueron positivas para el extracto acuoso de *M. cordifolia*, que en la TLC correspondiente exhibió una única banda de R_f 0.30.

La CCR de Ach (pD₂: 6.6 ± 0.3) fue inhibida en modo no-competitivo por *M. micrantha*, con una concentración inhibitoria 50% (CI₅₀) de 0.54±0.05 mg/ml, n=6, al igual que la CDR-Ca (pD₂: 6.0±0.2) con una CI₅₀ de 0.51±0.06 mg/ml, n=4. En cambio, *M. cordifolia* generó dualismo competitivo en la CCR-Ach. A altas concentraciones de Ach se comportó como antagonista con una CI₅₀ de 2.04±0.06 mg/ml. A bajas concentraciones de Ach se comportó como agonista parcial, dado que la CCR de *M. cordifolia* alcanzó un efecto máximo de 57% del de Ach y una concentración efectiva 50% (CE₅₀) de 4.17± 0.19 mg/ml (n=4), siendo unas 29700 veces menos potente que Ach. Esta CCR de *M. cordifolia* fue completamente bloqueada por atropina 0.1µg/ml.

CONCLUSIONES

Ambas *Mikania spp* resultaron antiespasmódicas por inhibir el influjo de Ca^{2+} , compatible con la presencia de flavonoides. *M. cordifolia* tuvo además un efecto agonista muscarínico posiblemente asociado a alcaloides. Los resultados validan el uso de estas plantas como antiespasmódico, y demuestran la presencia de un efecto proquinético adicional en *M. cordifolia*.

FINANCIAMIENTO

Subsidios de UNLP X-513 y X-582.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rondina RVD, Bandoni AL, Coussio JD (eds.), CYTED-OEA. 2003.



EFFECTO ANTIPROLIFERATIVO DE REYNOSINA, SANTAMARINA Y EPOXYPARTENÓLIDO SOBRE LAS LÍNEAS CELULARES RAW 264.7, A549 Y L929

Garibay-Escobar A., Robles-Zepeda R.E., Coronado-Aceves E.W., Torres-Moreno H., Velázquez-Contreras CA, Jiménez-Estrada M.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el cáncer es una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. Según datos de la Organización Mundial de la Salud, el cáncer en el 2008 provocó 7,6 millones de defunciones, un 13% del total. Los tratamientos utilizados a la fecha contra el cáncer logran eliminarlo en algunos de los casos, sin embargo, en la gran mayoría no hay éxito. De ahí la necesidad de encontrar nuevos fármacos contra esta enfermedad.

METODOLOGÍA

Se evaluó el efecto antiproliferativo de los compuestos, epoxypartenólido, santamarina y reynosina, obtenidos a partir de *Ambrosia confertiflora*, sobre las líneas celulares cancerígenas RAW 264.7, A549 y la línea celular L-929. Tal evaluación se llevó a cabo mediante el ensayo de viabilidad celular con MTT [(3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 bromuro difeniltetrazolio].

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla.

Línea Celular	IC50 (µg/mL)		
	Epoxypartenólido	Santamarina	Reynosina
RAW 264.7	15 ± 1.8	12.3 ± 2.3	7.8 ± 2.3
A549	22.1 ± 0.6	26.4 ± 0.6	38.7 ± 3.2
L-929	8.7 ± 0.3	20.2 ± 1.9	33.2 ± 0.4

CONCLUSIONES

La actividad antiproliferativa de los tres compuestos evaluados no ha sido reportada previamente. Es importante continuar con el estudio de su mecanismo de acción.



ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS AND SEMIPURIFIED FRACTIONS FROM *Piper chimonanthifolium* KUNTH

Abrão, M. M.¹, Riani, L. R.¹, Macedo, A. L.¹, Assis, C. M.², Fontes, E. S.², **Chedier, L. M.**¹, Pimenta, D. S.¹

1. Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil; luciana.chedier@ufjf.edu.br

2. Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil

INTRODUCTION

Piper L. (Piperaceae) species are frequently used in folk medicine due to their antimicrobial action. Endemic in Brazil, *Piper chimonanthifolium* Kunth. is a species with a dearth scientific studies. The aim of this work is to evaluate the antimicrobial action from hexane, methanolic and aqueous crude extracts of leaves, inflorescence and stems. Thereafter, evaluate the promising semipurified fractions of hexane, dichloromethane, ethyl acetate and aqueous residue of the methanolic extracts from leaves and inflorescences, relating the results with each chemical constitution.

METHODS AND MATERIALS

Hexane and methanolic extracts were obtained from static maceration with solvents until exhaustion. Aqueous extracts were obtained from infusion and after lyophilization. To determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), the extracts were tested against the bacterial strains of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhimurium*. Extracts which showed positive results were partitioned and four semipurified fractions were obtained from each extract. All partitions were tested on MIC with the same bacteria. Chemical characterization was done to all extracts and partitions by thin layer chromatography (TLC) and revelation with NP-PEG and sulfuric vanilin.

RESULTS

All methanolic extracts were promising. The MIC from inflorescences methanolic extract was 50 µg/mL to *P. aeruginosa* and *S. aureus*. The MIC from leaves and stems methanolic extracts were 100 µg/mL to *P. aeruginosa*. The dichloromethane fraction of the inflorescence methanolic extract was promising which showed MIC correspondent to 50 µg/mL to *S. aureus*. In methanolic extracts were observed flavonoids, terpenoids and phenylpropanoids, however on the promising dichloromethane fraction was observed exclusive substances and was not observed flavonoids.

CONCLUSION

P. chimonanthifolium was effective against bacteria, according with popular indication for species of this genus. The biomonitoring was efficacious and the dichloromethane fraction of the inflorescence methanolic extract stood out on the antibacterial activity and is intended to identify the responsible substance for that.



In vitro EVALUATION OF GENOTOXIC ACTIVITY OF *Acacia aroma* EXTRACTS USING THE ALCALINE COMETA ASSAY

Mattana C.¹, Cangiano A.², Sosa A.³, Alcaráz L.¹, Laciari A.¹

1. Área Microbiología, Universidad Nacional de San Luis. Ejército de los Andes 950. San Luis, Argentina; cmmattan@unsl.edu.ar

2. Área Biología, Universidad Nacional de San Luis. Ejército de los Andes 950. San Luis, Argentina

3. Área Farmacognosia, Universidad Nacional de San Luis. Ejército de los Andes 950. San Luis, Argentina

INTRODUCTION

Acacia aroma Gill. Ex Hook et Arn, which common name is tusca, is a regional plant of Argentina, widely distributed in central and northwest regions. This plant is used in argentinian folkloric medicine as wound healing, antiseptic and for the treatment of gastrointestinal disorders. The determination of genotoxic potential of complex mixture obtained from plants has gained increasing interest, due to these mixtures may contain toxic and genotoxic compounds. The aim of the present study was to evaluate the genotoxic effect of aqueous (AE) and ethanolic (EE) extracts of leaves *Acacia aroma* using the alkaline Comet assay.

METHODS

Human peripheral blood was obtained by venous puncture from healthy, adult, young and non-smoking volunteers. Briefly, 50 µL of heparinized whole blood was mixed with RPMI-1640, centrifuged at 1500 rpm for 5 min at room temperature and incubated for 2 h at 37°C. Cellular viability was determined by exclusion method with Trypan Blue. Isolated lymphocytes were incubated with AE and EE at testing concentrations (500 and 1000 µg/mL) and incubated at 37 °C during 2 h. Negative and positive controls were included. Comet assay was essentially performed as described Singh *et al* (1) with a few modifications: the cell suspensions were embedded in 100 µL of 1% low melting point agarose (LMPA) and they were spread on a slide pre-coated with a film of 1% normal melting point agarose. Two slides were prepared for each sample in which agarose cell suspensions were allowed to solidify at 4 °C. After the slides were transferred to lysis solution, pH 10) at 4 °C for 1 h. Slides were placed in an electrophoresis chamber exposed to alkali for 20 min by unwinding of DNA. Then, electrophoresis was performed for 20 min at 25 V/300 mA. Then, electrophoresis slides were neutralized (three times) and stained with gel red (Biotium). The stained nuclei were classified in four levels of DNA damage and a score was calculated: DNA damage score = N° cells Nuclei level 1 + 2 (N° cells nuclei level 2) + 3 (N° cells nuclei level 3) + 4 (N° cells nuclei level 4).

RESULTS / DISCUSSION

The result showed that (AE) and (EE) extracts of leaves *Acacia aroma* showed low DNA damage (Level 1) at high concentration tested (1000 µg/mL). Previous studies (2) reported that these extracts do not possess cytotoxic activity on Vero cells at bacteriostatic and bactericidal concentrations.

CONCLUSIONS

Our studies validate the external use of *A. aroma* extracts as complementary or alternative drugs to combat pathogenic bacteria, such as *Listeria spp*, *S. aureus*, *E.coli* and *P. aeruginosa*. Previously, their antibacterial activity has demonstrated in our Laboratory (2).

REFERENCES

1. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175: 184 - 191
2. Mattana C, Satorres S, Escobar F, Sabini C, Sabini L, Fusco M, Alcaráz L. 2012. Antibacterial and cytotoxic activities of *Acacia aroma* extracts *Emir. J. Food Agric.* 24 (4): 308-313



ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THREE SAN LUIS NATIVE SPECIES BELONGING AT THE FABACEAE FAMILY

Martinez M. A.¹, **Mattana, C. M.**¹, Satorres, S. E.¹, Sosa A.², Fusco M. R.², Lacia, A. L.¹, Alcaraz, L. E.¹

1. Area Microbiología, Universidad Nacional de San Luis, Ejercito de los Andes 950. San Luis, Argentina;

lucalca@unsl.edu.ar; cmmattan@unsl.edu.ar

2. Area Farmacognosia, Universidad Nacional de San Luis, Ejercito de los Andes 950. San Luis, Argentina

INTRODUCTION

The increase in bacterial resistance has created the necessity of studies directed towards the development of new antimicrobials. Many researchers have focused on the investigation of natural products as source of new bioactive molecules. From the pharmacognostic point of view the Fabaceae family is very important because many of its species are used in folk medicine. Three native species: *Acacia caven* (Molina) Molina var. *caven* "espinillo", "aromo" or "tusca", *Acacia gilliesii* Steud. (= *A. furcatispina* Burkart) "garabato", and *Prosopis torquata* (Cav. ex Lag.) DC. "tintitaco" are used in folk Argentine medicine as astringent and antiseptic agent. Previously, in the three species, flavonoids (quercetin and rutin), sapogenines, tannins and alkaloids were detected in our laboratory. The objective of the present study was to test the antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts obtained from *Prosopis torquata*, *Acacia caven* and *Acacia furcatispina* against *Staphylococcus aureus* strains by agar diffusion well-variant and bioautography methods.

METHODS

The bacterial inoculum (10^8 CFU/ml) was uniformly spread on Mueller Hinton agar and then, 7 mm diameter holes were cut in the agar gel. Each well was filled with 50 μ L of each plant aqueous extract (100 mg/ml). After 24 h incubation at 37°C, the diameters of zones of growth inhibition were measured (mm).

Bioautography method: The ethanolic extracts were first applied to 60 F₂₅₄ TLC plates (3cm x 7cm) and developed with ethyl acetate:formic/acid:methyl/ethyl/acetone:water (5:1:3:1) as eluent for flavonoids and chloroform:methanol:water (70:30:4) for sapogenines. Developed TLC plates were covered with 1-2 mm layer of soft medium (BHI agar 0.6%) containing 0.1 % (w/v) 2,3,5 triphenyltetrazolium chloride and a suspension of *S. aureus* at a final concentration of 10^8 CFU/ml. The plates were incubated at 37°C for 24 h. Where bacterial growth has been inhibited, an uncolored area can be seen on the deep pink-red background. To assess the chemical profile of the samples, a replicate TLC plate was developed simultaneously and visualized with oleum. Rutine, quercetin, oleanolic acid were used as standards.

RESULTS/DISCUSSION

The results showed antibacterial activity of all extracts assayed against *S. aureus*. Inhibition diameters were 10 to 20 mm. *P. torquata* was the most active (20 mm). The bioautography assay for qualitative antibacterial activity detection demonstrated well-defined inhibition zones against *S. aureus* in correspondence with those flavonoids and sapogenines bands. TLC analysis revealed the presence of flavonoids: quercetin (Rf of 0.91) and sapogenines: oleanolic acid (Rf of 0.87) in the all extracts analyzed the presence of these bioactive compounds confirmed its antimicrobial activity.

CONCLUSIONS

Sapogenines and flavonoids of these species could be considered the main responsible of their popular use for treating of microbial infections. Further studies on both the identity and the structure-activity relationship of these antibacterial substances from these plants remain to be performed.

REFERENCES

1. Del Vitto LA, EM Petenatti & ME Petenatti. 1997. Recursos herbolarios de San Luis (Argentina). Primera parte: plantas nativas. *Multequina* 6: 49-66.
2. Mattana C.M, Satorres S.E, Sosa A, Fusco M, Alcaraz L.E. 2010. Antibacterial activity of extracts of *Acacia aroma* against methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus*. *Brazilian Journal of Microbiology* 41: 581-587.



INHIBITORY ACTIVITY OF *Porophyllum* EXTRACTS AND SEMICARBAZONE ON BIOFILM PRODUCTION AND ESTABLISHED BIOFILM BY *Listeria*

Ganzer G.¹, Petenatti E.², Cifuentes D.³, Satorres S.¹, Laciari A.¹, **Mattana C.¹**

1. Area Microbiología, Universidad Nacional de San Luis, Ejército de los Andes 950. San Luis, Argentina; cmmattan@unsl.edu.ar

2. Area Farmacognosia, Universidad Nacional de San Luis, Ejército de los Andes 950. San Luis, Argentina

3. Area Química Orgánica, Universidad Nacional de San Luis, Ejército de los Andes 950. San Luis, Argentina

INTRODUCTION

Listeria spp is capable of producing biofilm on the surface of food processing lines and instruments. The biofilm transfers contamination to food products and impose risk to public health. Novel strategies or more effective agents exhibiting an antibiofilm ability with clinical efficacy and safety are of great interest. The active constituents isolated from medicinal plants have intensively been studied for their antibacterial effects against planktonic bacteria. More over, some plants have been reported to be able to prevent the formation of biofilm in some pathogens such as *Listeria*. *Porophyllum* and Semicarbazones (SCs) have shown great interests for their biological properties demonstrated in our Laboratory (1). The aim of this study was to evaluate the activity of *Porophyllum* and a (SCs) on biofilm-grown *Listeria* strains, as well as on established biofilm.

METHODOLOGY

1. Inhibition of produced biofilm by methanolic extract of *P. obscurum* (A), *P. lanceolatum* (B), semicarbazone (4-chlorobenzaldehyde) (C) and combinations (1:1). Quantitative microtitre assay (2) was used to measure the biofilm produced by *L. monocytogenes* and *L. innocua* isolates from seafood. The tested concentrations of A, B and C were the MIC values (4 mg/mL, 1mg/mL and 0.5 mg/mL respectively). One hundred microlitre aliquot from the A, B and C were added. After 48 h at 37°C, the planktonic-phase cells were removed, washed 3 times with PBS and 100µl of 1% crystal violet was added to each well and incubated at 20°C for 45 min. The stained biofilms were resuspended in 100 µl ethanol and OD₄₉₀ was measured. Combinations (1:1) of A+B, C+A and C+B were also tested. For the analysis of the combined action, index (I) was determined. $I = I_A + I_B$, where $I_A = \text{BIC}_A$ combination/ BIC_A alone and $I_B = \text{BIC}_B$ combination/ BIC_B alone. The results were interpreted as synergy ($I < 0.5$), addition ($0.5 \leq I \leq 1$), indifference ($1 < I \leq 4$) or antagonism ($I > 4$). BIC: Biofilm Inhibitory Concentration.

2. Inhibition on established biofilm. The isolates were grown as biofilm using polystyrene microtitre plates for 48 h at 37 °C. The planktonic-phase cells were removed, washed 3 times with PBS and filled with 100 µL of the extracts. The OD₄₉₀ was measured after incubation for 24 h at 37°C.

RESULTS / DISCUSSION

Extracts A and B showed inhibitory activity on the formation of biofilm (32% and 35% respectively) while C showed strong inhibitory effect (71%). There was a reduction of already formed biofilm 78% and 70% for the respective species *Porophyllum*. The compound C showed 82% eradication on established biofilm. None of tested combinations displayed activity effective on the formation of biofilm as well as established biofilm. The combinations A+B, C+A, C+B were indifferent ($I > 1$).

CONCLUSIONS

This study showed that extracts of *Porophyllum* and semicarbazone are promising for the future control of biofilm produced by *Listeria*.

REFERENCES

- Mattana C, Satorres S, Alcaráz L, Petenatti E, Del Vitto L, Petenatti M, Laciari A. 2012. Evaluation of the antibacterial properties of extracts obtained from native *Porophyllum lanceolatum* in San Luis, Argentina. *Pharmacologyonline* 163:162-166
- Pfaller MA, Davenport D, Bale M, Barret M, Koont F, Massanari R. 1988. Development of the quantitative micro-test for slime production by coagulase negative *Staphylococci*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 7: 30-33.



CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ACTIVIDAD INHIBITORIA SOBRE α -AMILASA SALIVAL DE EXTRACTOS DE *Azorella compacta* (PHIL. 1891)

Gabino Garrido, Luis Astudillo, Patricia Pozo

Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Angamos 0610, Antofagasta, Chile;
gabinocl@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

El presente estudio reporta la actividad antioxidante e inhibitoria de α -amilasa salival de diferentes extractos de *Azorella compacta* (Phil.) utilizando métodos de maceración (polaridad creciente), decocción e infusión.

METODOLOGÍA

Se realizó la determinación de fenoles y flavonoides totales, la identificación cualitativa de flavonoides, la actividad antioxidante y la actividad sobre α -amilasa. Los extractos que presentaron la mayor cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides fueron: metanol/agua (50:50) (MeOH 50%) > infusión > decocción. La identificación cualitativa de los flavonoides arrojó la presencia de flavonas, flavonoles y flavanonas. Se determinó la actividad antioxidante por parte de todos los extractos seleccionados mediante el secuestro del radical DPPH con CE_{50} mayores para decocción > infusión > MeOH (50%), sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p > 0,05$). La actividad de los extractos sobre α -amilasa salival se determinó por el método yodo-almidón (I_2/KI) en el que se midió la disminución del color violeta producto de la hidrólisis de almidón. Además, se procedió a medir las absorbancias de los distintos extractos en presencia de almidón y I_2/KI por separado, con respecto a las absorbancias del extracto solo.

RESULTADOS

La decocción presentó inhibición de α -amilasa, además de diferencias significativas ($p < 0,05$) en presencia de almidón y I_2/KI en relación al extracto solo. La infusión y MeOH 50% también presentaron inhibición de α -amilasa pero no diferencias significativas ($p > 0,05$) en presencia almidón y I_2/KI en relación al extracto solo.

CONCLUSIONES

Este trabajo demuestra, por primera vez, la presencia de fenoles y flavonoides totales, así como la actividad antioxidante e inhibidora de alfa amilasa salival de los extractos acuosos de *A. compacta*, especie que crece en el desierto de Atacama, Antofagasta, Chile. De esta forma se contribuye a la validación del uso popular de esta especie.



ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES EXTRACTOS DE *Tagetes minuta* LINNEO

Gabino Garrido, Helen Carrasco, Patricia Pozo

Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Universidad Católica del Norte, Angamos 0610, Antofagasta, Chile: gabinocl@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

Tagetes minuta L., conocida como 'suico', es una planta que crece en zonas consideradas críticas, cuyo clima desértico, temperaturas bajas y aire seco favorecen el desarrollo de esta especie vegetal. En la medicina tradicional esta es utilizada en forma de infusión y decocción para tratar malestares estomacales, resfríos, catarrros y neumonía.

METODOLOGÍA

En este trabajo se seleccionó, fraccionó de forma manual, secó y pulverizó el material vegetal (hojas y flores). Posteriormente se sometió a extracción usando como disolvente agua, proceso que se realizó por medio de decocción (D10M) e infusión (I10M) durante 10 min, se determinaron los fenoles y flavonoides totales y se evaluaron las actividades antioxidante y antimicrobiana.

RESULTADOS

La D10M mostró la mayor cantidad de fenoles y flavonoides totales (609,9 mg EAG/ 100 g de E.S y 395, 9 mg EQ/ 100 g E.S respectivamente). D10M también presentó la EC_{50} más baja ($29,7 \pm 4,1 \mu\text{g/mL}$) en cuanto a mayor actividad captadora sobre el radical DPPH y fue el único que mostró inhibición sobre *Staphylococcus aureus* en pruebas de difusión por agar y conteo celular por medio de la cámara de Neubauer, actuando como agente bacteriostático, mientras que I10M sólo afectó la morfología de la bacteria.

CONCLUSIONES

Este trabajo demuestra, por primera vez, la presencia de fenoles y flavonoides totales, así como la actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos acuosos de *Tagetes minuta* L., especie que crece en el desierto de Atacama, Antofagasta, Chile. De esta forma se contribuye a la validación del uso popular de esta especie.



PÉPTIDOS ANTITUMORALES NATURALES: EVIDENCIAS EXPERIMENTALES Y POTENCIALIDADES EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER.

Alexis Díaz-García¹, Regla M. Gali Medina¹, Maria A. Estepa Perez², Jenny L. Ruiz-Fuentes³, Hermis Rodríguez Sanchez³, Luis Morier Díaz³, José A. Fraga Castro¹

1. Laboratorio Biológico-Farmacéutico, Cuba (LABIOFAM); alediaz@ipk.sld.cu

2. Universidad Miguel Hernández, España

3. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, Cuba (IPK)

INTRODUCCIÓN

El cáncer representa la enfermedad no transmisible de más rápido crecimiento en todo el mundo. Los tratamientos convencionales no resuelven todos los casos, además de los efectos adversos que provocan. Las terapias biológicas a partir de péptidos antitumorales ofrecen ventajas terapéuticas en el tratamiento del cáncer, por su tamaño, amplia distribución en el organismo y su elevada especificidad sobre células tumorales.

METODOLOGÍA

Los péptidos naturales presentan la ventaja adicional de poseer alta especificidad y baja toxicidad. A través de ensayos bioguiados, se ha realizado la separación e identificación de diferentes péptidos provenientes de fuentes naturales, empleando técnicas cromatográficas (HPLC/MS).

RESULTADOS

Las potencialidades anticancerígenas de estos péptidos naturales se han evidenciado en estudios preclínicos *in vitro*, en un panel de líneas celulares tumorales, que identifican una toxicidad significativa y diferencial sobre tumores de origen epitelial evaluados a través del ensayo colorimétrico del MTT. Alguno de estos péptidos se han evaluado en modelos animales experimentales y demostraron una inhibición significativa de la progresión tumoral.

CONCLUSIONES

Los péptidos, obtenidos por métodos biotecnológicos, demostraron igualmente significativos efectos antitumorales *in vitro* e *in vivo*. Las propiedades antitumorales de los péptidos los convierten en una atractiva y prometedora alternativa en la terapia contra el cáncer.



ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THREE SAN LUIS NATIVE SPECIES BELONGING AT THE FABACEAE FAMILY.

Martinez M. A.¹, Mattana, C. M.¹, Satorres, S. E.¹, Sosa Angela², Fusco M. R., Laciara A. L.¹, Alcaraz, L. E.¹

1. Area Microbiología, Universidad Nacional de San Luis, Ejército de los Andes 950, San Luis, Argentina; lucalca@unsl.edu.ar, cmmattan@unsl.edu.ar

2. Area Farmacognosia, Universidad Nacional de San Luis, Ejército de los Andes 950, San Luis, Argentina

INTRODUCCIÓN

The increase in bacterial resistance has created the necessity of studies directed towards the development of new antimicrobials. Many researchers have focused on the investigation of natural products as source of new bioactive molecules. From the pharmacognostic point of view the Fabaceae family is very important because many of its species are used in folk medicine. Three native species: *Acacia caven* (Molina) Molina var. *caven* "espinillo", "aromo" or "tusca", *Acacia gilliesii* Steud. (= *A. furcatispina* Burkart) "garabato", and *Prosopis torquata* (Cav. ex Lag.) DC. "tintitaco" are used in folk Argentine medicine as astringent and antiseptic agent. Previously, in the three species, flavonoids (quercetin and rutin), sapogenines, tannins and alkaloids were detected in our laboratory. The objective of the present study was to test the antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts obtained from *Prosopis torquata*, *Acacia caven* and *Acacia furcatispina* against *Staphylococcus aureus* strains by agar diffusion well-variant and bioautography methods.

METHODS

The bacterial inoculum (1×10^8 ufc/ml) was uniformly spread on Mueller Hinton agar and then, 7 mm diameter holes were cut in the agar gel. Each well was filled with 50 μ L of each plant aqueous extract (100 mg/ml). After a 24h incubation at 37°C, the diameters of zones of growth inhibition were measured (mm).

Bioautography method: The ethanolic extracts were first applied to 60 F₂₅₄ TLC plates (3cm x 7cm) and developed with ethyl acetate:formic acid:methyl ethyl acetone:water (5:1:3:1) as eluent for flavonoids and chloroform:methanol:water (70:30:4) for sapogenines. Developed TLC plates were covered with 1-2 mm layer of soft medium (BHI agar 0.6%) containing 0.1 % (w/v) 2,3,5 triphenyltetrazolium chloride and a suspension of *S. aureus* at a final concentration of 10^8 CFU/ml. The plates were incubated at 37°C for 24 h. Where bacterial growth has been inhibited, an uncolored area can be seen on the deep pink-red background. To assess the chemical profile of the samples, a replicate TLC plate was developed simultaneously and visualized with oleum. Rutine, quercetin, oleanolic acid were used as standards.

RESULTS/DISCUSSION/CONCLUSIONS

The results showed antibacterial activity of all extracts assayed against *S. aureus*. Inhibition diameters were 10 to 20 mm. *P. torquata* was the most active (20 mm). The bioautography assay for qualitative antibacterial activity detection demonstrated well-defined inhibition zones against *S. aureus* in correspondence with those flavonoids and sapogenines bands. TLC analysis revealed the presence of flavonoids: quercetin (Rf of 0.91) and sapogenines: oleanolic acid (Rf of 0.87). In the all extracts analyzed the presence of these bioactive compounds confirmed its antimicrobial activity. Sapogenines and flavonoids of these species could be considered the main responsible of their popular use for treating of microbial infections. Further studies on both the identity and the structure-activity relationship of these antibacterial substances from these plants remain to be performed.

REFERENCES

1. Del Vitto LA, EM Petenatti & ME Petenatti. 1997. Recursos herbolarios de San Luis (Argentina). Primera parte: plantas nativas. *Multequina* 6: 49-66.
2. Mattana C.M, Satorres S.E, Sosa A, Fusco M, Alcaráz L.E. Antibacterial activity of extracts of *Acacia aroma* against methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus*. *Brazilian Journal of Microbiology* (2010) 41: 581-587.



ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Mulinum spinosum* EXTRACTS AGAINST SLIME-PRODUCING *Staphylococcus aureus* AND METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* ISOLATED FROM NASAL CARRIERS

Echenique D.¹, Chiaramello A.², Rossomando P.², **Mattana M.**¹, Alcaráz L.¹, Lacia A.¹, Satorres S.¹

1. Área Microbiología, Universidad Nacional de San Luis, Argentina. Ejército de los Andes 950. San Luis, Argentina; sasato@unsl.edu.ar

2. Área Química Orgánica, Universidad Nacional de San Luis, Argentina. Ejército de los Andes 950. San Luis, Argentina

INTRODUCTION

Nasal carriers of *S.aureus* are important reservoirs with risk of developing endogenous infections or transmitting infections to susceptible persons. Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) are associated with higher rates of treatment failure. Some strains of *S.aureus* produce slime which is believed to make the microorganisms more resistant to antibiotics and host defenses. *M. spinosum* is a native medicinal plant of Argentina. The aim of this work was to study the inhibitory activity of *M. spinosum* extracts against slime-producing *S.aureus* and MRSA isolated from nasal carriers.

METHODOLOGY

Five extracts were assayed: *M. spinosum* 5:95% ethyl acetate:n-hexane (EtOAc:HEX), mix 20:80/30:70% EtOAc:HEX, 50:50% EtOAc:HEX, 70:30% EtOAc:HEX and mix 50:50/70:30/100% EtOAc:HEX. The antibacterial activity was assayed against three slime-producing *S. aureus* strains and two MRSA strains isolated from nasal carriers. *S.aureus* ATCC 35556 slime-producing strain and MRSA strain ATCC 43300 were used as controls. Slime production was performed by using Congo red agar technique according to Freeman et al.(1). The extracts were prepared using flash chromatography. *S. aureus* isolates were screened for oxacillin resistance using disk diffusion method (2). The antibacterial activity (MIC) was assayed using microplate method according to the CLSI in tripticase soya broth supplemented with triphenyltetrazolium chloride. The inoculum of each strain was adjusted to 10⁶CFU/ml. Extracts were tested between 8 to 0,1 mg/ml. Subcultures on tripticase soya agar were performed to evaluate the minimal bactericidal concentration (MBC).

RESULTS / DISCUSSION

Slime-producing strains: *M. spinosum* 5:95% AcOEt:HEX showed antibacterial effect against all slime-producing strains (MIC:500µg/ml). *M. spinosum* 20:80/30:70% AcOEt:HEX showed inhibitory activity against two slime-producing strains (MIC 500µg/m and 2000 µg/ml). *M. spinosum* 50:50% AcOEt:HEX showed activity (MIC:500 µg/ml) in two isolates of slime-producing *S.aureus*, and MIC of 1000 µg/ml in one isolate. *S. aureus* ATCC 35556 was sensitive to these three extracts at doses 1000 µg/ml. *M. spinosum* 70:30% and 50:50/70:30/100% EtOAc:HEX showed the lowest antibacterial activity, MICs between 2000 µg/ml and 4000 µg/ml. *S. aureus* ATCC 35556 showed MIC 4000 µg/ml.

MRSA: *M. spinosum* 5:95 % AcOEt:HEX showed the highest activity (CIM:500 and 1000 µg/ml). *M. spinosum* 20:80/30:70% and 50:50% AcOEt:HEX showed activity against MRSA (CIM:2000 µg/ml). *M. spinosum* 70:30% and 50:50/70:30/100% AcOEt:HEX inhibited the growth of MRSA at doses of 4000 µg/ml. *S. aureus* ATCC 43300 was inhibited by all extracts (CIM between 500µg/ml and 4000 µg/ml). Higher concentrations (one to three times higher than the corresponding MICs values) of extracts were needed to obtain bactericidal effect.

CONCLUSION

The results showed that all *M. spinosum* extracts assayed were active against slime-producing *S. aureus* and MRSA at doses between 500 and 4000 µg/ml. Both, slime-producing *S. aureus* and MRSA are highly contagious and hardly eradicated by antibiotic therapies. So, there is an increasing need to find new substances with the ability to inhibit these strains.

REFERENCES

1. Freeman D, Falkiner F, Keane C.1989.New method for detecting slime production by coagulase-negative staphylococci. J.Clin.Pathol.42:872-4.
2. CLSI.2011. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing: M100-S21. Vol.31.Wayne,Pennsylvania,USA.



ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Mullinum echegarayii* AND *Azorella trifurcata* EXTRACTS AGAINST SLIME-PRODUCING *Staphylococcus aureus* STRAINS OBTAINED FROM FOOD

Satorres S.¹, Echenique D.¹, Chiaramello A.², Rossomando P.², Laciari, A.¹

1. Área Microbiología, Universidad Nacional de San Luis, Argentina. Ejército de los Andes 950. San Luis, Argentina; sasato@unsl.edu.ar

2. Área Química Orgánica, Universidad Nacional de San Luis, Argentina. Ejército de los Andes 950. San Luis, Argentina

INTRODUCTION

S. aureus is one of the most commonly identified bacteria that cause food poisoning, contaminating foods during processing, storage or sale. Some *S. aureus* strains have the ability to colonize surfaces to develop a structure named biofilm, it serves as a reservoir for continuous release of bacteria to the foods. Also, there is evidence that adhered bacteria are more resistant to antibiotics and host defenses. *M. echegarayii* and *A. trifurcata* are endemic plants species of Argentina used in folk medicine.

METHODOLOGY

In this study the antibacterial activity of 10:90% ethyl acetate: n-hexane (AcOEt:HEX) and 30:70% AcOEt:HEX *M. echegarayii* extracts and mix 40:60/50:50% AcOEt:HEX *A. trifurcata* extract was evaluated against two slime-producing *S. aureus* strains isolated from bakery foods and *S. aureus* ATCC 35556 slime-producing strain, *S. aureus* ATCC 25923 non slime-producing strain. Slime production was performed by using Congo red agar technique according to Freeman et al. (1) and the microplate method described by Pfaller al. (2). The extracts were prepared using flash chromatography. The antibacterial activity was assayed using microplate method according to the CLSI (3) in tripticase soya broth supplemented with triphenyltetrazolium chloride used as visual indicator of bacterial growth. The inoculum of each strain was adjusted to concentration of 10⁶CFU/ml. Organic extracts were tested from 8000 to 100 µg/ml. The antibacterial activity (MIC) was defined as the lowest concentration of the extract in the medium in which there no visible grown. Extracts were submitted to a subculture on tripticase soya agar plates to evaluate the minimal bactericidal concentration (MBC).

RESULTS / DISCUSSION

Extract of *M. echegarayii* 10:90% AcOEt:HEX showed activity against *S. aureus* isolate from food at doses of 8000 µg/ml and 4000 µg/ml. *S. aureus* ATCC 35556 and the *S. aureus* ATCC 25923 were sensitive to this extract with MIC of 2000 µg/ml and 4000 µg/ml respectively. The best effect was elicited with *M. echegarayii* 30:70% AcOEt:HEX. Three strains of *S. aureus* showed good activity (CIM:1000 µg/ml) and *S. aureus* ATCC 25923 was active at doses 500 µg/ml. *A. trifurcata* 40:60/50:50% AcOEt:HEX extract showed less activity against *S. aureus* isolated from food and *S. aureus* ATCC 35556 (CIM:8000 µg/ml). The MIC of *S. aureus* ATCC 25923 was 500µg/ml. The MBC values were two or three fold higher than the corresponding MIC values.

CONCLUSION

The antibacterial activity of species of *Mulinum* and *Azorella* can be attributed to bioactive metabolites, such as diterpenoids and triterpenoids, whose presence have been demonstrated in other studies. The discovery of plants extracts with antibacterial activity against slime-producing *S. aureus* could contribute to the decrease of health and economic problems due to the decomposition of food.

REFERENCES

1. Freeman D, Falkiner F, Keane C. 1989. New method for detecting slime production by coagulase-negative staphylococci. J Clin Pathol. 42:872-4.
2. Pfaller M, Davenport D, Bale M. et al. 1988. Development of the quantitative micro-test for slime production by coagulase negative staphylococci. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 7: 30-33.
3. CLSI.2011. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing: M100-S21. Vol.31. Wayne, Pennsylvania.USA.



EVALUACIÓN DE LAS ACTIVIDADES CITOTÓXICA Y ANTIBACTERIANA EN EXTRACTOS OBTENIDOS DE LA ESPECIE *Vismia guianensis* (AUBL) CHOISY (CLUSIACEAE)

Richard Nuñez¹, Janne Rojas¹, **María Lucena**², Ana Roa³, Pablo Meléndez⁴

1. Grupo de Investigación "Biomoléculas Orgánicas", Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes

2. Departamento de Bioanálisis Clínico, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes

3. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes

4. Herbario MERF, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes

INTRODUCCION

La Familia Clusiaceae (nómina conservanda, Guttiferae) comprende unos 50 géneros y 1200 especies. El género *Vismia* comprende cerca de 21 especies, reportándose hasta el momento 9 en Venezuela, las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en todo el territorio. En investigaciones previas se ha descrito que el látex y los extractos de hojas, frutos y tallos de *V. guianensis* presentan diversas bioactividades: cicatrizante, citotóxica frente a líneas celulares cancerígenas de pulmón, colon y sistema nervioso central, antioxidante, anticancerosa y antimalárica. En la presente investigación se evaluaron las actividades antibacteriana y citotóxica de los extractos de la especie *V. guianensis* obtenidos con solventes de diferentes polaridades, con el propósito de determinar su potencial como agente antibacteriano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las hojas y flores se secaron a 40°C en estufa durante 72 h, se molieron y se determinó su peso. El material molido y seco se sometió a extracción por maceración (usando hexano y metanol). El extracto concentrado fue sometido a fraccionamiento empleando la técnica de cromatografía en columna usando diferentes solventes en polaridad creciente como fase móvil. Las fracciones obtenidas fueron analizadas por cromatografía en capa fina. Para la evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos se usó el método de difusión en agar con discos de papel. Las bacterias utilizadas fueron *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 23357).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró determinar actividad antibacteriana en las fracciones obtenidas con metanol contra *E. coli* (CIM: 1 mg/mL), *K. pneumoniae* (1.5 mg/mL), *S. aureus* (15 mg/mL), *E. faecalis* y *P. aeruginosa* (20 mg/mL), mientras en la fracción obtenida con la mezcla diclorometano/acetato de etilo en proporción 1:1 se observó una inhibición del crecimiento bacteriano de *E. coli* y *K. pneumoniae* con una CIM de 1 mg/mL para ambas bacterias y contra *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *E. faecalis* a 10 mg/mL.

CONCLUSIONES

El estudio de la actividad antibacteriana mostró que las fracciones obtenidas con metanol y la mezcla diclorometano/acetato de etilo en proporción 1:1, fueron activas contra las bacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*; lo que demuestra que la especie en estudio presenta un amplio espectro antibacteriano en ensayos realizados *in vitro*.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentieth informational supplement. CLSI. 2010; 35(15): 1-17.
2. Sadaquat A, Goundar R, Sotheeswaran S, Beaulieu C, Spino C. Benzophenones of *Garcinia pseudoguttifera* (Clusiaceae). Phytochemistry. 2000; 53: 281-284.
3. Aristeguieta, L., Familias y Géneros de los Árboles de Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Edición Especial del Instituto Botánico. Caracas, Venezuela. 1973.



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE *Tagetes erecta* LINN

Tapia Aguilar Rafaela¹, Juárez Granados Areli²

1. Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D. F. 09340
2. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D. F. 09340

INTRODUCCIÓN

Tagetes erecta Linnaeus es una planta herbácea ornamental con larga historia de uso en la medicina tradicional en muchos países, en México es recomendada para el tratamiento de diversas enfermedades, como dolor de estómago, parásitos intestinales, empacho, diarrea, cólicos, afecciones hepáticas, vómito, indigestión; para enfermedades de tipo respiratorio como tos, fiebre, gripe y bronquitis. El tratamiento consiste en el cocimiento de las ramas, con o sin flores, en sahumero o fritas para aplicar de manera oral o en la parte afectada. El Cempazúchil, o "flor de muerto", se encuentra en San Luis Potosí, Chiapas, Estado de México, Puebla, Sinaloa, Tlaxcala y Veracruz.

OBJETIVO

Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos de las partes aéreas con flor y de las partes aéreas sin flor de *Tagetes erecta*.

DESARROLLO

La planta se adquirió en el "Mercado de Sonora" de la Ciudad de México, ya limpia se prepararon dos lotes: PA= partes aéreas sin flor y PAF= partes aéreas con flor. Ya secos, se molieron manualmente y el polvo obtenido se sometió a maceración consecutiva en hexano, diclorometano, metanol y agua durante 24 horas a temperatura ambiente. Los disolventes de cada extracto se eliminaron por evaporación hasta sequedad total. Se cuantificó la actividad antibacteriana de los extractos al determinar la CMI siguiendo el protocolo establecido por Drummond y Waigh modificado por Satyajit, en el que utilizan placas multipozos de 96 y resazurina como indicador de viabilidad. Se usaron soluciones de penicilina-estreptomina y dimetilsulfóxido como controles positivo y negativo, respectivamente. Las cepas empleadas fueron *Salmonella typhi*, *S. typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó que los extractos polares (metanólico y acuoso) de PAF de *Tagetes erecta* tienen marcada actividad sobre las bacterias Gram negativas siendo mejor el extracto metanólico ante *Salmonella typhi* (CMI=0.313mg/ml) y *Shigella flexneri* (CMI=0.521mg/ml), los extractos no polares evidencian mejor actividad inhibitoria en las bacterias Gram positivas. En tanto que el extracto hexánico de PA presenta mejor actividad sobre las bacterias Gram positivas, como *Staphylococcus aureus* (CMI=0.31 mg/ml) y *Bacillus subtilis* (CMI=2.5 mg/ml). Los resultados sugieren que la planta tiene actividad antibacteriana contra bacterias relacionadas a enfermedades gastrointestinales, respiratorias y contra las causantes de infecciones en piel.

CONCLUSIONES

La actividad antibacteriana de los extractos polares de PAF es mejor en las bacterias Gram negativas probadas, mientras que los extractos no polares de las PA presentan mejor actividad en bacterias Gram positivas. Estos resultados respaldan el uso popular de las partes aéreas con o sin flor de esta planta

BIBLIOGRAFÍA

1. Satyajit D. Sarker, et al. Methods 2007, 42,. 321–324.
2. Nandita Dasgupta et al. Journal of Pharmacy Research 2012, 5 (8), 4201-4203.



DETECCIÓN DE ACTIVIDAD BACTERIANA EN *Morinda citrifolia* Y *Reseda luteola*

Rafaela Tapia Aguilar¹, Juan Rojas Moreno², Mario A. Solís González², José S. Acevedo Piña², Rodolfo Velasco Lezama¹

1. Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. México, D.F. 09340

2. División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. México, D.F. 09340

INTRODUCCIÓN

Ante el surgimiento de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos, se hace necesaria la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos. Los organismos marinos y las plantas se estudian como fuente de nuevas herramientas terapéuticas. *Morinda citrifolia* (noni) es una planta usada preferentemente como hipoglucemiante, aunque se han repostado algunas actividades antimicrobianas. A su vez, *Reseda luteola* L es una planta considerada maleza del Valle de México, de la que no se han descrito en nuestro país propiedades medicinales.

OBJETIVO

Detectar y evaluar actividad antibacteriana de *Morinda citrifolia* y *Reseda luteola* mediante el método de Rezasurina.

DESARROLLO

M. citrifolia fue colectada en Acapulco, Guerrero y *R. luteola* en Teoloyucan, Estado de México, para preparar los correspondientes extractos se utilizaron las hojas del primero y las espigas del segundo. Con el material seco y pulverizado se prepararon los extractos por maceración consecutiva durante 24 horas en hexano, diclorometano, metanol (*M. citrifolia*), etanol (*R. luteola*) y agua. Los disolventes orgánicos se eliminaron en rotavapor y el agua por evaporación en baño maría. La actividad antibacteriana se valoró por el método de resazurina, empleando dosis de 0.039 a 5.0 mg/mL de cada extracto. Se usaron soluciones de penicilina-estreptomocina y Dimetilsulfóxido como controles positivo y negativo, respectivamente. Las cepas empleadas fueron *Salmonella typhi*, *S. typhimurium*, *Shigella flexnei*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. La prueba se realizó tres veces por triplicado.

RESULTADOS

Ninguno de los extractos utilizados inhibió el desarrollo de *S. typhimurium*. A su vez, el extracto hexánico de cualquiera de las dos plantas inhibió el crecimiento de *B. subtilis* y *S. aureus* con una dosis mínima de 1.25 mg/ml. Los extractos obtenidos con disolventes polares inhibieron el crecimiento de todas las cepas empleadas con una CMI de 0.31 mg/ml sobre *S. aureus*

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los extractos obtenidos con agua y alcohol presentaron mayor gama de actividad ya que afectaron tanto a las bacterias Gram positivas como a Gram negativas empleadas en el estudio lo que sugiere un mecanismo de acción general mientras que los extractos de hexano y diclorometano fueron más específicos ya que solo inhibieron a Gram positivas. Las plantas presentaron actividad antibacteriana siendo de particular importancia la respuesta de *R. luteola*, maleza arvense utilizada como forraje. *R. luteola* presentó mejor actividad antibacteriana que *M. citrifolia*.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Satyajit D. Sarker, et al. Methods 2007, 42,. 321–324.
2. Suárez, R. G., Serrano C. V., Balderas, A. P. y Pelz, M. R. 2004. Atlas de Malezas arvenses del Estado de Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro, Serie Etnobiológica.



CHEMISTRY AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF *Arrabidaea formosa* (BIGNONIACEAE)

Brandão, G. C.^{1,3}, Kroon, E. G.², Souza, D.¹, Santos, J. R.², Oliveira, A. B.¹

1. Departamento de Produtos Farmacêuticos, Universidade Federal de Minas Gerais
2. Microbiologia, Universidade Federal de Minas Gerais
3. Departamento de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto

INTRODUCTION

Arrabidaea formosa (Bureau) Sandwith belongs to the Bignoniaceae family that is represented by more than 100 genera and about 800 species in Brazil. Chemically, bignoniaceous plants are characterized by the presence of flavonoids, terpenoids, quinones, mainly naphthoquinones, and aromatic compounds such as lignans, cinnamoyl, benzoyl and acetophenone derivatives. Several species of this family are reported as used for treatment of diseases possibly related to viral infections what has motivated the evaluation of *A. formosa* [1].

METHODOLOGY

The *in vitro* antiviral activity against *Dengue virus 2* (DENV-2), *Human herpesvirus 1* (HHV-1), *Vaccinia virus* (VACV-WR) were carried on by the MTT colorimetric method ($n=4$); the cytotoxicity was determined *in vitro* in Vero and LLCMK₂ cell lines ($n=4$); acyclovir and interferon were used as positive controls (1.0 mg/ml and 2.5×10^3 UI/ml, respectively) [2,3]. Ethanol extracts from stems, leaves and fruits were prepared and submitted to bioguided fractionation.

RESULTS

Results are presented as cytotoxic concentration to 50% (CC_{50}), antiviral effective concentration to 50% (EC_{50}) and Selectivity Index (SI) values. The extracts and constituents isolated have presented low cytotoxicity ($CC_{50} > 200$ μ g/ml). Bioguided fractionation led to the isolation of six compounds which were identified as mangiferin (AF1), 2'-*trans*-*O*-caffeoylmangiferin (AF2), 2'-*trans*-*O*-coumaroylmangiferin (AF3), 2'-*trans*-*O*-cinnamoylmangiferin (AF4), ursolic acid (AF5) and chrysine (AF6). All ethanol extracts were active against DENV-2, HHV-1 and VACV-WR. The best result was obtained for the extract of fruits against DENV-2 with $CC_{50} > 500$ μ g/ml, EC_{50} 13.1 ± 1.6 μ g/ml and $SI > 38.2$. AF3 ($CC_{50} > 500$ μ g/ml, $EC_{50} = 4.1 \pm 0.4$ μ g/ml, $SI > 121.9$ DENV-2 and $EC_{50} = 4.6 \pm 1.6$ μ g/ml, $SI > 108.7$ HHV-1) was the most active of the six compounds isolated. Still more important are the high SI values.

CONCLUSIONS

The results obtained in the present work have revealed that mangiferin cinnamoyl derivatives are compounds of interest as potential antiviral drugs.

FINANCIAL SUPPORT

FAPEMIG, CNPq and CAPES

REFERENCES

1. G.C. Brandão et al. Lett. Appl. Microbiol., v. 51, p. 602-607, 2011.
2. Betancur-Galvis, L.A. et al. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v. 97, p. 541, 2002
3. Twentyman, P.R. & Luscombe M. Br. J. Cancer, v. 56, p. 279, 1987



ACTIVIDADES CITOTÓXICA Y GENÓTOXICA EN CÉLULAS K562 DE MAMMEA A/BA + A/BB PROVENIENTES DE LOS EXTRACTOS DE *Calophyllum brasiliense*

Juan Carlos Gómez Verján¹, Ricardo Reyes Chilpa¹, Marco Antonio Cerbón Cervantes², Ignacio González Sánchez², Adriana Mendoza Rodríguez²

1. Lab. 2-5, Departamentos de Productos Naturales, Instituto de Química, UNAM

2. Lab. Biología Celular, Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM

INTRODUCCIÓN

Calophyllum brasiliense es un árbol tropical que crece en selvas tropicales desde México hasta Brasil (Stevens, 1980). Numerosas aplicaciones etnomédicas se han registrado para esta especie en toda América Latina (Reddy et al., 2004). Los extractos orgánicos de las hojas de *C. brasiliense* contienen cumarinas tipo Mamea que inhiben el crecimiento de células tumorales *in vitro*. La mezcla de mamea A/BA+ABB 1:1 presentaron *in vitro* actividad citotóxica contra las líneas tumorales humana de próstata (PC3), leucemia (K562) y SNC (U251) presentando IC₅₀ de 0.34, 0.04 y 1.92 mM (Reyes-Chilpa et al., 2004). En otro estudio (Ruiz-Marcial et al., 2007) en ratones BALBc a los cuales se les implantaron tumores (células BMK), se observó que la mezcla de mamea A/BA+A/BB (2:1) provocó un decremento del 83% al final del tratamiento sin provocar ningún daño histopatológico aparente al hígado. En este trabajo examinamos si esta mezcla (75:25) induce muerte celular programada (apoptosis) en células K562 y su genotoxicidad.

METODOLOGÍA

Determinación de mezcla de compuestos RMN, Ensayo de Citotoxicidad (MTT), Análisis de Fragmentación de DNA utilizando un kit de detección por fluorescencia con la enzima TdT (Roche), ensayo de Genotoxicidad mediante el ensayo Cometa alcalino.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis por RMN determinó que la mezcla estaba compuesta en 75:25 de Mamea A/BA+A/BB respectivamente. Los ensayos de citotoxicidad en células K562 utilizando la metodología del MTT demostraron una IC₅₀ = 43mM, a las 48hrs de tratamiento, diferente a la reportada previamente con el ensayo de Sulforrodamida. En el ensayo Tunel fue posible determinar la presencia de DNA fragmentado a las 24 hrs de tratamiento posiblemente como resultado de la inducción de apoptosis por parte de los compuestos. Finalmente en la prueba Cometa de DNA fue posible determinar genotoxicidad a las 18 hrs de tratamiento, presentando un porcentaje de daño de 58.75%

CONCLUSIONES

La mezcla de Mamea A/BA+A/BB (8:2) indican que su efecto citotóxico sobre células tumorales humanas K562 se debe a que es genotóxica lo cual induce apoptosis. Al ser compuestos muy abundantes en las hojas de esta especie, es factible su aprovechamiento con fines medicinales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Stevens, P. F. (1980) A revision of the old world species of *Calophyllum* (Guttiferae). *J. Arnold Arb.* 61: 117–171
2. Reddy, N., Cosenza, S., Gumireddy, K., Bell, S., Reddy, E., Ramana, M. (2004) Synthesis of new coumarin 3-(N-aryl) sulfonamides and their anticancer activity. *Bioorgan. Med. Chem. Lett.* 14: 4093–4097
3. Reyes-Chilpa, R., Estrada-Muñiz, E., Ramírez-Apan, T., Amekraz, B., Aumelas, A., Jankowski, C., Vazquez-Torres, M. (2004) Cytotoxic effects of mamea type coumarins from *Calophyllum brasiliense*. *Life Sci.* 75: 1635–1647
4. Ruiz-Marcial, R., Reyes-Chilpa, E., Estrada, J., Reyes-Esparza, G., Garrido Fariña, L., Rodríguez-Fragoso. 2007. Antiproliferative, cytotoxic and antitumor activity of coumarins isolated from *Calophyllum brasiliense*. *Journal of P. & P.* 59:719-725

FINANCIADORES

Posgrado en Ciencias Biomédicas, CONACYT BECA (# 220346) y DGAPA, UNAM (# IG200513)



TOPICAL ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF *Bryophyllum pinnatum* (LAM.) OKEN (CRASSULACEAE)

Chibli, L. A.¹, Rodrigues, K. C. M.¹, Pinto, N. C. C.², Fabri, R. L.², Ribeiro, A.², Scio, E.^{1,2}, Del-Vechio-Vieira, G.³, Alves, M. S.^{1,3}, **Sousa, O. V.^{1,3}**

1. Pharmaceutical Sciences Post-Graduation Program, Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, Campus Universitário, 36036-900, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil; orlando.sousa@ufjf.edu.br
2. Department of Biochemistry, Institute of Biological Sciences, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil
3. Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, Campus Universitário, 36036-900, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil

INTRODUCTION

Bryophyllum pinnatum (Lam.) Oken (Crassulaceae), known as “sheet-of-fortune”, has been widely used in traditional medicine, mainly for the treatment of inflammation, wound and ulcer. The present study aimed to investigate the topical anti-inflammatory activity of the ethanol extract obtained from *B. pinnatum* leaves.

METHODOLOGY

Dried and pulverized plant was subjected to extraction with ethanol to obtain the ethanol extract. Constituents of the ethanol extract were identified by high performance liquid chromatography with UV DAD detector. The topical anti-inflammatory activity was evaluated through ear edema models induced by croton oil¹, arachidonic acid², phenol³, capsaicin⁴, ethyl phenyl propiolate⁵ and histological analysis. The results were demonstrated as mean \pm standard error. Analysis of variance followed by Student Newman-Keuls test was used to measure the degree of significance of $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Quercetin, rutin, kaempferol, apigenin 7-O- β -D-glucoside and luteolin 7-O- β -D-glucoside were identified by HPLC. Concentrations of 0.5 and 1.0 mg/ear of the ethanol extract reduced the ear edema induced by croton oil in 54.85 and 57.11%, while the ear edema induced by arachidonic acid was inhibited by 41.67, 53.82 and 67.01% at concentrations of 0.1, 0.5 and 1.0 mg/ear, respectively. The phenol-induced edema was inhibited by 79.73, 33.14 and 33.71% in 0.1, 0.5 and 1.0 mg/ear, respectively. After treatment, 0.1 (43.22%), 0.5 (72.53%) and 1.0 mg/ear (35.16%) of the ethanol extract reduced the ear edema induced by capsaicin. The induced edema-phenyl-ethyl propiolate at concentrations of 0.1 (75.00%) 0.5 (69.77%) and 1.0 mg/ear (43.60%) had decreased. Chronic treatment and histological analysis confirmed the effect of the ethanol extract on inhibition of edema induced by croton oil.

CONCLUSION

The results indicated that *B. pinnatum* possesses topical anti-inflammatory effects justifying the popular use and is a potential target for the discovery of new therapeutic agents.

SPONSORS

FAPEMIG, CAPES, CNPq and UFJF

BIBLIOGRAPHY

1. SCHIANTARELLI, P.; CADEL, S.; ACERBI, D.; PAVESI, L. Antiinflammatory activity and bioavailability of percutaneous piroxicam. *Drug Research*, v. 32, n. 3, 1982, p. 230-235.
2. CRUMMEY, A.; HARPER, G.P.; BOYLE, E.A.; MANGAN, F.R. Inhibition of arachidonic acid-induced ear oedema as a model for assessing topical anti-inflammatory compounds. *Agents and Actions*, v. 20, p. 69-76, 1987.
3. LIM, H.; PARK, H.; KIM, H.P. Inhibition of contact dermatitis in animal models and suppression of proinflammatory gene expression by topically applied flavonoid, wogonin. *Archives of Pharmacal Research*.v. 27, p. 442-448, 2004.
4. GÁBOR, M.; RÁZGA, Z. Development and inhibition of mouse ear oedema induced with capsaicin. *Agents Actions*, v. 36, p. 83-86, 1992.
5. BRATTSAND, R.; THALEN, A.; ROEMPKE, K.; KALLSTROM, L.; GRUVSTAD, E. Influence of 16 alpha, 17 alpha-acetal substitution and steroid nucleus fluorination on the topical to systemic activity ratio of glucocorticoids. *J. Steroid Biochem.* v. 16, p. 779-786, 1982.



ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOBACTERIANA DE UN EXTRACTO ORGÁNICO DE LA PLANTA *Aristolochia orbicularis* DUCHR.

Navarro García Víctor M.¹, Ríos Gómez Yolanda², Luna Herrera Julieta³, Deborah Ramírez Rayado, Álvarez Fitz Patricia M.¹

1. Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS

2. Centro de Investigaciones Químicas, UAEM

3. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, en el año 2008, se presentaron 9.4 millones de casos nuevos de Tuberculosis a nivel mundial, de ellos 500,000 pacientes presentaron co-infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), y se presentaron 1.8 millones de muertes, con un promedio de 4500 muertes diarias a causa de esta enfermedad (1). En México, en el año 2005 se presentaron 14,443 casos de tuberculosis, con una incidencia de 13.7/100,000 habitantes (2). La aparición de las micobacterias resistentes a los fármacos más utilizados para el tratamiento, señala la necesidad de incrementar la investigación terapéutica, fundamentando la búsqueda de nuevas moléculas con propiedades antimicobacterianas. En las últimas décadas, en México y gran parte del mundo, se ha incrementado el estudio de las plantas medicinales, con el propósito de conocer sus constituyentes químicos y su actividad farmacológica. La planta mexicana *Aristolochia orbicularis* (rizoma), la cual es conocida popularmente como "guaco", es una planta que crece en varios estados de la República Mexicana como Michoacán, Colima, Guerrero y Morelos entre otros. La gente usa principalmente los rizomas para tratar artritis, diarrea, lavar heridas, tos con sangre, también es utilizada para curar heridas de mordidas de serpiente (3). Esta planta no cuenta con informes fitoquímicos, ni farmacológicos. El objetivo de este estudio fue determinar si el extracto de diclorometano de raíz de *Aristolochia orbicularis* inhibe el desarrollo *in vitro* de *Mycobacterium tuberculosis* sensible, resistente y aislados clínicos (Multidrogoresistente).

METODOLOGÍA

Se preparó un extracto de diclorometano el cual fue evaluado por medio del método de Alamar Azul (4) para determinar su actividad antituberculosa contra *Mycobacteria tuberculosis* sensible y resistentes.

RESULTADOS

El extracto demostró poseer importante actividad antituberculosa contra todas las cepas estudiadas (sensible, y multidrogoresistentes), con valores de CMI entre un rango 12.5 y 50 µg/mL.

CONCLUSIONES

El presente estudio apoya el hecho de que el extracto orgánico de *Aristolochia orbicularis* proporciona una excelente oportunidad para encontrar probablemente nuevas moléculas bioactivas contra *Mycobacterium tuberculosis* mono-resistentes y multidrogoresistentes (MDR-T), además con estos resultados se confirma el uso que le a esta planta como un agente anti-infeccioso y muy particularmente como agente antituberculoso.

FINANCIAMIENTO

NGVM quiere agradecer al IMSS por el apoyo a este proyecto: FIS/IMSS/PROT/G12/1140.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Tuberculosis Facts, 2009 update. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 2009.
2. Quinto Informe de la Secretaría de Salud Pública México, Cap.3. Subsecretaría de Prevención y Promoción a la Salud, 2005.
3. M. Martinez, "Las plantas medicinales de México", 6th ed., Botas, México D.F., 1991, p. 270.
4. Navarro-García, V.M.; Luna-Herrera, J.; Rojas-Briebiesca, M.G.; Álvarez-Fitz, P.; Ríos-Gómez, M.Y. Antibacterial activity of *Aristolochia brevipes* against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Molecules* 2011, 16, 7357–7364.



ASSESSMENT OF ANTIMYCOTIC AND MUTAGENIC ACTIVITY OF A VAGINAL CREAM CONTAINING METHANOLIC EXTRACT OF *Syngonanthus nitens* (ERIOCAULACEAE)

Marcelo Gonzaga de Freitas Araújo¹, Mariana Pacífico², Maria Virgínia Costa Scarpa³, Wagner Vilegas², Lourdes Campaner dos Santos², Cláudia Elena Sotomayor⁴, Taís Maria Bauab¹

1. Biological Sciences Department, Faculty of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University – UNESP, Araraquara, São Paulo, Brazil; mgfaraujo@yahoo.com.br
2. Organic Chemistry Department, Chemistry Institute, São Paulo State University – UNESP, Araraquara, São Paulo, Brazil
3. Drugs and Pharmaceuticals Department, Faculty of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University – UNESP, Araraquara, São Paulo, Brazil;
4. Clinical Biochemistry Department, Immunology, CIBICI-CONICET, Faculty of Chemical Sciences, National University of Córdoba, Córdoba, Argentina

INTRODUCTION

The genus *Syngonanthus*, a member of the Eriocaulaceae family, includes about 200 species found in Africa and America, with *Syngonanthus nitens* exclusively found in South America¹. Although little is known about the ethnopharmacological properties of the genus *Syngonanthus*, literature reports the traditional use of Eriocaulaceae species to treat skin ulcers and bacterial infections, and some studies have described antioxidant, antimicrobial, and antiulcerogenic activity². Chemical studies have shown the presence of flavones, predominantly luteolin derivatives. Recently, our group identified 17 phenolic compounds in methanolic extract of *S. nitens* (MeSN)³. The purpose of this study was to evaluate the antimycotic activity of a vaginal cream containing the MeSN in treatment of vulvovaginal candidiasis (VVC) using an animal model of *Candida* infection. Also, we investigate the mutagenic activity of this product by the micronucleus test.

METHODS

The rat model of VVC was established based on models described previously⁴. Female Wistar rats were immunosuppressed by administration of cyclophosphamide and estrus phase was induced by subcutaneous administration of estradiol (0.2 mg/ml once daily for 4 days). Rats were inoculated intravaginally (day 0) with 0.1 mL of *C. albicans* (NCPF 3153, 5.0x10⁷ yeast/mL). The cream containing extract in different concentrations (0,5, 1,0 and 2,0%), the cream without extract (cream base) and miconazole cream (MCZ) as controls, were administrated twice a day to the infected animals. On day 2, 6, and 10 after the infection, the vaginal load of *C. albicans* was evaluated through vaginal lavage with 0.1 mL of PBS, and determined by the CFU assay. The mutagenic activity was evaluated using the analysis of the frequency of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCEs) and the nuclear division index (NDI) in cells of the peripheral blood of rats in acute (24h) and subacute (7 days) treatments with the cream⁵. The frequency of MNPCEs was rated in 2000 PCEs per animal. For the NDI, were examined 400 erythrocytes/animal in order to assess the cytotoxicity of the product. The results were statistically analyzed.

RESULTS AND DISCUSSION

The treatment exerted a marked acceleration of clearance of the yeast, as demonstrated by a statistically significant decrease in CFU counts on the 4th day after the initiation of treatment (day 6), compared to the untreated and vehicle-treated controls. MCZ treatment showed a pattern of clearance comparable to that induced by the vaginal cream with different extract concentrations. The frequencies of MNPCEs observed in animals treated with the cream showed no significant difference when compared to those of the negative control and the values of NDI obtained in the treatment with MeSN were similar to the values of negative control. These results indicate that the cream containing *S. nitens* extract shows no cytotoxic or mutagenic effect in cells of the peripheral blood of rats, under the conditions used in this study.

CONCLUSION

In conclusion, our results demonstrate that the vaginal cream containing MeSN is a non-mutagenic natural product with antimycotic properties in the treatment of VVC.

FINANCIAL SUPPORT

CAPES, FAPESP and CONICET

REFERENCES

1. Giulietti AM, Scatena VL, Sano PT, et al. Multidisciplinary studies on neotropical Eriocaulaceae. In: Wilson KL, Morrison DA (eds). *Monocots: Systematics and Evolution*. Melbourne: CSIRO Publishing, 2000:580–589.
2. Araújo MGF, Hilario F, Nogueira LG, et al. Chemical constituents of the methanolic extract of leaves of *Leiothrix spiralis* Ruhland and their antimicrobial activity. *Molecules* 2011;16:10479–10490.
3. Pacifico M, Napolitano A, Masullo M, et al. Metabolite fingerprint of “capim dourado” (*Syngonanthus nitens*), a basis of Brazilian handcrafts. *Ind Crops Prod* 2011; 33: 488–496.
4. Carrara M, Donatti L, Damke E, et al. A new model of vaginal infection by *Candida albicans* in rats. *Mycopathologia* 2010;1:1-8.
5. Tavares DC, Munari CC, Araújo MGF, et al. Antimutagenic potential of *Solanum lycocarpum* against induction of chromosomal aberrations in V79 cells and micronuclei in mice by doxorubicin. *Planta Medica*, 2011;77:1489-1494.



AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE EXTRATOS APOLARES DE *Clusia hilariana* NO DESENVOLVIMENTO DE INSETOS.

Hania Cristina Rosado Silveira^{1,2,3}, Maria Carolina Anholeti da Silva², Ana Joffily², Maria Raquel Figueiredo⁴, Marcelo Guerra Santos, **Selma R. de Paiva²**, Marcelo S. Gonzalez¹, Cicero Mello¹ e Denise Feder¹

1. Laboratório de Biologia de Insetos- LABI, GBG, Universidade Federal Fluminense-UFF, Rio de Janeiro, Brasil
2. Setor de Botânica, GBG, Universidade Federal Fluminense-UFF, Rio de Janeiro, Brasil
3. Departamento de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense-UFF, Rio de Janeiro, Brasil
4. Laboratório de Química de Produtos Naturais, Far-Manguinhos, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil
5. Faculdade de Formação de Professores, Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ, Rio de Janeiro, Brasil

INTRODUCCIÓN

O Brasil abriga, além de grande diversidade vegetal, também uma variedade de insetos pragas agrícolas e vetores de diversas doenças. A necessidade de métodos mais seguros no controle de insetos tem estimulado a busca de novos princípios ativos obtidos a partir de espécies vegetais (Viegas Junior, 2003), destacando-se a utilização de metabólitos especiais como reguladores do desenvolvimento em insetos. O gênero *Clusia* (Clusiaceae) é bem representativo no Brasil e apresenta-se caracterizado pela presença de benzofenonas, terpenoides e flavonoides (Silva, 2011). Neste sentido, o presente trabalho objetivou avaliar a ação inseticida de extratos apolares de *Clusia hilariana* frente aos insetos *Dysdercus peruvianus* e *Oncopeltus fasciatus*.

METODOLOGIA

Partes vegetativas e reprodutivas de indivíduos masculinos e femininos de *Clusia hilariana* foram secas em estufa, fragmentadas e submetidas à extração com hexano. Após evaporação do solvente foram obtidos os seguintes extratos: 1) Indivíduo masculino – folhas (CHMFOH), caules (CHMCAH), flores (CHMFLH); 2) Indivíduo feminino – Folhas (CHFFOH) e caules (CHMCAH). Para análise da atividade inseticida, ninfas do 4º estágio foram separadas e aplicado na cutícula ventral de cada inseto 1µL de uma solução 1 mg/mL dos extratos obtidos. Foram quantificados os seguintes parâmetros biológicos: sensibilidade diferencial dos diferentes estádios aos tratamentos; más formações anatômicas; tempo e período de muda; morte em 24 horas e em diferentes momentos do desenvolvimento.

RESULTADOS

Em relação à % de mortalidade em 24 horas, os resultados com *Oncopeltus fasciatus* constataram que os insetos tratados com CHFCAH e CHMFOH atingiram taxas de 5,57% e 4,47% respectivamente, que foram superiores quando comparados aos controles positivo e negativo. Em 30 dias, as taxas de mortalidade dos insetos tratados com CHFCAH e CHMCAH foram superiores (27,77% e 52,23%, respectivamente). Observou-se prolongamento nos períodos intermuda (4º para 5º instar e 5º instar para adulto), principalmente dos insetos tratados com CHMFOH, CHFFOH, CHMCAH e CHFFOH. Os melhores resultados em *Oncopeltus fasciatus* foram obtidos com o tratamento com o CHMCAH e com o CHFCAH, com taxa de mortalidade superior em relação aos demais tratamentos no período de 24 horas e 30 dias. Não foram observadas más formações anatômicas. O parâmetro tempo e período intermuda dos insetos tratados com o CHMFOH foi prolongado em 13 dias para os insetos de 5º instar em relação aos controles. O CHFFOH foi capaz de prolongar também o tempo de muda dos insetos de 5º instar em 23 dias e atrasar a metamorfose em 6 dias em relação ao controle; enquanto CHMCAH atrasou a metamorfose em 8 dias. A presença de terpenoides nesses extratos pode estar sendo responsável, pelo menos em parte, pelos efeitos observados, uma vez que há descrições na literatura para o efeito inseticida dessa classe de substâncias (Viegas Junior, 2003).

CONCLUSIONES

Clusia hilariana demonstrou potencial como provável alternativa para o controle dos insetos fitófagos *Oncopeltus fasciatus* e *Dysdercus peruvianus*. FAPERJ/ CNPq/ PROPPi (UFF).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Viegas Júnior, C. 2003. *Quím. Nova* 26 (3): 390-400.
2. Silva, M.C.A. 2011. Produtos do metabolismo especial de *Clusia fluminensis* Planch. & Triana. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde, UFF.



ESTUDIO DE *Cucurbita ficifolia* BOUCHÉ (CUCURBITACEAE) Y EL D-QUIROINOSITOL SOBRE EL ESTADO REDOX Y LA INFLAMACIÓN EN ADIPOCITOS 3T3-L1

María de los Ángeles Fortis Barrera^{1,2}, Tania Banderas Dorantes¹, Margarita Díaz Flores², Miguel Cruz López², Francisco Javier Alarcón Aguilar¹, Rebeca García Macedo²

1. Lab. de Farmacología, Depto. Ciencias de la Salud. D.C.B.S. Universidad Autónoma Metropolitana, Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina C.P.09340, México, D.F. México

2. Unidad de Investigación Médica en Bioquímica. Hospital de Especialidades. CMNS XXI. IMSS, Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores C.P. 06720, México, D.F. México

INTRODUCCIÓN

En la obesidad el consumo excesivo de carbohidratos y lípidos producen la disfunción de los adipocitos afectando el estado redox, condición que propicia incremento en la expresión de citocinas proinflamatorias y el desarrollo de resistencia a la insulina y DT2.¹ El fruto de *Cucurbita ficifolia* es utilizado para el tratamiento de DT2 en México y se ha identificado que el extracto acuoso de *Cucurbita ficifolia* contiene D-quirositol (DQI) compuesto con acción antioxidante.^{2,3} Por lo cual, investigamos y comparamos el efecto del extracto de *Cucurbita ficifolia* (estandarizado por su contenido de DQI) o el DQI sintético sobre el estado redox, la inflamación y la activación de la proteína cinasa B (PKB) en adipocitos 3T3-L1.

METODOLOGÍA

Los adipocitos 3T3-L1 fueron tratados por 24 y 48 horas con diferentes concentraciones de DQI sintético o del extracto acuoso de *Cucurbita ficifolia*, el cual contiene DQI (cuantificado por HPLC). En estas células se determinaron por espectrofotometría las concentraciones de GSH y GSSG (relación GSH/GSSG), así como la actividad enzimática de glutatión peroxidasa y glutatión reductasa; además el H₂O₂ se cuantificó por citometría de flujo. La expresión del RNAm y la concentración de proteína de TNF- α , IL-6, resistina y adiponectina se analizaron por RT-PCR tiempo real y ELISA, respectivamente. Por último se analizó la activación de PKB por Western blot.

RESULTADOS

Los tratamientos de los adipocitos con el extracto de *Cucurbita ficifolia* y DQI disminuyeron el H₂O₂, incrementaron la actividad de glutatión peroxidasa y restablecieron los niveles de GSH/GSSG comparados con las células no tratadas (control), a las 24 y 48 horas. Además, DQI disminuyó, tanto la expresión del RNAm, como la proteína de TNF- α , IL-6 y resistina; mientras tanto *Cucurbita ficifolia* disminuyó resistina pero incrementó la proteína de IL-6. La PKB activada con insulina, no se modificó después de 24 h con ambos tratamientos, aunque la presencia de DQI por 30 min, sin insulina, sí indujo la fosforilación (activación) de PKB.

DISCUSIÓN

En los adipocitos tratados con *Cucurbita ficifolia* y DQI se restablece el estado redox al disminuir el H₂O₂ debido al aumento en la actividad de glutatión peroxidasa. Este efecto puede conducir a disminuir la expresión de las citocinas proinflamatorias, como se observó en los resultados. Con *Cucurbita ficifolia* hace falta identificar otros compuestos que puedan modular la secreción de IL-6. Debido a que PKB solo se activa en presencia de DQI, proponemos que el extracto tiene un mecanismo de acción hipoglucemiante diferente al de éste compuesto.

CONCLUSIONES

El efecto antioxidante del extracto de *Cucurbita ficifolia* parcialmente se puede deber al DQI que contiene, por lo cual ambos tratamientos ayudarían a evitar las alteraciones causadas por estrés oxidativo. Además, el DQI al tener efectos: antiinflamatorio e insulino-sensibilizador ayudaría en el tratamiento de patologías asociadas con resistencia a la insulina.

FINANCIAMIENTO

Instituto Mexicano del Seguro Social.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kobayashi H et al. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009; 296(6): E1326-1334.
2. Acosta JL et al. J Ethnopharmacol 2001; 77(1): 99-101.
3. Roman-Ramos R et al. Am J Chin Med 2012; 40(1): 97-110.



ESTANDARIZACIÓN Y APLICACIÓN DE UN MÉTODO ESPECTROFLUOROMÉTRICO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE INHIBIDORES DE LA PROTEASA ASPÁRTICA SECRETADA (Sap) DE *Candida albicans*, A PARTIR DE EXTRACTOS DE PLANTAS DE LA FAMILIA MELASTOMATACEAE Y RUBIACEAE

Luz Stella Ramírez Aristizabal, Cristian Mauricio Arias, José Reynaldo Marín

Escuela de Química, Facultad de Tecnología, Universidad Tecnológica de Pereira; Pereira-Colombia

INTRODUCCIÓN

La proteasa aspártica secretada (Sap) es considerada un factor de virulencia en el proceso de infección por *Candida albicans*. La frecuencia de candidiasis a nivel mundial aumenta cada día, razón por la cual se hace necesario encontrar nuevos medicamentos que combatan esta enfermedad, al mismo tiempo que desarrollar métodos que evalúen en forma rápida compuestos inhibidores de Sap.

La tendencia en la implementación de análisis enzimáticos por fluorometría se ha incrementado en los últimos años^[1]. En general, ésteres de fluoresceína a menudo se han empleado para el estudio de diversas actividades de la esterasa^[2-4], fosfodiesterasa^[5] y fosfatasas^[6,7], pero su uso para el estudio de la actividad de proteasas de *C. albicans* ha sido poco estudiado. La actividad proteolítica ha sido medida usando albúmina sérica bovina (BSA), hemoglobina (Hb) y estrato corneo humano como sustrato^[8]; sin embargo, estos métodos carecen de sensibilidad, donde el tiempo de consumo y expresión de la actividad en unidades proteolíticas es arbitrario. La síntesis de sustratos fluorogénicos para proteasas permite el desarrollo de un rápido ensayo de microtitulación fluorescente que define la actividad en términos de la actividad hidrolíticas.

Para la estandarización del método, se realizaron diferentes ensayos, con el fin de establecer las mejores condiciones tales como determinación de las longitudes de excitación, emisión, slit de emisión, slit de excitación, voltaje del detector y filtros de excitación y de emisión; además de las concentraciones de Fluorexón, cobre, pH del buffer y tiempos de acoplamiento de los reactivos.

METODOLOGÍA

Se indujo la producción de Sap en cultivos de *C. albicans* siguiendo la metodología descrita por Capobianco^[9] y se evaluaron sus niveles por electroforesis en geles SDS-PAGE en diferentes lapsos de tiempos. La actividad de Sap fue verificada por espectrofluorometría, para lo cual se determinaron las condiciones de reacción, variando las concentraciones de cobre y fluorexon. Los resultados se expresaron como disminución en la señal de fluorescencia; como control de inhibición de Sap se utilizó Pestatina A y como control positivo de actividad proteasa se utilizó pancreatina.

RESULTADOS

Se encontraron como condiciones de reacción las concentraciones de 5,5 μM y 5,0 μM para fluorexon y cobre respectivamente, el tiempo óptimo de acoplamiento de estos fue de 120 minutos y la mayor actividad de Sap se alcanzó a las 22 horas de incubación.

Como resultados de esta investigación se destacan:

- Se estandarizó un método espectrofluorométrico para la evaluación de Sap de *C. albicans*.
- Se verificó la producción e inhibición de Sap con el uso de otras metodologías como electroforesis y HPLC.
- Sap fue inhibida por los extractos acuosos de *P. lirstipula* Wern L. y *M. coronata*, y los extractos butanólicos de *P. lirstipula* Wern L. y *C. hirta* (L.) D. Don.
- Los extractos de *P. lirstipula* fueron los más promisorios en la inhibición de Sap.

CONCLUSIONES

Las condiciones estandarizadas permitieron confirmar la inhibición de Sap por Pestatina A y demostrar que es un método viable para evaluar inhibidores de esta proteasa.

La aplicación de esta técnica fluorescente para el análisis de actividad proteolítica hace posible el estudio de un amplio número de muestras como posibles inhibidores de Sap en muy poco tiempo y a bajos costos, complementando con las técnicas de electroforesis e hidrólisis de la hemoglobina, permitirán evaluar un gran número de compuestos y trabajar con diferentes aislamientos de *C. albicans* para determinar sensibilidades y resistencias.

BIBLIOGRAFÍA

1. Goddard JP, Reymond JL. Recent advances in enzyme assays. Trends Biotechnol 2004; 22:363-370.
2. Breeuwer P, Drocourt JL, Bunschoten N, Zwietering MH, Rombouts FM, Abee T. Characterization of uptake and hydrolysis of fluorescein diacetate and carboxyfluorescein diacetate by intracellular esterases in *Saccharomyces cerevisiae*, which result in accumulation of fluorescent product. Appl Environ Microbiol 1995; 61:1614-1619.
3. Lomolino G, Lante A, Crapisi A, Spettoli P, Curioni A. Detection of *Saccharomyces cerevisiae* carboxylesterase activity after native and sodium dodecyl sulfate electrophoresis by using fluorescein diacetate as substrate. Electrophoresis 2001; 22:1021-1023.
4. Kierat RM, Kramer R. A fluorogenic and chromogenic probe that detects the esterase activity of trace copper(II). Bioorg Med Chem Lett 2005; 15:4824-4827.
5. Takakusa H, Kikuchi K, Urano Y, Sakamoto S, Yamaguchi K, Nagano T. Design and synthesis of an enzyme-cleavable sensor molecule for phosphodiesterase activity based on fluorescence resonance energy transfer. J Am Chem Soc 2002; 124:1653-1657.
6. Wang Q, Scheigetz J, Roy B, Ramachandran C, Gresser MJ. Novel caged fluorescein diphosphates as photoactivatable substrates for protein tyrosine phosphatases. Biochim Biophys Acta 2002; 1601:19-28.
7. Gee KR. Novel fluorogenic substrates for acid phosphatase. Bioorg Med Chem Lett 1999; 9:1395-1396.
8. Dostal J, Hamal P, Pavlickova L, Soucek M, Rumi T, Pichova I. J Clinical Microbiology 41(2): 712-716. 2003.
9. Capobianco JO, Lerner CG, Goldman RC. Application of a fluorogenic substrate in the assay of proteolytic activity and in the discovery of a potent inhibitor of *Candida albicans* aspartic proteinase. Anal Biochem 1992; 204:96-102.



ACTIVIDAD FIBRINOGENASA Y FIBRONECTINASA DEL EXTRACTO ACUOSO DE FLORES DE *Brownea macrophylla*

Pereira Betzabeth, Brazón Josmary

Laboratorio de Neurofarmacología Celular, Centro de Biofísica y Bioquímica. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela; bpereira@ivic.gob.ve; betzabeth5308@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La infusión de flores de la rosa de montaña (*Brownea macrophylla*) se emplea en la medicina tradicional Venezolana para detener varios tipos de hemorragias, principalmente la menorragia. Estudios pioneros *in vitro* de esta planta realizados en nuestro laboratorio han demostrado que el extracto acuoso floral (EAF) de *B. macrophylla* (*Bm*) presenta componentes antifibrinolíticos que podrían detener el sangrado. Sin embargo, no se había reportado que el EAF*Bm* también presenta actividad anticoagulante. Por tal razón, en este trabajo se evaluó el efecto del EAF*Bm* sobre diversas proteínas de la coagulación: trombina, factor Xa, fibrinógeno (Fg), fibronectina (Fn) y fibrina (Fb).

METODOLOGÍA

En el presente estudio se determinó la actividad inhibitoria del EAF*Bm* sobre la trombina y el factor Xa utilizando el método de sustrato cromogénico. Se evaluó la actividad fibrinolítica empleando el método de placa de Fb, mientras que el efecto de EAF*Bm* sobre el Fg y la Fn fue analizado a través de SDS-PAGE Tris Tricina y la cuantificación densitométrica de las bandas se realizó por el programa ImageJ.

RESULTADOS

Los resultados demostraron que el EAF*Bm* no inhibe la actividad de la trombina ni del factor Xa. Además no presenta actividad fibrinolítica. No obstante, cuando el Fg o la Fn son incubados con EAF*Bm* a 37 °C durante 24 hrs se observó: a) 60% de degradación de la Fn a la relación 20/30 (20 µg EAF*Bm*/30 µg Fn); b) degradación de 80% de las cadenas A- α , 70% de B- β y 60% de γ del Fg a partir de la relación 8/30, con pérdida de la actividad coagulante de este Fg, evaluada a través de la prueba de tiempo de trombina. Con el fin de aislar los componentes fibrinogenolíticos del EAF*Bm*, este fue fraccionado sobre una columna de exclusión molecular Sephadex G-50, obteniéndose seis fracciones (S1-S6) de las cuales S4, S5 y S6 presentaron actividad fibrinogenolítica a la relación 8/30, siendo la fracción S4 la más activa, capaz de degradar 90% de las cadenas A- α y B- β del fibrinógeno sin afectar las cadenas γ .

CONCLUSIONES

En conclusión, el EAF de *B. macrophylla* presenta componentes de tipo fibrinogenasa y fibronectinasa que podrían modular el proceso de coagulación y cicatrización. La habilidad de estos componentes en degradar fibrinógeno y fibronectina, evita la formación de coágulos de fibrina, lo que genera interés en el potencial uso terapéutico de estas enzimas en el tratamiento de enfermedades trombóticas.

FINANCIAMIENTO

Trabajo financiado por IVIC y Proyecto PEII N° 2012001444.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fabricant, D. & Farnsworth, N. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*, 109, Suppl. 1, 69-7
2. Hoyos, J. (1983). Guía de árboles de Venezuela. (2da Ed.). Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Caracas, Venezuela.
3. Pereira, B. (2011). Efecto de componentes presentes en el extracto acuoso de flores de *Brownea macrophylla* (Fabaceae) sobre el sistema hemostático. Tesis de Licenciatura. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela.
4. Rajesh, R., Raghavendra, C., Nataraju, A., Dhananjaya, B., Kemparaju, K. & Vishwanath, B. (2005). Procoagulant activity of *Calotropis gigantea* latex associated with fibrin(ogen)olytic activity. *Toxicon*, 46, 84-92.



ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF *Amphipterygium adstringens* ON HUMAN CANCER CELL LINES

Rodríguez-García A.¹, Galan-Wong L. J.¹, Verde-Star M. J.¹, Peixoto Texeira Alves I.², Torres Salazar A.³, Ruiz Tasca Gois A.⁴

1. Institute of Biotechnology, Faculty of Biological Science, Autonomous University of Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México
2. Facultad de Tecnologia y Ciencias, Salvador, Bahia, Brazil
3. Nursery School of Coahuila, Autonomous University of Coahuila
4. Unicamp. Division of Pharmacology and Toxicology (DFT) of CPQBA. Campinas, Sao Paulo, Brazil

INTRODUCTION

Numerous drugs are currently in use for chemotherapy but they exhibit side effects. Hence, are interest in the identification of medicinal plants and derived natural products for the development of novel drugs. Mexico has a rich tradition in medicinal plant use with its diverse traditional healing practices.

Amphipterygium adstringens Schiede ex Schlecht (syn *Juliana adstringens* Schlecht) is an endemic plant of Mexico that belongs to the Julianaceae family. The plant is known as cuachalalate and it is used for the treatment of a variety of diseases.

Previous studies demonstrate that the bark of this plant has anti-inflammatory (Oviedo-Chavez *et al.*, 2004), antifungal (Peixoto *et al.*, 2010), and antimicrobial activities (Rodríguez *et al.*, 2010).

The aim of this work was to evaluate the antiproliferative activity of the crude extract (CE) of the bark of *Amphipterygium adstringens* against ten human cancer cell lines.

MATERIALS AND METHODS

Extract of *A. adstringens* was obtained from the bark macerated in ethanol. CE was tested for their antiproliferative activity in human tumor cells using the assay Sulforhodamine B (SBR) for evaluation of cell growth.

Human tumor cell lines U251 (glioma), UACC62 (melanoma), MCF-7 (breast), NCI 460 (lung, non-small cells), OVCAR-3 (ovarian), PC-3 (prostate), HT-29 (colon), 786-0 (renal), NCI-ADR (breast expressing phenotype multiple drug resistance), and K562 (leukemia) were kindly provided by the National Cancer Institute (NCI). Stock cultures were grown in medium containing 5mL RPMI 1640 supplemented with 5% fetal bovine serum. Gentamicin (50 µg/mL) was added to the experimental cultures.

Cells in 96-well plates (100 µL cells/well) were exposed to sample concentrations in DMSO-RPMI (0.25, 2.5, 25 and 250 µg/mL) at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO₂ for 48 h. Afterwards the cells were fixed with 50% trichloroacetic acid and the cell proliferation was determined by spectrophotometric quantification (540 nm) of cellular protein content using a sulforhodamine B assay.

RESULTS AND DISCUSSION

The TGI values (Table 1) were in the range of 4.4- >250 µg/mL, an inhibitory concentration similar or higher to those of doxorubicin (0.025 to 0.230 µg/ml), the reference drug.

The CE of *A. adstringens* displayed its best effects on OVCAR-3, UACC-62 and HT-29 with moderate activity at concentrations of 4.4, 7.3 and 7.9 µg/mL respectively. But the most interesting was the concentration of 26.4 µg/ml of the CE on NCI/ADR RES, a multi drug resistant line cell while no was possible to detect the TIG of doxorubicin.

Table 1. Effects of CE of *A. adstringens* on total growth inhibition (TGI).

Cell line	Total growth inhibition ($\mu\text{g/mL}$)	
	CE	DOX
U251	26.1	<0.025
UACC-62	7.3	0.028
NCI/ADR RES*	26.4	>25
786-O	28	0.038
NCI-H460	27.5	<0.025
PC-3	24.8	0.025
OVCAR-3	4.4	0.23
HT-29	7.9	0.026
K-562	>250	>25

Data result from three replicates per treatment in two independent tests, each one done in triplicate, at 25°C for 48 hours.

CONCLUSION

The anticancer activity of the crude extract of *A. adstringens* observed in this study suggests the participation of different metabolites with distinct mechanisms of action. However further studies are needed to elucidate which of the compounds show the antiproliferative activity and its therapeutic potential.

ACKNOWLEDGEMENTS

This project was supported with funds from PROMEP (103.5/12/7884).

REFERENCES

1. Peixoto- Teixeira Alves I, Sardi- de Cássia Orlandi J, Höfling JF, B. Gonçalves R, Rodríguez- García A, Galán-Wong LJ, Arévalo-Niño K, Pierce C, López-Ribot JL. 2010. Effect of plants used in Mexican traditional medicine on *Candida albicans* biofilm. „Microorganisms in Industry and Environment. From scientific and industrial research to consumer products“. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. ISBN-13: 978-981-4322-10-2. 476-478.
2. Oviedo Chavez I, Ramirez Apan T, Soto Hernandez M, Martinez Vazquez M. 2004. Principles of the bark of *Amphipterygium adstringens* (Julianaceae) with anti-inflammatory activity. *Phytomedicine* 11:436-445



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ESPECIE *Ageratina pichinchensis* EN EL CIERRE DE HERIDAS Y SU CAPACIDAD PARA MODIFICAR LA PROLIFERACIÓN CELULAR.

Ofelia Romero Cerecero, Alejandro Zamilpa, Jesús Enrique Jiménez Ferrer, Jaime Tortoriello

Centro de Investigación Biomédica del Sur, Xochitepec, Morelos, México; orcerecero@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

A. pichinchensis es una planta nativa de México utilizada dentro de la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de heridas.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto producido por extractos obtenidos de *A. pichinchensis* en el cierre de heridas, su capacidad de promover la proliferación celular así como su efecto citotóxico en líneas celulares.

METODOLOGÍA

Con las partes aéreas de *A. pichinchensis* se prepararon diferentes extractos que fueron evaluados en un modelo *in vivo* de incisión en piel de ratas. Para realizar los estudios de citotóxicidad *in vitro* se utilizaron líneas celulares KB (carcinoma nasofaríngeo), UISO (células escamosas de cáncer de cervix), OVCAR (carcinoma de ovario) y para la evaluación de proliferación celular se utilizó la línea MRC-5 (fibroblastos de pulmón humano).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los diferentes extractos de *A. pichinchensis* mostraron la capacidad de mejorar el cierre de heridas, reduciendo significativamente ($p < 0.05$ y $p < 0.007$) el tiempo que tarda en cerrar la herida en comparación con el grupo control positivo tratado con fibrinolisisina. El análisis evidenció que el extracto acuoso mostró mayor actividad. El análisis histológico de la piel que rodea la lesión mostró que el grupo de animales tratado con el extracto vegetal presentó una gran cantidad de fibroblastos, fibras de colágena y elastina, además de la neoformación de vasos sanguíneos. Los resultados obtenidos en las diferentes líneas celulares para evaluar citotóxicidad mostraron una $DL_{50} > 20 \mu\text{g/ml}$, mientras que los mismos extractos evidenciaron la capacidad de promover la proliferación celular de la línea MRC-5.

CONCLUSIONES.

Extractos obtenidos de *A. pichinchensis* mostraron una significativa capacidad para mejorar el cierre de heridas, que pudiera estar relacionado con su capacidad de promover la proliferación celular que, además, fue selectiva de la línea de fibroblastos humanos.

FINANCIAMIENTO

Proyecto desarrollado con el financiamiento: FIS/IMSS/PROT/G10/823 y con el proyecto: CIS/IMSS/PROT/G12/1119

BIBLIOGRAFÍA

1. Monroy OC, Castillo P. Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México 2000: 61-62.
2. Rzedowski J, De Rzedowski GC. Flora Fanerogámica del Valle de México. Editado por: Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, México D.F., Instituto de Ecología, México, D.F. 1a edición, 1985: 454.
3. Oyama I, Eagle H. Measurements of cell grow in tissue culture. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 88: 305-307.



HISTOLOGICAL STUDY OF NEUROLOGIC TISSUES OF TREATED ALZHEIMER MICE COMPARATIVELY TO THE ALZHEIMER'S (EXPERIMENTAL STUDY IN MICE)

Zerrouki Khayra, Djebli Nouredine, Duichene Salima

Laboratory of Pharmacognosy & Apiphytotherapy, Faculty of SNV Mostaganem University, MOSTAGANEM;
Soumaia9@gmail.com

INTRODUCTION

The objective of this study is to clarify the statement of nerve tissues of treated intoxicated/Alzheimer's, comparatively with the intoxicated/Alzheimer tissues; in order to prove the positive effects of Curcumin as a protective and therapeutic agent against neurodegenerative diseases including Alzheimer's disease caused by aluminum chloride $AlCl_3$.

METHODOLOGY

The mice were randomly divided into four groups; each group containing seven mice (for each experience: neurotoxicity, Alzheimer's model: control group, neurotoxicity and Alzheimer model, treated intoxicated/Alzheimer groups and the control treated groups. $AlCl_3$ was dissolved in distilled water administrated orally (100 mg/kg) for the intoxicated/Alzheimer's model groups, and intoxicated/Alzheimer's treated groups, with a D-Galactose IP (200mg/kg) for the Alzheimer's model given for chronically; in parallel of curcumin administration (45mg orally-200mg/kg IP) respectively for the intoxicated treated group and Alzheimer disease animal model. The control treated groups received the same doses of curcumin (45-200mg/kg).

Mice were sacrificed with an overdose of Chloral in order to realize histological study.

RESULTS

The results of the histological study show that there are typical neuropathological changes in almost of treated intoxicated mice's brains. In this investigation the effect of curcumin with over load of aluminum chloride to mice lead to reduction of neurotoxicity and Alzheimer's disease appeared as shrunken decreased of pyramidal cells, reduced effect of decreasing number of the pyramidal cells.

CONCLUSION

In conclusion antioxidant plants (turmeric in this case) are being studied for the prevention of neurotoxicity and Alzheimer's, and to slow disease progression.

In this research preventive effect of curcumin was evaluated on chronic neurotoxicity of aluminum, as well as Alzheimer's disease induced (subacute / subchronic), and study through the histological status of nerves.



EFFECTO DE FRUCTOOLIGOSACARIDOS AISLADOS DE *Psacalium decompositum* SOBRE EL PERFIL INFLAMATORIO DE RATAS OBESAS

Almanza-Pérez Julio César², Merino-Aguilar Héctor^{1,2}, Rosiles-Alanis Wendoline², Jiménez-Estrada Manuel³, Magos-Guerrero Gil⁴, Román-Ramos Rubén², Alarcón-Aguilar Francisco Javier²

1. Doctorado del Posgrado en Ciencias Biológicas y de la Salud. D.C.B.S., Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D.F. México
2. Depto. Ciencias de la Salud, D.C.B.S., Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D.F. México
3. Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México
4. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México

INTRODUCCIÓN

La prevalencia de obesidad y desórdenes metabólicos a nivel mundial ha aumentado considerablemente: esto principalmente debido al tipo de dieta y hábitos alimenticios que ha optado la población. El consumo excesivo de fructuosa, contenida en diversas bebidas y otros productos, representa uno de los ejemplos más claros de este cambio de hábitos alimenticios. Algunos estudios han mostrado que el consumo excesivo de fructuosa puede provocar un incremento en el peso corporal, acumulación excesiva de grasa y dislipidemias. Estos eventos son el punto de inicio de diversas complicaciones vasculares, en donde el perfil proinflamatorio característico de la obesidad y la diabetes, es el principal factor que promueve dichas complicaciones (1-4). *Psacalium decompositum* (Gray) H.E. Rob. & Brett, popularmente conocida como "matarique", es una especie vegetal que ha sido usada extensamente en México para el tratamiento empírico de la diabetes mellitus (5,6). Varios estudios químicos y farmacológicos han revelado que *P. decompositum* contiene carbohidratos tipo inulina en la fracción acuosa, los cuales han mostrado efecto hipoglucémico tanto en animales sanos como en diabéticos (7). Por otro lado, se ha observado que *P. decompositum* tiene un potente efecto hipoglucémico (8-10). Sin embargo, no se han explorado sus efectos sobre el perfil inflamatorio, característica importante que se presenta en pacientes con diabetes y obesidad. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de *P. decompositum* sobre el perfil inflamatorio de ratas obesas por una dieta alta en fructuosa.

METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar de 12 semanas de edad divididas en tres grupos; un grupo alimentado con dieta estándar (Harlan); al segundo grupo se le administró bezafibrato 30 mg/kg y 20% de fructuosa en alimento y agua; el tercer grupo fue tratado con la fracción rica en fructooligosacaridos a razón de 150 mg/kg y 20% de fructuosa en alimento y agua. Al finalizar el tratamiento (3 meses) se obtuvo una muestra sanguínea para realizar un análisis bioquímico y para cuantificar las citocinas TNF- α , IL-6, IFN- γ , MCP-1, IL-1 β y VEGF.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento con la fracción rica en fructooligosacaridos redujo significativamente el peso corporal, triglicéridos y colesterol. Además generó cambios importantes en el perfil inflamatorio, afectando las concentraciones séricas de IL-6, IFN- γ , MCP-1, IL-1 β y VEGF. Estos resultados permiten proponer a *P. decompositum* como una fuente potencial de agentes farmacológicos que, además de corregir el nivel glucémico, generen cambios sobre el metabolismo de lípidos, acompañado con modificaciones en el perfil inflamatorio que a la larga impactarán sobre el desarrollo de las complicaciones vasculares características de diabetes y obesidad.

CONCLUSIÓN

P. decompositum representa una alternativa importante para el tratamiento de la diabetes mellitus. Así mismo, corrige el perfil proinflamatorio característico de la enfermedad.

FINANCIAMIENTO

Hector Merino Aguilar recibió apoyo de CONACyT, número de registro (CVU/Becario) 225772/210474.

BIBLIOGRAFÍA

1. Reusch, J.E. Diabetes, microvascular complications, and cardiovascular complications: what is it about glucose? *J. Clin. Invest.* 112: 986–988, 2003.
2. Xu, H., G.T. Barnes, Q. Yang, G. Tan, D. Yang, C.J. Chou, J. Sole, A. Nichols, J.S. Ross, L.A. Tartaglia and H. Chen. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 112: 1821–1830, 2003.
3. Esposito, K., F. Nappo, R. Marfella, G. Giugliano, F. Giugliano, M. Ciotola, L. Quagliaro, A. Ceriello and D. Giugliano. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 106: 20670–20672, 2002.
4. Esposito, K., A. Pontillo, F. Giugliano, G. Giugliano, R. Marfella, G. Nicoletti and D. Giugliano. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88: 1055–1058, 2003.
5. Linares, E. and Bye, R.A. Jr. A study of four medicinal plant complexes of Mexico and adjacent United States. *J. Ethnopharmacology* 19: 153–183, 1987.
6. Martínez, M. Las Plantas Medicinales de México. Botas, México D.F., México, 1939
7. Jimenez-Estrada, M., Merino-Aguilar, H., Lopez-Fernandez, A., Rojano-Vilchis, N.A., Roman-Ramos, R., Alarcon-Aguilar F.J. Chemical characterization and evaluation of the hypoglycemic effect of fructooligosaccharides from *Psacalium decompositum*. *J. Complement. Integr. Med.* 8(1): 1413-1423, 2011.
8. Alarcon, A.F., Roman, R.R., Jimenez, E.M., Reyes, Ch.R., Gonzales, P.B., Flores, S.J.L. Effect of three Mexican medicinal plants (Asteraceae) on blood glucose levels in healthy mice and rabbits. *J. Ethnopharmacol.* 55: 171-177, 1997.
9. Alarcon, A.F., Jimenez, E.M., Reyes, Ch.R., Gonzales, P.B., Contreras, W.C., Roman, R.R. Hypoglycemic activity of root water decoction, sesquiterpenoids, and one polysaccharide fraction from *Psacalium decompositum* in mice. *J. Ethnopharmacol.* 69: 207-215, 2000a.
10. Alarcon, A.F., Jimenez, E.M., Reyes, Ch.R., Roman, R.R. Hypoglycaemic effect of extracts and fractions from *Psacalium decompositum* in healthy and alloxan-diabetic mice. *J. Ethnopharmacol.* 72: 21-27, 2000b.



MECANISMO DE ACCIÓN ANTIDEPRESIVA Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Tagetes lucida* CAV

Guadarrama Cruz Gabriela Verónica¹, Almanza Pérez Julio César², Guzmán Gutiérrez Silvia Laura¹, Vázquez Palacios Gonzalo³, Galván Arzate Sonia⁴, Alarcón Aguilar Francisco Javier², Bonilla Jaime Herlinda⁵

1. Posgrado en Biología Experimental, UAM-I
2. Laboratorio de Farmacología, UAM-I
3. Colegio de Ciencia y Tecnología, UACM
4. Instituto de Neurología y Neurocirugía
5. Laboratorio de Biología Conductual y Reproductiva, UAM-I, Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina Del. Iztapalapa, México DF. CP.09340. Tel. 5804 6483 Fax. 5804 4727

INTRODUCCIÓN

La depresión es una enfermedad psiquiátrica que afecta a 350 millones de personas¹. Se estima que entre el 15% y 20% de los pacientes tienen síntomas que persisten durante al menos 2 años². En la actualidad hay varios tratamientos antidepresivos, sin embargo, estos tratamientos farmacológicos ejercen sus efectos a largo plazo, lo que induce una baja adherencia, lo cual justifica la búsqueda de nuevas alternativas para su control³. Dentro de la medicina tradicional mexicana, *Tagetes lucida* Cav. tiene efectos sobre el sistema nervioso central y se ha demostrado que tiene efecto antidepresivo en la prueba de nado forzado (PNF), sugiriendo que el sistema serotoninérgico desempeña un papel importante en su efecto, apoyando la idea de que su posible mecanismo de acción sea a través de este sistema^{4,5}, aunque se requieren evidencias experimentales que apoyen esta idea. Los objetivos del presente trabajo son:

1. Determinar la participación de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en el efecto antidepresivo de *T. lucida*.
2. Identificar químicamente los compuestos presentes en el extracto acuoso *T. lucida*.

METODOLOGÍA

Con el propósito de analizar la participación de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A}, ratas Wistar macho de 300 mg/kg se sometieron a los siguientes tratamientos: a) solución salina, b) extracto acuoso (200 mg/kg), c) WAY-100635 (0.5 mg/kg, i.p), d) WAY-100635 (0.5 mg/kg) + extracto acuoso (200 mg/kg). Para el receptor 5-HT_{2A} se administró: a) solución salina, b) extracto acuoso (200 mg/kg), c) ketanserina (5 mg/kg), d) ketanserina (5 mg/kg) + extracto acuoso (200 mg/kg). La administración se realizó 72, 48, 24, 18 y 1 hora antes de realizar la PNF.

Para la caracterización química, el extracto acuoso de *T. lucida* (5 g) se fraccionó en una columna empacada con sílice fase reversa y como eluyentes MeOH:H₂O y mezclas de éstos disolventes, decreciendo la polaridad. Las fracciones obtenidas se reunieron de acuerdo con su similitud cromatográfica. Estas mismas fracciones se sometieron a un segundo fraccionamiento en una columna de Sephadex LH-20, utilizando los mismos eluyentes, Se realizaron fraccionamientos sucesivos similares hasta obtener los compuestos aislados para su identificación mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que la administración del extracto acuoso de *T. lucida* reduce el tiempo de inmovilidad y aumenta la conducta de nado, solo en la dosis de 100 y 200 mg/kg. La administración de WAY-100635 y ketanserina inhiben el efecto antidepresivo del extracto acuoso de *T. lucida*. Los resultados sugieren que la respuesta antidepresiva de *T. lucida* está mediada por la participación de los receptores 5-HT_{2A}, probablemente con participación parcial del receptor 5-HT_{1A}, con la identificación de un compuesto llamado quercetagetina.

CONCLUSIONES

El efecto antidepresivo de *T. lucida* en PNF parece estar mediado a través de una interacción con los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A}, posiblemente la quercetagina sea el responsable del efecto antidepresivo del extracto acuoso de *T. lucida*.

FINANCIAMIENTO

Gabriela Verónica Guadarrama Cruz recibió apoyo de CONACyT, número de registro (CVU/Becario) 228698/212823.

BIBLIOGRAFÍA

1. The World Health Report. (2012). Mental health: new understanding new hope. WHO, Geneva.
2. Blier P, Ward NM. (2003). Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression? *Biol Psychiatry*.53:193-203.
3. Rosenzweig, L.S., Beyer, C. E., Hughes, Z. A., Khawaja, X., Rajarao, S. J., Malberg, J. E., Rahman, Z., Ring, R. H., Schechter, L. E. (2007). Differentiating antidepressants of the future: Efficacy and safety. *Pharmacol Ther*. 113: 134–153.
4. Guadarrama, C. G., Alarcón, A. F., Lezama, R., Vázquez, P. G., Bonilla, J. H. (2008). Antidepressant like effects of *Tagetes lucida* in the forced swimming test. *J Ethnopharmacol*. 18: 27-36.
5. Gabriela GC, Javier AA, Elisa VA, Gonzalo VP, Herlinda BJ. (2012). Antidepressant-like activity of *Tagetes lucida* Cav. is mediated by 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors. *Am J Chin Med*. 40:753-68.



EFFECTO HIPOGLUCEMICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE CHAYA (*Cnidocolus chayamansa*) EN RATAS WISTAR CON DIABETES EXPERIMENTAL

Vidal López D.G., González-Esquinca A. R., Schlie Guzmán M. A., Gutiérrez Jiménez J.

Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Facultad de Ciencias Biológicas, Libramiento Norte Poniente #1150. Colonia Lajas Maciel, Tuxtla Gutiérrez, C.P. 29039 Chiapas; lolita.vidal@unicach.mx

INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus se considera como uno de los principales problemas de salud a nivel mundial. Es una de las enfermedades con los más altos índices de prevalencia y mortalidad. Un número importante de los fármacos utilizados en la medicina contemporánea son obtenidos de plantas o de subproductos en el aislamiento, purificación, y la correlación entre la acción fisiológica y estructura de los principios activos contenidos en las plantas (metabolitos secundarios) sometidos a niveles de transformación química (Aguilar, 2001). El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto hipoglucémico de la planta, *Cnidocolus chayamansa*, distribuida en el estado de Chiapas, en un modelo de diabetes experimental inducida químicamente en ratas Wistar.

METODOLOGÍA

Se recolectaron hojas de *C. chayamansa* en la localidad de Tuxtla Gutiérrez y se preparó un extracto acuoso en 200 mL de agua destilada con 100 g de hojas previamente deshidratadas, se eliminó el agua por evaporación y se prepararon concentraciones de 1 y 2 mg/K. Se establecieron 6 grupos experimentales con 18 ratas de la cepa Wistar de 280 ±35g de peso, 5 de ellos fueron inducidos a una diabetes experimental con 45mg/K estreptozotocina (STZ) vía i.p; 1 grupo normal. 72 h posteriores a la aplicación, se midió la glucosa en sangre haciendo una punción en la vena caudal con una lanceta esterilizada y se obtuvo una gota de sangre que fue colocada en la tira reactiva del glucómetro BAYER con grado de sensibilidad de 70-600mg; Este proceso se repitió en intervalos de 60 min hasta obtener un total de 5 registros.

La atención de los animales se llevo a cabo, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El grupo de Ch1mg tuvo una reducción de la glucosa a partir de los 120 min con un 18.78%, comparado con el grupo metformina el efecto se da a partir de la primera hora una reducción de 17.62%; el grupo de glibenclamida su efecto empieza a partir de los 180 min y tiene una reducción 37.58%. El grupo Ch2mg los niveles de glucosa bajan desde los primeros 60 min; y a los 180 min, hay mayor reducción hasta un 34.51%.

CONCLUSIÓN

Se concluye que ambas dosis (Ch1mg y Ch2 mg) del extracto acuoso de hojas de *C.chayamansa* tienen una reducción de glucosa similar a los fármacos utilizados, lo cual se puede expresar una farmacocinética similar.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar Cuestas G., 2001, Determinación de la actividad hipoglucemiante de *Phoradendron tomentosum*(DC) sobre un modelo de ratas diabéticas de experimentación, tesis para maestro en ciencias con especialidad química en productos naturales, Universidad Autónoma de Nuevo León, Pág. 19
2. Norma Oficial Mexicana. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). En: Diario Oficial de la Federación, México, 6 de diciembre 1999.



ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE PLANTAS PROVENIENTES DE LA SIERRA NEVADA DE SANTA MARTA – COLOMBIA

Arboleda V, J. W.^{1,4}, Alves de Lima L.², Valencia J. A.³, Franco L. O.⁴, Campos D, S.4; Sihler, W.5; Lobo de Souza, M.5; Grossi-de-Sá, M. F.5

1. Universidad del Atlántico, Facultad de Ciencias Básicas, Programa de Biología, Km. 7 Antigua via a Puerto Colombia, Barranquilla, Atlántico – Colombia; jwarboleda@gmail.com / jorgearboleda@mail.uniatlantico.edu.co
2. Universidade Católica de Brasília, Centro de Análises Proteômicas e Bioquímicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia, SGAN 916, Campus II – Asa Norte – Brasília/DF – 70790-160 Brazil
3. Universidad de Caldas, Departamento de Fitotecnia, Manizales, Calle 65 # 26-10, Colombia
4. Universidade Católica de Brasília, Centro de Análises Proteômicas e Bioquímicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia, SGAN 916, Campus II – Asa Norte – Brasília/DF – 70790-160 Brazil
5. Embrapa-Recursos Genéticos e Biotecnologia, PqEB, W5 Norte Final, Brasília/DF, 70770-900, Brazil

INTRODUCCIÓN

En Colombia, la Región Caribe tiene una extensión de 132.288 km² que corresponden a 11,6% de la superficie total del país, a ella pertenecen en su área continental los departamentos de la Guajira, Atlántico, Bolívar, Cesar, Córdoba, Magdalena y Sucre; y en la área insular las islas de San Andrés y Providencia, Santa Catalina y los cayos y bajos coralinos. Esta región, posee una invaluable diversidad de recursos étnicos, económicos, culturales, sociales y naturales; estos últimos representados en numerosos ecosistemas que ofrecen refugio a una amplia diversidad de especies y constituyen una valiosa fuente de compuestos, subproductos y sustancias; resultado de los procesos evolutivos determinados por la complejidad en la oferta ambiental y las condiciones climáticas, que favorecen la producción de péptidos antimicrobianos (AMPs) útiles en la prospección de nuevos fármacos (Otero-González et al, 2010). La evaluación e identificación de nuevos fármacos especialmente a partir de plantas y animales marinos ha ganado importancia en los últimos tiempos dadas las necesidades de combate a patógenos humanos de importancia clínica (Pelegri et al., 2011). Por lo anterior, los trabajos de bioprospección realizados en ecosistemas que corresponden a “puntos calientes de biodiversidad” y son vulnerables como el bosque húmedo pre-montano; son valiosos aportes a la conservación del ambiente, la generación de conocimiento estratégico y la búsqueda de alternativas de desarrollo económico mediante el aprovechamiento sostenible, que a través de la biotecnología aplicada permite mejorar las condiciones de vida de las poblaciones.

METODOLOGÍA

Las muestras de plantas se recolectaron en el sector *El Congo* perteneciente al Municipio de Santa Marta en inmediaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta, seguido de caracterización de los sitios de recolección y posterior identificación en herbario. Se realizó precipitación de proteínas con sulfato de amonio, seguido por procesos de diálisis y fraccionamiento seriado con membranas de exclusión, hasta obtener fracciones proteicas mayores y menores de 3 kDa para los bioensayos. Los ensayos de actividad antibacteriana se realizaron contra los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Staphylococcus* y *Pseudomonas* (ATCC) principales causadoras de infecciones hospitalarias oportunistas, usando el protocolo de microdilución en caldo descrito en el M7-A6 del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (2006). Siguiendo la metodología descrita por Arboleda et al. (2011), se realizaron ensayos de actividad citotóxica utilizando las líneas celulares de insectos *S. frugiperda*: IPLB-Sf-21, Sf-9, *Trichoplusia ni*: BTI-Tn 5B1-4 (H5), *Anticarsia gemmatalis*: UFL-AG-286, *Lymantria dispar*: IPLB-LD-625Y y *Bombyx mori*: BM-5. Todos los tratamientos se evaluaron con 3 repeticiones a las 48 horas de exposición con 10 µg de cada extracto, evaluando la viabilidad celular usando el colorante azul de tripano a 0,4%. Finalmente, como ensayo de especificidad, se evaluó a las 48 horas y 27±1°C la actividad nematocida en placas de ELISA conteniendo 60 larvas J2 de *Meloidogyne* sp. en presencia de 100 µl de cada extracto. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando ANOVA y test de comparación de Tukey para todos los tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN / CONCLUSIÓN

Los resultados muestran diferencias estadísticas significativas para los porcentajes de inhibición obtenidos contra la bacteria *K. pneumoniae* con los extractos provenientes de *Ficus* sp. y *Tibouchina* sp. (< 3 kDa), con valores de 31 y 33% respectivamente. Los mismos extractos solamente mostraron inhibición contra *E. coli* de 21 y 23% respectivamente, seguido por un 7% de *Carludovica* sp. y 0% de inhibición para el resto de plantas evaluadas. Las plantas mostraron baja actividad inhibitoria contra *Salmonella* sp. y ninguna de ellas mostró diferencias significativas en inhibición contra *Pseudomonas* sp. y *Proteus* sp. con respecto al control negativo. Todos los extractos mostraron actividad inhibitoria contra *Staphylococcus* sp. con valores que fluctuaron entre 20 y 100%. Aunque, la mayoría de los extractos utilizados no mostraron resultados significativos contra las bacterias, es de anotar que estos ensayos corresponden a solamente dos fracciones proteicas producto de la prepurificación, lo que no descarta la presencia de actividad en otras fracciones y de otros compuestos presentes en los extractos y producto del metabolismo secundario. Adicionalmente, todos los extractos utilizados mostraron actividad citotóxica con valores superiores al 50% de viabilidad, sobre las líneas celulares seleccionadas y 100% de actividad nematostática sobre el fitopatógeno. En general, la búsqueda de moléculas en diferentes biomas mediante la bioprospección asistida, permitirá plantear alternativas de aprovechamiento de la biodiversidad en el marco de estrategias de desarrollo sostenible.

FINANCIADORES

Esta investigación contó con el apoyo de la Universidad del Atlántico Barranquilla – Colombia, del *Centro de Análises Proteômicas e Bioquímicas* de la Universidade Católica de Brasília – Brasil y de EMBRAPA - *Recursos Genéticos e Biotecnologia* – Brasil. Además, los autores agradecen el soporte recibido de la Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES en Brasil.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arboleda V, JW. 2011. Metabólitos de origem fúngica: aplicações potenciais em processos biotecnológicos. Tese. Universidade de Brasília-UnB. 106 p.
2. Otero-González AJ, Magalhães BS, Garcia-Villarino M, et al. 2010. Antimicrobial peptides from marine invertebrates as a new frontier for microbial infection control. *The FASEB Journal* 24: 1320-1334.
3. Pelegrini P, Perseghini del Sarto, R, Nascimento O, et al. 2011. Antibacterial Peptides from Plants: What They Are and How They Probably Work. *Biochemistry Research International*. doi:10.1155/2011/250349



Baccharis dracunculifolia AN ALTERNATIVE TO CONTROL BOVINE MASTITE

Maia F. T.¹, Siqueira R. P.¹, Pizziolo V. R.¹, Diaz G.², **Díaz, M.A.N.**¹

1. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs s/n 36570-000, Viçosa-MG, Brazil; marisanogueira@ufv.br

2. Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte-MG, Brazil

INTRODUCTION

Bovine mastitis, an inflammatory response in cow's udder, is the main infecto-contagious disease affecting dairy cattle and is considered a limiting factor in many dairy properties. The huge economic losses associated with mastitis worldwide motivate researches focused on several aspects of the disease. *Staphylococcus aureus* is the main etiologic causative agents of mastitis and Infections caused by this microorganism frequently turn into chronic and cows with such infections have to be culled. Biofilms are structured community of bacterial cells associated with a surface, enclosed in an extracellular polysaccharide matrix, in recent years several studies show that biofilm formation is a key factor in the establishment and persistence of infections caused by *S. aureus*. In the last few decades, the number of researches on plants antimicrobial properties has increased because the resistance of antibiotic. This study aims to evaluate the antiseptic potentials of *Baccharis dracunculifolia* based herbal soap formulated in our lab.

MATERIAL AND METHODS

Formulation of Herbal Soap

The dichloromethane extract of roots from *Baccharis dracunculifolia* (250 mg) was incorporated into a soap formulated according patent PI 1005633-5. A soap without extract was produced and used as a reference product.

Antibacterial assay of the Herbal Soap

The agar-dilution method was employed in the *in vitro* evaluation, using *S. aureus* strain 4070 resistant. For *in vivo* evaluation, the gloves, after manipulation of cow's udder contaminated with *S. aureus* was used.

RESULTS

The herbal soap formulated with *Baccharis dracunculifolia* demonstrated high inhibition against *S. aureus* of cow's udder and indicates the potential of the plant as excipient in the production of antiseptic soaps for combating bovine mastitis infections especially in small farms. The pharmaceutical industry has major interest in the identification of novel antimicrobials that target microbial biofilms, since their role in pathogenesis was recognized. These findings have high economic, industrial and veterinary significance.

ACKNOWLEDGEMENTS

CNPq for Financial support (470153/2011-3) Fapemig (APQ-00454-11) and Capes for the financial support.



Miconia latecrenata AN ALTERNATIVE TO DISCOVERY NEW DRUGS WITH ANTIBACTERIAL AND ANTIMUTAGENIC ACTIVITIES

Gontijo D. C.² Leite, J. P. V.¹, Pizziolo V. R.¹, Silva D. M.¹, Díaz M. A. N.¹

1. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs s/n 36570-000, Viçosa-MG, Brazil; marisanogueira@ufv.br
2. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte-MG, Brazil

INTRODUCTION

The genus *Miconia* (Melastomataceae) includes about 1000 species and subspecies of herbs and shrubs, with a distribution in the tropical regions of America. Plants of this genus have demonstrated a great potential as medicinal plants with biological activity as antitumoral, antimicrobial, antimalarial antioxidant, antimutagenic and trypanocidal. This study aims to evaluate the antibacterial and antimutagenic activity of extract *Miconia latecrenata* (MLAE) to prevent infectious and degenerative disease.

MATERIAL AND METHODS

Plant material

The plant was collected in December 2010 in Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Minas Gerais/Brazil. It was dried and extracted with water heated (1:20 drug/water) by infusion method. After the aqueous extract was lyophilized.

Biological activity

The antibacterial activity was evaluated according to the technique of agar diffusion method hole plate (1.5 mg MLAE/test) then evaluating the minimum inhibitory concentration (MIC), determined by the microdilution method, front of the strains *Staphylococcus aureus* 3993, *Staphylococcus aureus* 4125 and *Escherichia coli* 24 isolated from bovine mastitis (NCCLS, 2003). Antimutagenic test was performed with and without S9 metabolic activation, using the method of preincubation at 30 min for strains TA97, TA98, TA100 and TA102 of *Salmonella typhimurium*/microsome, with the addition of mutagens. MLAE was evaluated at the doses 42.5, 85, 170, 255 and 340 µg/plate.

RESULTS AND DISCUSSION

The Table 1 and 2 shows antibacterial and MIC values for MLAE.

Table 1: Antibacterial activity expressed by the average millimeters halo ± standard deviation of MLAE.

	<i>S. aureus</i> 3993	<i>S. aureus</i> 4125	<i>E. coli</i> 24
MLAE	23,5 ± 1,0	23,5 ± 1,5	11,5 ± 1,4
^A Positive control	43,0 ± 1,0	34,7 ± 0,6	29,7 ± 0,6
^B Negative control	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
A	150 µg	ampiciline/test	B
			30 µL DMSO/test

Table 2: Minimum inhibitory concentration (MIC).

	<i>S. aureus</i> 3993	<i>S. aureus</i> 4125	<i>E. coli</i> 24
MLAE	< 20 mg	< 20 mg	1400< MIC< 1600 mg

The antimutagenic effects MLAE front of the TA97 strain showed antimutagenic action maximum of about 87% without S9 metabolism (42.5 µg/plate). As for the strains TA98, TA100 and TA102 were mutagenic maximum inhibition of 70% (340 µg/plate), 83% (340 µg/plate) and 97% (170 µg/plate), respectively, for MLAE with S9 metabolism. Composition rich in phenolic compounds MLAE can be related to effective antibacterial and antimutagenic observed for this extract.

CONCLUSION

The results show that antibacterial MLAE is very active and is promising for drug development for the treatment of bovine mastitis. The antimutagenic effects of MLAE showed that this extract can be used for the isolation of potential antitumoral agents.

ACKNOWLEDGEMENTS

CNPq (470153/2011-3), Fapemig (APQ-00454-11) and Capes for the financial support.



SYNERGISM BETWEEN NATURAL PRODUCTS AND ANTIBIOTICS AGAINST *Staphylococcus aureus* OF BOVINE ORIGIN

Silva D. M.¹, Costa P. A.¹, Ribon A. O. B.¹, Brasileiro B. G.¹, Pizziolo V. R.¹, **Díaz M. A. N.¹**

1. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs s/n 36570-000, Viçosa-MG, Brazil; marisanogueira@ufv.br

2. Instituto Federal do Sudeste, Muriaé, MinasGerais, Brasil

INTRODUCTION

Antibiotics are natural or synthetic compounds capable of inhibiting growth or causing the death of bacteria or fungi. Although antimicrobial agents with a single mechanism of action have been considered effective in recent years, it seems unlikely that this will continue in the future due to the increasing bacterial resistance to antibiotics in human and veterinary practices. A number of drugs are currently used based on synergistic interactions between different antibiotics with different targets. Combined use can expand the therapeutic spectrum of drug activity, increasing chances of fighting infections. Studies show that the use of plant extracts in combination with antibiotics promotes a significant reduction in the minimum inhibitory concentrations of some isolates. The goal of this study was to evaluate the effect of plant extracts, antibiotics and their combination against *Staphylococcus aureus* of bovine origin.

MATERIAL AND METHODS

The activity of antimicrobial plants extracts was evaluated using the hole plate methods on two strains of *Staphylococcus aureus* (3993 and 4125) provided by Embrapa Gado de Leite and isolated from animals affected with mastitis. The microdilution method was used to determine the minimal inhibitory concentrations (MIC) of the extracts as well as the antibiotics ampicillin, kanamycin, chloramphenicol, gentamicin, and tetracycline. The checkerboard method was used to evaluate synergism between antibiotics and plant extracts.

RESULTS

The result showed that the ethanol extracts of *Inga edulis* and hexane extracts of *Baccharis dracunculifolia* have satisfactory antimicrobial activity against *S. aureus* with inhibition zones greater than 7 mm. This was followed by evaluating the interaction between plant active extracts and five commonly used antibiotics for the treatment of bovine mastitis. Synergism was observed between the extract of *Plectranthus ornatus* and the antibiotics ampicillin, kanamycin and gentamicin, with a reduction in inhibitory concentration (MIC) for the antibiotic plus extract combination of eight times. Both the extract of *Salvia officinalis* and *Senna macranthera* showed synergism with ampicillin, kanamycin, gentamicin and tetracycline, with a reduction in the MIC of up to eight times. The results show that these plants are sources of compounds that potentiate the effects of antibiotics belonging to different classes, which can therefore be combined in the treatment of infections.

ACKNOWLEDGEMENTS

CNPq (470153/2011-3), Fapemig (00454-11) for the financial support.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DA ENTRECASCA DE *Dilodendrom bipinnatum* RALDK.

Ruberlei Godinho de Oliverira, Clarisse Pinto Coelho de Azevedo Neta Mahon, **Domingos Tabajara de Oliveira Martins**

Universidade Federal de Mato Grosso, Departamento de Ciências Básicas em Saúde, Faculdade de Medicina, Av. Fernando Correa da Costa, nº 2367, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil; taba@terra.com.br

INTRODUÇÃO

Dilodendron bipinnatum, conhecida como mulher-pobre, utilizada como anti-inflamatória e analgésica. O objetivo do estudo foi avaliar a atividade antinociceptiva do extrato hidroetanólico 70% da entrecasca de *D. bipinnatum* (EHDb).

MÉTODOLOGIA

A atividade antinociceptiva foi avaliada nos modelos de nocicepção por ácido acético, formalina e placa quente em camundongos *Swiss*, 20-25 g e em jejum de sólidos por 18 h. Para avaliação das contorções abdominais, os animais receberam, veículo (água destilada 0,1 mL/10 g), EHDb (20, 100 e 500 mg/kg) ou 5 mg/kg de indometacina e 1 h após, 0,1 mL/10 g ip. de ácido acético 0,6 % em salina. As contorções abdominais foram contadas durante os 30 min subsequentes. No teste da formalina, 1 h após o tratamento oral com veículo, EHDb e indometacina ou 15 min com 25 mg/kg sc. de meperidina, cada animal recebeu 25 mL de solução de formaldeído 2,5 % em salina intraplantar (sc.). Após, os animais foram colocados sob uma redoma de vidro espelhado e o tempo despendido lambendo ou mordendo a pata injetada com formalina foi cronometrado durante os 5 min iniciais (1ª fase) e no intervalo de 20 a 30 min (2ª fase). No teste da placa quente foi avaliado o tempo (s) de permanência dos animais na placa aquecida a 56 °C imediatamente antes da administração oral do veículo, EHDb e indometacina ou meperidina sc. (tempo zero) e após 15, 30, 60, 90, 120 e 180 min. Os resultados foram expressos como média \pm EPM.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No grupo Sham, a injeção de ácido acético causou intensa contorção abdominal ($44 \pm 3,9$). O EHDb, nas doses de 20, 100 e 500 mg/kg, verificou-se redução, dose-dependente, atingindo o maior efeito (84,1%; $p < 0,001$) com 500 mg/kg, enquanto com indometacina a redução foi de 90,9% ($p < 0,001$). No teste da formalina, o EHDb nas doses testadas não alterou a resposta nociceptiva da 1ª fase, reduzindo, no entanto, a resposta nociceptiva da 2ª fase em 60,7% e 57,1% nas doses de 100 e 500 mg/kg ($p < 0,001$), respectivamente. A indometacina reduziu a resposta nociceptiva (59,8%; $p < 0,001$), apenas na 2ª fase, enquanto a meperidina mostrou-se ativa em ambas as fases, com 46,9 % ($p < 0,001$) e 89,3 % ($p < 0,001$) de inibição na 1ª e 2ª fases, respectivamente. No teste da placa quente, o grupo veículo respondeu ao estímulo térmico em $7,16 \pm 0,94$ s. O EHDb não foi capaz de elevar o limiar nociceptivo dos camundongos, ao estímulo térmico, ao contrário da meperidina, que aumentou o tempo de permanência dos animais na placa aquecida durante 4 h, atingindo o pico do efeito (74,4%, $p < 0,001$) na 1ª h.

CONCLUSÃO

O EHDb mostrou-se ativo apenas em dores de origem inflamatória, confirmando seu uso popular no alívio deste sinal em inflamações.

APOIO

CNPq, CAPES, INAU



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE E MODO DE AÇÃO ANTIMICROBIANO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Celtis iguanaea* (JACK.) SARG.

Pereira JFCA, Martins DTO

Área de Farmacologia, Departamento de Ciências Básicas em Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Correa da Costa, n. 2367, 78060-900, Cuiabá-MT, Brazil; taba@terra.com.br

INTRODUÇÃO

Celtis iguanaea, Cannabaceae, é um arbusto conhecido como esporão-de-galo e cuja infusão das folhas é usada popularmente na Amazônia mato-grossense para o tratamento de dores, asma, má-digestão e infecções urinárias.

OBJETIVOS

Avaliar a atividade e o modo de ação antimicrobiano do extrato hidroetanólico de *C. iguanaea* (EHCi).

MÉTODOS

As folhas de *C. iguanaea* foram limpas, secas, trituradas e o pó resultante macerado em solução hidroetanólica 70% (1:5, p/v), filtrado, concentrado e o solvente residual eliminado em estufa, obtendo-se assim o EHCi. O EHCi foi testado contra um painel de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas e de leveduras, utilizando-se os métodos de difusão em ágar e microdiluição em caldo. Como padrão antibacteriano foi utilizado cloranfenicol e como padrão antifúngico anfotericina B. Considerou-se muito ativas drogas com halos de inibição >10 mm e CIM < 100 µg/mL. Para caracterização da natureza da ação antibacteriana foi realizado estudo de antibiose, avaliando-se o crescimento bacteriano por 24 h, em ágar, a concentrações do EHCi ≥ CIM. Para avaliação do modo de ação antibacteriano do EHCi sobre a permeabilidade da membrana externa, foi avaliado o sinergismo entre o extrato (0,5 CIM) e os antibióticos eritromicina e rifampicina (0,68 a 20 µg/mL), em cepas de *Shigella flexneri* (Sf). Já o modo de ação do EHCi sobre a membrana citoplasmática, foi avaliado pela medida do efluxo de nucleotídeos (2 CIM), expresso em termos absorbância, lida em espectrofotômetro a 260 nm, em cepas de *Enterococcus faecalis* (Ef) e Sf.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O EHCi apresentou potente atividade antibacteriana (CIM=12,5 µg/mL) frente ao *Staphylococcus epidermidis* (Se) e *Streptococcus pyogenes* (Sp), sendo inativo frente às leveduras. O cloranfenicol foi ativo contra todas as bactérias, especialmente frente à Sf, Se e Sp com CIM de 3,12 µg/mL. A anfotericina inibiu o crescimento das leveduras com CIM de 1,56 µg/mL. O EHCi (200 µg/mL) não alterou a permeabilidade da parede celular da Sf aos antibióticos eritromicina e rifampicina, indicando que sua ação bacteriostática não decorre deste mecanismo. O EHCi (400 e 800 µg/mL) causou liberação dos conteúdos intracelulares, atingindo um extravasamento máximo de nucleotídeos, na 12ª h, de 432% (0,090) e 150% (0,205), em relação ao grupo controle (0,017 e 0,082), respectivamente para Ef e Sf, indicando dano à membrana citoplasmática.

CONCLUSÃO

O EHCi possui atividade bacteriostática, mais pronunciada contra bactérias Gram-positivas e atua, pelo menos, em parte, a nível da membrana citoplasmática.

APOIO

CNPq, FAPEMAT, INAU



EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Vernonia polyanthes* LESS. (ASTERACEAE)

Temponi V. S.¹, Silva, J. B.¹, Rodrigues K. C. M.^{1,2}, Gasparetto C. M.^{1,2}, Fabri R. L.¹, Ribeiro A.³, Scio E.^{2,3}, Sousa O. V.^{1,2}, Alves M. S.^{1,2}

1. Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, Brazil; silvana.alves@ufjf.edu.br

2. Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil

3. Department of Biochemistry, Institute of Biological Sciences, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil

INTRODUCTION

Vernonia polyanthes Less. (Asteraceae) is a medicinal plant found in South America that has been intensively studied based on their biological properties¹. *V. polyanthes* is traditionally used as a diuretic, hypotensive, sedative, abortifacient, anthelmintic, anti rheumatic, anti-inflammatory and in wound healing². The present study aimed to evaluate the antibacterial activity of the ethanol extract (EE) and fractions of hexane (HF), dichloromethane (DF), ethyl acetate (AF) and n-butanol (BF) from *V. polyanthes* leaves.

METHODOLOGY

The antibacterial activity was evaluated by Antimicrobial Susceptibility Test (AST) through agar diffusion and by Minimum Inhibitory Concentration (MIC) using microdilution method, according the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)^{3,4} guidance. The representative reference bacterial strains *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 were used.

RESULTS AND DISCUSSION

The AST results revealed that the DF and AF were active against *S. aureus* ATCC 29213 and this activity could be attributed to the presence of different secondary metabolites, especially phenolic constituents⁵. The HF and BF were inactive against all bacterial strains tested. The MIC results demonstrated that the DF was active against *S. aureus* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 10536, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 and BF was inactive only against this last strain, with MIC values ranging from 1.25 to 5.0 mg/mL. In 2012, Silva et al. reported the antibacterial activity of *V. polyanthes* against 16 *S. aureus* and *E. coli* clinical isolates⁶. The present results agree with this previous study and add information about the antibacterial activity of *V. polyanthes* against two new bacterial strains.

CONCLUSION

These results showed that *V. polyanthes* could be a potential source for new antibacterial agents or prototypes. However, further investigations should be conducted to better understanding of use as a safe and effective medicine in the treatment of infectious diseases.

SPONSORS

UFJF, FAPEMIG, CAPES and CNPq.

BIBLIOGRAPHY

1. ALVES, V. F. G.; NEVES, L. J. Anatomia foliar de *Vernonia polyanthes* Less (Asteraceae). Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida, 22:1-8, 2003.
2. SOUSA, F. C. F.; MELO, C. T. V.; CITÓ, M. C. O, FÉLIX, F. H. C.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F; FILHO, J. M. B; VIANA, G. S. B. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benéficos nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. Revista Brasileira de Farmacognosia, 18:642-54, 2008.
3. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—11th ed., M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2009a.
4. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard-8th ed., M07-A8. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2009b.
5. EINBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X. D.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. Food Chemistry, 84:23-8, 2004.
6. SILVA, N. C. C.; BARBOSA, L.; SEITO, L. N.; FERNANDES, A. JR. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. Natural Product Research, 26:1510-4, 2012.



ANTIBACTERIAL POTENTIAL OF THE *Vernonia condensata* BAKER (ASTERACEAE)

Silva J. B.¹, Temponi V. S.¹, Matos D. M.⁴, Fernandes F. V.⁴, Rodrigues K. C. M.^{1,2}, Fabri R. L.¹, Ribeiro A.³, Scio E.^{2,3}, Sousa O. V.^{1,2}, **Alves M. S.**^{1,2}

1. Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, Brazil; silvana.alves@ufff.edu.br
2. Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil
3. Department of Biochemistry, Institute of Biological Sciences, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil
4. Undergraduate Course of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil

INTRODUCTION

Vernonia condensata Baker (Asteraceae), known as “necroton”, is popularly used as analgesic, antimicrobial and gastric protector¹. Moreover, a steroid glycoside, the Vernonioside B2, was isolated from extracts of *V. condensata*, which showed antinociceptive and anti-inflammatory activities². The present study aimed to investigate the antibacterial activity of the ethanol extract (EE) and fractions of hexane (HF), dichloromethane (DF), ethyl acetate (AF) and n-butanol (BF) obtained from *V. condensata* leaves.

METHODOLOGY

The antibacterial potential was evaluated by Antimicrobial Susceptibility Test (AST) through agar diffusion and by Minimum Inhibitory Concentration (MIC) using microdilution method, according the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)^{3,4} guidance. The representative reference bacterial strains *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 were used.

RESULTS AND DISCUSSION

The AST results revealed that DF was active against *S. aureus*, *E. coli* and *S. typhimurium* strains tested and inactive against *P. aeruginosa*. HF was active against *S. aureus* and *E. coli*. AF showed activity only against *S. aureus* among the four strains tested. The MIC results obtained with EE and fractions of *V. polyanthes* leaves contributed to report that the antibacterial activity was much expressive against *S. aureus* [EE (2.5 mg/ml), HF (1.25 mg/ml), DF (2.5 mg/ml) and AF (1.25 mg/ml)]. The antibacterial activity exhibited by EE and fractions could be attributed to the presence of several phytochemical constituents. DF presents classes of lignan, methoxylated flavonoids, sesquiterpenes, lactones, triterpenes and coumarins compounds. AF includes flavonoids, tannins, xanthenes, triterpene acids, saponins and phenolic substances in general⁵. FH contains terpenes and steroids. Different substances related to these classes have antimicrobial activity⁶.

CONCLUSION

These results showed that *V. condensata* could be a potential source for new antibacterial agents or prototypes. However, further studies should be conducted to better comprehension about the safe and the effectiveness of this specie as medicinal plant.

SPONSORS

UFJF, FAPEMIG, CAPES and CNPq.

BIBLIOGRAPHY

1. LOLIS, M. I. G. A.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Morfo-anatomia das folhas de *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae), o "figatil". *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13:68-71, 2003.
2. VALVERDE, A. L. Analgesic and antiinflammatory activities of vernonioside B2 from *Vernonia condensata*. *Phytotherapy Research*, 15:263-4, 2001.
3. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard - 11th ed., M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2009a.
4. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard-8th ed., M07-A8. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2009b.
5. CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Química Nova*, 21:99-105, 1998.
6. SHER, A. Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants. *Gomal Journal of Medical Science*, 7:72-8, 2009.



CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE FRACCIONES DE UN PROPOLEO DE SANTANDER FRENTE A *Enterococcus faecalis*

Laura Viviana Herrera Sandoval¹, Cindy Lorena Martínez Arévalo², Julio R. Pinzón³

1. Universidad Santo Tomás, Colombia

2. Universidad Industrial de Santander, Colombia

3. Facultad química ambiental Universidad Santo Tomás, Bucaramanga, Santander, Colombia

INTRODUCCIÓN

Los productos de origen natural representan una fuente importante de posibles compuestos bioactivos. Entre ellos el propóleo es una mezcla resinosa fabricada por las abejas (*Apis mellifera*) (1). La composición química de este producto varía según el origen geográfico, la vegetación regional y el clima y es la responsable de sus propiedades biológicas (2). Los usos terapéuticos incluyen: antimicrobiano, antiinflamatorio, antitumoral, antioxidante e inmunomodulador (3).

Estudios previos realizados por el grupo de investigación demostraron potencial actividad de extractos etanólicos de propóleo de la región de Santander frente a *E. faecalis* (4). La presente investigación tuvo como objetivo determinar la actividad *in vitro* de cuatro fracciones de un extracto de propóleo de Santander frente a *E. faecalis* y su caracterización química parcial.

METODOLOGÍA

El propóleo crudo fue recolectado en apiarios ubicados en Lebrija, Santander. Para la obtención del extracto etanólico (EE) se utilizó el método Soxhlet en muestras previamente desengrasadas con hexano. El extracto obtenido fue dividido en cuatro fracciones en orden creciente de polaridad utilizando HPLC semipreparativa con una columna C18 (9,6x250mm; 5 µm) y un gradiente lineal formado por metanol y solución de ácido fórmico al 2% en agua desde 20:80 hasta 100:0 en un tiempo de una hora.

La actividad antimicrobiana frente a la cepa de *E. faecalis* ATCC 29212 fue evaluada por el método de dilución en tubo acoplado al recuento de Unidades Formadoras de Colonia en placa. Los resultados fueron expresados en CI50 y CI90.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las fracciones obtenidas fueron analizadas por HPLC bajo las mismas condiciones de la separación para verificar su composición y determinar cambios durante el proceso de separación. Las fracciones tres y cuatro fueron las más activas frente a *E. faecalis* mostrando CI 50 entre 7,99 y 0,05 µg/mL respectivamente. Las fracciones uno y dos no mostraron efecto sobre el microorganismo de interés a las concentraciones evaluadas. La fracción cuatro mostró actividad hasta 100 veces mayor con respecto al extracto de propóleo santandereano completo. Estos hallazgos son concordantes con estudios previos sobre la actividad de fracciones de propóleo y la obtención de componentes activos a partir de estos productos.

CONCLUSIONES

Dos de las cuatro fracciones evaluadas mostraron actividad promisorio frente *E. faecalis*. Estudios adicionales para aislar componentes individuales y determinar su actividad están en curso.

FINANCIADORES

El presente estudio fue financiado por la Universidad Santo Tomás seccional Bucaramanga, a través de las convocatorias internas de apoyo a grupos de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Burdock, G.A., 1998. Review of the biological properties and toxicity of propolis. *Food and Chemical Toxicology* 36, 347–363.
2. Park, Y.K., Alencar, S.M., Aguiar, C.L., 2007. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of Agricultural and Chemistry* 50, 2502–2506.
3. Sforcina, J., Bankovab, V., 2011. Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology* 133 , 253–260.
4. Herrera, L., Neira, L., Pinzon, J., Herrera, A., Psciotti, M., et al. 2012. Efecto antimicrobiano y citotóxico de extractos de propoleo de Santander obtenidos por diferentes métodos frente a *Enterococcus faecalis*. *Hechos Microbiológicos* 2 (1);61.



LOS EXTRACTOS DE ALCALOIDES DE RAÍZ DE *Berberis darwinii* HOOKE, INHIBEN RESPUESTAS DEFENSIVAS EN MACRÓFAGOS MURINOS

Marco Paredes H.¹, Juan Gatica R.², Daniela Martínez V.², Ramiro Díaz H.³, Katerina González A.³

1. Laboratorio de Investigación en Biotecnología Animal, Universidad de La Frontera, Temuco Chile
2. Escuela de Tecnología Médica, Universidad Santo Tomás, Temuco, Chile
3. Escuela de Acuicultura, Universidad Católica de Temuco, Chile

INTRODUCCIÓN

Berberis darwinii Hook, es una especie vegetal perteneciente a la familia Berberidaceae que habita el sur de Chile y zonas cordilleranas de la Patagonia Argentina (Landrum, 1999). *B. darwinii*, ha sido utilizada por la etnia mapuche para el tratamiento de estados febriles, procesos inflamatorios, dolores estomacales, indigestiones y colitis (Muñoz et al., 2001). Estas propiedades medicinales podrían estar asociadas a la presencia de compuestos bioactivos pobremente estudiados. Algunos estudios realizados con especies de *Berberis* nativas de Chile, han demostrado que sus alcaloides poseen efectos hipotensivos (Martínez et al., 1997). Sin embargo, no se ha investigado las propiedades inmunomoduladoras de *B. darwinii*. De este modo, el propósito de este trabajo fue evaluar *in vitro* las propiedades de alcaloides extraídos de *B. darwinii*, sobre la producción de anión superóxido, actividad fagocítica, expresión de interleuquina 1 beta (IL1-β) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se aislaron alcaloides a partir de raíces secas y pulverizadas mediante reacción de interconversión entre la sal y la base libre del alcaloide soluble en disolventes orgánicos no polares según metodología de Marek et al., (2003). Se utilizaron concentraciones de 1, 10, y 100 ug/mL para evaluar la producción de anión superóxido, actividad fagocítica, expresión IL1-β y TNF-α, en macrófagos esplénicos de rata. Estas células se aislaron mediante un gradiente de Percoll discontinuo y se utilizaron a 1×10^7 cel/mL para estos experimentos. El anión superóxido se determinó por reducción de nitroblue tetrazolium (NBT) y la actividad fagocítica por conteo directo de fagocitosis en presencia de levaduras teñidas. Se utilizó lipopolisacárido bacteriano (LPS) para activar respuestas defensivas en los macrófagos tratados *in vitro*. La expresión transcripcional de interleuquinas se realizó mediante RT-PCR en tiempo Real cuantitativo mediante el método de comparación de Ct (Livak y Schmittgen, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Los datos indican que el extracto de alcaloides no es tóxico para células esplénicas de rata en concentraciones menores a 10 ug/mL. Los extractos inhibieron la actividad fagocítica y producción de anión superóxido en macrófagos esplénicos. De forma similar, la expresión transcripcional de IL1-β y TNF-α disminuyó en similares condiciones experimentales.

CONCLUSIONES

Estos resultados indican que en la fracción de alcaloides totales de *B. darwinii*, existen principios activos que inhiben mecanismos defensivos celulares y posiblemente también vías de transducción de señales que modulan expresión de genes comprometidos en respuestas inmunológicas. Se espera en el futuro caracterizar estos principios activos y evaluar una posible aplicación farmacológica.

FINANCIAMIENTO

Se agradece al departamento de Ciencias Básicas de La Universidad de La Frontera por el apoyo constante al desarrollo de esta línea de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Landrum L. 1999. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 86(4): 793-834.
 Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. 2001. Editorial Universitaria. 330.
 Martínez J, Torres R, Morales M. 1997. *Phytotherapy Research* 11: 246-248.
 Marek R, Seckárová P, Hulová D, Marek J, Dostál J, Sklenár V. 2003. *J. Nat. Prod.* 66: 481-486.
 Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. *Methods*.(4): 402-8.



EFFECTO GENOPROTECTOR DEL BETA-CARIOFILENO CONTRA EL DAÑO PRODUCIDO POR BENZO(A)PIRENO EN RATÓN

Castro-García S. Z., Álvarez-González I., Madrigal-Bujaidar E.

Laboratorio de Genética, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Wilfrido Massieu s/n, Zacatenco, Gustavo A Madero, CP 07738, México D.F.

INTRODUCCIÓN

El beta-cariofileno (BC) es un sesquiterpeno presente de manera natural en el aceite esencial de numerosas plantas y especias. Existen muy pocos estudios acerca de sus actividades biomédicas y estas incluyen propiedades genoprotectoras en ensayos *in vitro*. Por ello es importante establecer su genoprotección en un estudio *in vivo*, evaluando si el mecanismo involucrado en tal efecto está relacionado con su capacidad antioxidante, y/o con la inducción de la glutatión-S-transferasa (GST).

METODOLOGÍA

El presente estudio se realizó en ratones adultos, machos, Swis webster. Se utilizaron 6 ratones por grupo. El testigo negativo se administró con aceite de maíz, el testigo positivo se administró con benzo(a)pireno (B(a)P 200mg/kg) vía oral; tres grupos se trataron con BC (20, 200, 2000mg/kg respectivamente) y otros tres grupos con BC (20, 200 y 2000 mg/kg) más B(a)P (200mg/kg). Los animales se sacrificaron a las 24 hrs y a cada organismo se le extrajo el hígado y la médula ósea para evaluar la peroxidación de lípidos (LP), la oxidación de proteínas (Pox) la frecuencia de intercambio de cromátides hermanas (ICH) y la actividad de la GST.

RESULTADOS

Los resultados mostraron que el B(a)P incrementó al doble la LP, un 70% la Pox y 3 veces los ICH con respecto al testigo negativo. En los 3 grupos tratados con BC los valores de LP e ICH fueron semejantes a los del testigo negativo y la Pox se elevó ligeramente con las dosis más altas. En los grupos tratados con BC más B(a)P, la LP disminuyó hasta un 74%, la Pox un 40% y los ICH disminuyeron hasta 86% comparando con el testigo positivo. La actividad de la GST se incrementó de manera similar en el grupo testigo positivo y los tratados con BC y BC (20 y 200 mg/kg) más B(a)P. El mayor incremento se observó con 2000 mg/kg de BC más B(a)P.

DISCUSIÓN

Se confirmó la capacidad genotóxica y oxidante del B(a)P. El BC *per se* no fue genotóxico y ni oxidante en las tres dosis probadas. El BC mostró actividad genoprotectora al reducir de forma dosis-dependiente, (hasta un 86%) el número de ICH que produjo el B(a)P. El BC mostró actividad antioxidante ya que disminuyó la LP hasta un 74% y la Pox un 40% cuando se administró con B(a)P. El BC indujo la actividad de la enzima GST en las tres dosis probadas, al igual que cuando se administró con B(a)P observando una mayor inducción en la dosis más alta.

CONCLUSIONES

Los resultados demostraron que el BC tiene actividad genoprotectora y sugieren que dicho efecto podría explicarse con su potencial antioxidante y con la inducción de la GST.

BIBLIOGRAFÍA

1. Di Sotto A, Evandri M.G. (2008) Antimutagenic and mutagenic activities of some terpenes in the bacterial reverse mutation assay. *Mutat.Res.* 653: 130–133.
2. Di Soto, A., Evandri, M., Mazzanti, G., Carbone, F., Hrelia, P., Maffei F. (2010) Inhibition by -caryophyllene of methanesulfonate-induced clastogenicity in cultured human lymphocytes. *Mutat.Res.* 699: 23-28.



ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS EXTRACTOS DE HOJA DE *Cordia alliodora* (BORAGINACEAE), CHIRIQUÍ, PANAMÁ

Betzabeth Henríquez¹, Viviana Morales²

1. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad Autónoma de Chiriquí. David, Chiriquí, Panamá; betzyk03@gmail.com
2. Centro de Investigación de Productos Naturales y Biotecnología (CIPNABIOT), Departamento de Química, Universidad Autónoma de Chiriquí. David, Chiriquí, Panamá

INTRODUCCIÓN

Las plantas son una fuente de nuevos medicamentos. De 300 000 especies de plantas identificadas en el mundo, únicamente al 15 % se le han hecho estudios fitoquímicos y sólo el 6 % se ha estudiado farmacológicamente (Cragg & Newman 2010). La familia Boraginaceae es una de las principales familias de plantas en Panamá, es considerada una de las más importantes en la producción de metabolitos activos (Caballero & Gupta 2011). Dentro de la familia Boraginaceae se encuentra la especie *Cordia alliodora* a la cual se le realizó un estudio fitoquímico de la raíz encontrando metabolitos secundarios con actividad biológica (Caballero & Gupta 2011). El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad biológica de *C. alliodora*.

METODOLOGÍA

Se hicieron extractos de hoja de *Cordia alliodora* en metanol al 70 % para conocer la composición química. Se determinó la actividad biológica del extracto mediante el uso de las técnicas de difusión en disco y microdilución en caldo sobre siete bacterias.

RESULTADOS

Se obtuvieron resultados positivos en ambas pruebas sobre la bacteria Gram⁺ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Pero fue inactivo con otras bacterias Gram⁺ y Gram⁻.

DISCUSIÓN/CONCLUSIÓN

Según Holetz (2002) la concentración que inhibe el crecimiento de *E. faecalis* es débil. Esto puede deberse a que se trabajó con el extracto crudo y no con las fracciones de este. El resultado positivo es importante debido a que *E. faecalis* es una bacteriana nosocomial de baja virulencia, pero que se ha vuelto resistente a algunos antibióticos.

FINANCIADORES

Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT), Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI), Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD), Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL).

BIBLIOGRAFÍA

1. Caballero, G.C. & M.P. Gupta. 2011. A quarter century of pharmacognostic research on Panamanian flora: a review. *Planta Med.* 77:1189-1202.
2. Cragg, G.M. & D.J. Newman. 2010. Nature as source of medicines; novel drugs from nature; screening for antitumor activity. *Elsevier.* 3:135-175.
3. Holetz, P.G., N. Sánchez, D. Cortez, C. Nakamura, B. Filho. 2002. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* Vol: 97: 1027-1031.



ATENUACIÓN DE LA HEPATITIS TOXICA INDUCIDA POR TETRACLORURO DE CARBONO EN RATONES, POR TRATAMIENTO ORAL CON *Aloysia polystachya* (GRISEB.) MOLDENKE (BURRITO)

Derlis Ibarrola¹, Zulma Mallorquín¹, Carmen V. Ozuna S¹, María del Carmen Hellión-Ibarrola¹, Susy Figueredo²

1. Departamento de Farmacología - Facultad de Ciencias Químicas- UNA; dibarrol@qui.una.py

2. Departamento de Patología - Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud - UNA

INTRODUCCIÓN

El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de la administración oral de diferentes dosis del extracto bruto hidro-alcohólico de *A. polystachya* (EB-Ap) contra la hepatitis tóxica inducida con tetracloruro de carbono (CCl₄) en ratones.

METODOLOGÍA

Se emplea el método experimental de inducción de hepatitis aguda por CCl₄ disuelto al 1% en aceite de maíz. Grupos de 5 animales fueron pre-tratados por vía oral con dosis diarias de agua, vehículo (0,1mL/10g de peso corporal), 1,0; 10,0 y 100,0 mg/Kg del EB-Ap durante 4 días respectivamente. Al quinto día se administro CCl₄ 1% a los grupos pre-tratados y al control positivo de CCl₄.

RESULTADOS

El pre-tratamiento con EB-Ap (1,0; 10,0 y 100 mg/kg p.o.) durante 4 días indujo una reducción importante del nivel de las transaminasas ALT (** $P < 0.01$ y *** $P < 0.001$) y AST (***) $P < 0.001$) (U/L) en comparación con el grupo control de CCl₄. Además, los niveles de proteínas totales y albumina siguen el perfil de disfunción hepática inducida, mientras que la fosfatasa alcalina (ALP) y gamma glutamil transpeptidasa (GGT) de los grupos tratados con el extracto EB-Ap no tuvieron diferencias significativas al ser comparados con el grupo control CCl₄.

CONCLUSIONES

El EB-Ap posee un efecto hepatoprotector, porque los niveles de AST y ALT (U/L) en los grupos pre-tratados con dosis de del EB-Ap son significativamente menores en relación al grupo con hepatitis toxica aguda. Por tanto el extracto bruto de *A. polystachya* tiene algún(os) componente(s) con capacidad de proteger contra la hepatitis tóxica inducida por tetracloruro de carbono. Trabajos complementarios están siendo ejecutados para dilucidar el posible mecanismo de la protección y la naturaleza química de los componentes del extracto bruto de *A. polystachya* responsable de dicho efecto.

PALABRAS CLAVES

Aloysia polystachya, hepatitis tóxica, Tetracloruro de Carbono, Transaminasas Glutámica y Pirúvica, Hepatoproteccion.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DE *Dillenia indica* L.

Andréa Bezerra da Nóbrega^{1,2}, Bruno da Mota Lessa², Juliana Bezerra dos Santos³, Ana Lúcia Tasca Gois Ruiz⁴, João Ernesto Carvalho⁴, Levino Menezes⁵, Isabel Palmer Paixão⁵, Selma Ribeiro de Paiva^{1,6}, Glaucia B. C. Alves Slana^{3,7}

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde, UFF, Niterói
2. Farmanguinhos, Fiocruz, Rio de Janeiro
3. Programa de Produtos Bioativos e Biociência, UFRJ, Macaé
4. Laboratório de Farmacologia e Toxicologia, CPQBA-UNICAMP, Campinas
5. Laboratório de Virologia Molecular do Departamento de Biologia Celular e Molecular, Instituto de Biologia, UFF, Niterói
6. Departamento de Biologia Geral, Instituto de Biologia, UFF, Niterói
7. Instituto Nacional de Propriedade Industrial, INPI, Rio de Janeiro

INTRODUÇÃO

Dillenia indica Linn. (Dilleniaceae) é amplamente usada como alimento e na medicina popular, particularmente em Bangladesh e na Índia^[1]. Sumos de folhas, casca e frutos de *D. indica* são usados no tratamento de câncer e diarreia^[2]. O extrato metanólico dos frutos desta planta apresentaram efeito antileucêmico em linhagens U937, HL60 e K562^[3]. Extratos obtidos dos frutos com metanol, acetato de etila e água indicaram a existência de atividade antioxidante^[1] enquanto extratos alcoólicos dos frutos apresentaram atividade depressora no SNC^[4]. O extrato metanólico das folhas da apresentaram atividade antiinflamatória^[5].

Estudos fitoquímicos anteriores com *D. indica* revelaram a ocorrência de triterpenos e esteroides^[6], como o lupeol, betulinaldeído, ácido betulínico e estigmasterol. A atividade antioxidante dos extratos metanólicos dos frutos de *D. indica* pode ser devida à substâncias como flavonoides (isoflavonas, flavonas, antocianinas e catequina) e outros fenólicos^[6].

O presente trabalho visou avaliar a atividade citotóxica e antitumoral frente à linhagem OVCAR-3 de frações terpenoídicas e flavonoídicas de *Dillenia indica*, bem como verificar a ação isolada e conjunta de um terpeno isolado desta planta, o ácido betulínico.

METODOLOGIA

Cascas e polpas de frutos verdes e maduros de *D. indica* foram extraídos com metanol por maceração estática durante 72 horas com renovação de solvente a cada 24 horas. Frações foram obtidas a partir do fracionamento por cromatografia em coluna com gel de sílica. Foram selecionadas, para avaliação da atividade antitumoral, duas frações, uma rica em flavonoides e outra rica em terpenoides, e uma substância isolada o ácido betulínico. Foram utilizadas: linhagem de câncer de ovário (OVCAR-3) e células sadias (VERO), utilizando vincristina como controle. Os ensaios citotóxicos foram realizados *in vitro* com os ensaios colorimétrico (MTT) e sulforrodamina B (SRB).

A análise quantitativa dos extratos foi realizada por uma metodologia validada de CG-FID.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram atividade antitumoral para as frações na linhagem OVCAR-3. A viabilidade das células demonstrou que a citotoxicidade do ácido betulínico (CC50: 58 μ g / mL) e da fração rica em triterpenos (CC50: 50 μ g / mL) são maiores do que quando combinado com a fração rica em flavonoides (CC50: 120 μ g / mL). Os resultados sugerem que as substâncias responsáveis pela atividade estão presentes na fração de triterpenos (IC50: 2,1 μ g / mL), destacando a atividade do ácido betulínico isolado (IC50: 2,5 μ g / mL). Um efeito sinérgico é observado quando se mistura a fração de flavonoides e a fração de triterpenos. Obteve-se um bom resultado da mistura de frações flavonoídicas com triterpênicas (IC50: 1,4 μ g / mL) comparado com o controle vincristina (IC50: < 0,25 μ g / mL).

CONCLUSÃO

O presente estudo indicou que os triterpenos e os flavonóides apresentam uma atividade sinérgica na linhagem OVCAR-3, demonstrando assim que os frutos da *D. indica* L. podem ser um potencial antitumoral para câncer de ovário.

PATROCINADORES

Este trabalho foi apoiado pela Fundação Oswaldo Cruz – Farmanguinhos e Capes.

BIBLIOGRAFIA

1. Abdille Md.H et al. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. Food Chem. 2005, 90: 891-896.
2. Sharma HK et al. Traditional medicinal plants in Mizoram. Fitoterapia 2001, 72: 146-161.
3. Kumar D et al. Anti-leukemic activity of *Dillenia indica* L. fruit extract and quantification of betulinic acid by HPLC. Phytomedicine 2010, 17: 431-435.
4. Bhakuni DS et al. Screening of Indian plants for biological activity part II. Ind J. Exp. Biol. 1969, 7: 250-262.
5. Yeshwante SB et al. Anti-inflammatory activity of methanolic extracts of *Dillenia indica* L. leaves. Pharmacology 2009, 1: 63-66.
6. Parvin MN et al. Chemical and biological investigations of *Dillenia indica* Linn. J Pharmacol. 2009; 4: 122-125.



PHARMACOGNOSTIC CHARACTERIZATION AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *Talinum triangulare* (JACQ.) WILLD (PORTULACACEAE)

Beatriz G. Brasileiro¹, Joseane B. Barbosa², Marília C. Ventrella², Claudia M. Jamal³,
Virgínia R. Pizziolo⁴, Rikeller Ronchi³

1. Federal Institute of Southeast of Minas Gerais –Avenida Monteiro de Castro, 550-Bairro Barra 36880-000 - Muriaé-MG, Brazil; beatriz.brasileiro@ifsudestemg.edu.br
2. Department of Vegetal Biology, Federal University of Viçosa, Avenue Peter Henry Rolfs, s/n, 3657000-Viçosa-MG, Brazil; ventrella@ufv.br
3. Department of Farmaceutical Science, Federal University of Espírito Santo, Vitória, ES, Brazil; cmjama@gmail.com
4. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Viçosa, Avenue Peter Henry Rolfs, s/n, 3657000-Viçosa-MG, Brazil; virginia.pizziolo@ufv.br

INTRODUÇÃO

Talinum triangulare (Jacq.) Willd (Portulacaceae) is a fleshy green leaves herb, which has a succulent stem and pink flowers and is known in Brazil as “beldroega-graúda”, “major-gomes”, “maria-gorda”, “erva-gorda” and by other common names. The whole plant is used to treat a variety of diseases, including hepatic ailments diuretic and gastrointestinal disorders, measles and diabetes, as a laxative and healing (Liang et al., 2011). Plant annual cycle, found in tropical environments, is well adapted to the hot and humid climate, and low soil fertility. The aim of this study was to determine the cytotoxic activity, to screen and evaluate pharmacognostic and mineral composition of *T. triangulare*, contributing to the knowledge, identification and quality control of this species.

MATERIAL AND METHODS

Samples of *T. triangulare* were obtained from plants propagated by seed and grown in a greenhouse at the Crop Science's Department, from Viçosa's Federal University, MG, Brazil. Mature leaves and stem fragments were fixed, sectioned and stained following standard techniques in plant anatomy. The mineral composition was made using dried leaves, ground and analyzed for determining the levels of macro and micronutrients. The plant material was dried, pulverized and extracted by maceration in 95% ethanol as solvent. The extract was subjected to pharmacognostics classical tests (Costa, 1986, Wagner, 1984) to detect classes of metabolites present, as well as the assessment of cytotoxicity using as a model the mortality of larvae of *Artemia salina*, according to Meyer's method (1982).

RESULTS AND DISCUSSION

The leaf is amphistomatic and has an uniseriate epidermis and a thin cuticle. The mesophyll tends to dorsiventral and the midrib is covered by a collateral vascular bundle without supporting tissues. In the apical portion of the stem structure has an eustelica beams and side delimiting the spinal and cortical region. The subepidermal portion is characterized by a layer of angular collenchyma. The mineral composition revealed that the primary macronutrient found was nitrogen then potassium and magnesium and that the leaves are rich in iron. It was detected a higher levels of alkaloids, flavonoids, coumarins, terpenes and steroids. The ethanol extract was not considered toxic to the larvae of *A. salina*, with LD50 > 1000 ppm.

CONCLUSIONS

The ethanol extract tested demonstrated an absence of cytotoxic activity, which proves the safety of using this specie in popular therapy. These results contribute to the determination of parameters for assessing quality of *T. triangulare*, due to its medicinal and show its potential as an alternative food therapy or as a nutritional supplement.

FINANCIAL SUPPORT

CNPq – FAPEMIG

BIBLIOGRAPHY

1. COSTA, A. F. Farmacognosia. Lisboa: Fundação Calouste Grilbenkian, 1986.
2. LIANG, D.; ZHOU, Q.; GONG, W.; WANG, Y. ; NIE, Z.; HE, H.; LI, J.; WU, J.; WU, C.; ZHANG, J. Studies on the antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Talinum triangulare*. Journal of ethnopharmacology, v.136, p.316-321, 2011.
3. MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAN, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Planta Medica, v. 45, p. 31-34, 1982.
4. WAGNER, H. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Berlin: Springer. 1984.



EVALUACIÓN COMPARATIVA ENTRE DOS MODELOS ANIMALES DE ESTRÉS CRÓNICO COMO INDUCTORES DE ANSIEDAD UTILIZANDO UN EXTRACTO ESTANDARIZADO DE *Hypericum perforatum*

Calvo M. F.

Facultad de Farmacia, UCR

Los trastornos de ansiedad en general se pueden nombrar entre los estados psiquiátricos más comunes que aquejan a las poblaciones actuales. La planta conocida como Hierba de San Juan, o por su nombre científico *Hypericum perforatum*, ha sido estudiada por sus propiedades antidepresivas y ansiolíticas (Greeson, Sanford, Monti, 2001; Sarris, Kavanagh, 2009; Kumar, Garg, Prakash, 2010; Gupta, Möller, 2003). En el presente estudio se compararon dos modelos animales de estrés crónico como inductores de ansiedad, por medio del instrumento de campo abierto y utilizando *Hypericum perforatum* y Diazepam con el fin de comparar el comportamiento de ambos medicamentos en cada modelo, y estudiando así sus similitudes y diferencias.

El método consistió en utilizar ratas macho de la cepa Sprague Dawley con un peso entre 200-220 gramos. Los dos modelos animales desarrollados fueron el de modelo de estrés crónico liviano impredecible descrito por Willner et al (1997) y Katz et al (1981) con ciertas modificaciones y el de inmovilización física impredecible descrito por Quirce (2012). Luego de la inducción de estrés, se administró vía oral un extracto estandarizado con 0,3% de hipericina y fue comparado contra un grupo control positivo de Diazepam y un grupo control negativo al que se administró solución salina. Se midió la ansiedad del animal por un período de 2 semanas utilizando el instrumento de campo abierto.

Después de realizados los análisis estadísticos respectivos, se determinó para cada modelo tanto la inducción de ansiedad como la capacidad de los medicamentos administrados para revertirla. En el modelo de estrés crónico liviano impredecible, se comprobó que la ansiedad inducida se mantiene en el tiempo y se encuentra diferencia estadísticamente significativa entre la Hierba de San Juan y su control al paso de diez días, lo cual sucedió de igual manera con el Diazepam y su control. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el extracto y el control positivo de Diazepam.

Para el caso del modelo de inmovilización física impredecible, se encontró diferencia estadísticamente significativa de la Hierba de San Juan con su control al paso de 14 días y de igual manera que en el modelo anterior, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el extracto y el control positivo de Diazepam.

Al poner a prueba el extracto de la planta con dos modelos animales diferentes, se asegura que su mecanismo de acción es amplio y se comprueba su actividad al compararla con el control positivo de Diazepam. A la vez, se comprueba que la capacidad ansiolítica de la Hierba de San Juan es efectiva posterior a un consumo a largo de plazo del medicamento.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos modelos como inductores de ansiedad a largo plazo, así como no se encuentra diferencia entre los medicamentos. Se puede afirmar así que en investigaciones donde se busque evaluar efectos ansiolíticos de medicamentos, puede existir intercambiabilidad entre las metodologías descritas en el presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Greeson JM., Sanford B., Monti DA. (2001) St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology*, 153: 402-414.
2. Gupta RK., Möller HJ. (2003) St. John's Wort. An option for the primary care treatment of depressive patients? *European Archives of Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 253: 140-148.
3. Katz R.J., Roth K.A., Carroll B.J. (1981) Acute and Chronic Stress Effects on Open Field Activity in the Rat: Implications for a Model of Depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 5, 247-251.
4. Kumar A., Garg R., Prakash Ak. (2010) Effect of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) treatment on restraint stress-induced behavioral and biochemical alteration in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(18): 1-6.
5. Quirce C.M. (2012) Los dolores idiopáticos y los horarios de lo impredecible: modelo animal. *Reflexiones*, ISSN: 1021-1209, 173-179.
6. Sarris J., Kavanagh DJ. (2009). Kava and St. John's Wort: Current Evidence for Use in Mood and Anxiety Disorders. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 15(8): 827-836.
7. Willner P. (1997) Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology*, 134, 319-29.



EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE LOS EXTRACTOS DE *Marsdenia rubrofusca* (APOCYNACEAE), ESPECIE RECOLECTADA EN LOS LLANOS ORIENTALES COLOMBIANOS

Nathalia Rocío Henao-Orozco¹, Pilar Meléndez¹, Ivonne Alejandra González²,
María Constanza Lozano¹, **Juan Camilo Marín-Loaiza**³

1. Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia-Bogotá, Colombia

2. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). Universidad Nacional de Colombia-Bogotá, Colombia

3. GRUPO GIFFUN. Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá; jcmarinlo@unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

Se estima que en el mundo existen alrededor de 350.000 especies vegetales, de las cuales unas 35.000 se encuentran en Colombia. Aproximadamente 5.000 han sido empleadas en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas dolencias, lo que conlleva a que el país posea un amplio potencial de estudio para la búsqueda de nuevos principios activos a partir de plantas.

Teniendo en consideración el gran número de especies vegetales que aún no han sido investigadas dentro del territorio Colombiano, se decidió estudiar la actividad biológica de *Marsdenia rubrofusca* (Apocynaceae), recolectada en la región de los llanos orientales colombianos, ya que carece de reportes químicos, farmacológicos y toxicológicos. En este trabajo se evaluó la actividad antioxidante, el contenido de fenoles, flavonoides totales y la actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos de esta especie.

METODOLOGÍA

Las muestras de *Marsdenia rubrofusca* fueron recolectadas en los departamentos Casanare y Meta. Se hicieron extractos del material vegetal empleando como solventes hexano, acetato de etilo y etanol. La actividad antioxidante se determinó mediante la decoloración de los radicales DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidracil) y ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácidosulfónico). Adicionalmente, se estableció el contenido de fenoles y de flavonoides totales por métodos espectrofotométricos, Folin-Ciocalteu y tricloruro de aluminio, respectivamente. La actividad antimicrobiana se evaluó por el método de difusión en agar contra bacterias Gram positivas y negativas, la levadura *Candida albicans* y el hongo fitopatógeno *Aspergillus fumigatus*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el ensayo de DPPH, el extracto etanólico de *M. rubrofusca* ($1501,69 \pm 79,54$ mmol trolox/g extracto) superó el valor mostrado por el control BHT ($608,84 \pm 33,05$ mmol trolox/g BHT). De igual manera, el extracto de etanol fue el que mejor capacidad captadora del radical ABTS presentó ($34,40 \pm 1,52$ mmol trolox/g), así como el mayor valor para el contenido de fenoles totales ($178,65 \pm 5,95$ mg ácido caféico/g extracto). El contenido de flavonoides fue mayor en los extractos de acetato de etilo y etanol ($78,20 \pm 2,56$ y $44,61 \pm 6,00$ equivalentes de quercetina (mg)/g de extracto, respectivamente), lo cual se evidencia en la cromatografía en capa delgada. El extracto etanólico presentó inhibición del crecimiento contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Streptococcus mutans*. No se observó actividad inhibitoria del crecimiento contra *C. albicans* y *A. fumigatus*.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en la presente investigación aportan información novedosa sobre la composición química y las actividades biológicas de esta especie vegetal, demostrando el potencial de los llanos orientales colombianos como una región que debe ser tomada en cuenta al momento de realizar estudios de bioprospección. Asimismo, el extracto etanólico de esta especie puede ser considerado como una fuente potencial de compuestos con actividad anti-microbiana y antioxidante.

BIBLIOGRAFÍA

Pava J, Lozano M, Marín J. Análisis cualitativo fitoquímico preliminar de algunas plantas tóxicas para el ganado bovino en los departamentos del Casanare y Meta en Colombia. Universidad Nacional de Colombia - Sede Bogotá; 2010. p. 47.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 1999;299:152–78.



ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO ALCOÓLICO DAS FOLHAS DE *Salvia officinalis* L. FRENTE À *Streptococcus mutans* E *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*

Tatiane Vieira Braga¹, Rosana Gonçalves Rodrigues das Dores², Sarah Ferreira Guimarães², Ludmila Aparecida Silva¹, Thiago Soares Silva¹

1. Faculdade Pitágoras de Belo Horizonte, MG.

2. Universidade Federal de Ouro Preto, UFOP, MG, Brasil; tativr@yahoo.com.br

A espécie *Salvia officinalis* L., originária do mediterrâneo e aclimatada, principalmente, na região sul do Brasil, é conhecida por suas propriedades antisséptica, cicatrizante, bactericida e antioxidante. Foram identificados os constituintes químicos ácido rosmarínico, ácido caféico, ácido clorogênico, flavonóides e óleos essenciais (1,8-cineol, tuonas, cânfora e monoterpenos). *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus oralis* estão envolvidos na formação da cárie dentária. O processo envolve aderência das bactérias, formação de biofilme e desmineralização do esmalte dentário pelos ácidos produzidos pelos microrganismos. O presente estudo avaliou a atividade antibacteriana do extrato alcoólico das folhas de *Salvia officinalis* L. frente à *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus oralis* pelo método de difusão em ágar com disco. A coleta foi realizada no Bairro Antônio Dias, Ouro Preto, MG (20°23'14,39"S, 43°29'55,76"O). Fez-se a identificação taxonômica da espécie e exsiccata foi depositada no Herbário Professor José Badini OUPR, sob o número 8377. O extrato foi preparado com 365,0 g de folhas por remaceração em etanol PA até o esgotamento e seco em banho-maria a 38 ± 2°C até resíduo xaroposo. O rendimento do processo de extração foi de 21,7%. O teste antibacteriano foi realizado em ágar Mueller-Hinton inoculado com cepas *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus mitis* (ATCC 49456) e *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), partindo da suspensão direta das colônias (escala 0,5 de McFarland). Discos de papel de filtro impregnados com 10 µL do extrato etanólico 50 mg/mL foram avaliados em triplicata. O controle positivo foi Cloranfenicol 30 µg e o controle negativo etanol. Após a incubação das placas em estufa a 36°C por 19 horas, mensurou-se o halo de inibição ao redor dos discos. Na avaliação da atividade antibacteriana o halo de inibição ao redor dos discos testes foi 8,7 mm ± 0,58 para *S. mutans*, 8,3 mm ± 0,58 para *S. mitis* e 7,0 mm ± 0,01 para *S. oralis*. Na avaliação da atividade antibacteriana são considerados ativos os extratos que exibem halo de inibição maior ou igual a 7,0 mm. Considerando o halo formado frente às espécies avaliadas, o extrato testado pode ser um excelente coadjuvante na higiene bucal, visando impedir a formação de cáries dentárias. É necessária a avaliação da concentração inibitória mínima (CIM), para desenvolvimento de uma formulação teste. O extrato avaliado possui atividade antimicrobiana frente à *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus oralis*.

AGRADECIMENTOS

Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Fapemig e CNPQ.



ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO ALCOÓLICO DAS FLORES DE *Ageratum conyzoides* L FRENTE À *Streptococcus mutans* E *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*

Tatiane Vieira Braga¹, Rosana Gonçalves Rodrigues das Dores², Leticia Márcia da Silva Tinoco¹, Sarah Ferreira Guimarães², Cristina Amaral Calixto¹

1. Faculdade Pitágoras de Belo Horizonte, MG; tativr@yahoo.com.br

2. Universidade Federal de Ouro Preto, UFOP, MG, Brasil

Ageratum conyzoides L. conhecida como mentrasto, família Asteraceae, é empregada popularmente como anti-diarréica, antiespasmódica, carminativa, febrífuga e anti-reumática. Na espécie já foram identificados óleos essenciais, cumarinas, alcalóides e flavonóides. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus oralis* estão envolvidos na formação da cárie dentária. O processo envolve aderência das bactérias, formação de biofilme e desmineralização do esmalte dentário pelos ácidos produzidos pelos microrganismos. O presente estudo avaliou a atividade antibacteriana do extrato alcoólico das flores de *Ageratum conyzoides* L. frente à *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus oralis* pelo método de difusão em ágar com disco. A coleta foi realizada na Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG, latitude sul 20°23'28", longitude oeste 43°30'20". Fez-se a identificação taxonômica da espécie e exsicata foi depositada no Herbário Professor José Badini OUPR, sob o número 25894. O extrato (EFL) foi preparado com 20,30 g de flores em 300 mL de etanol PA e seco em evaporador rotatório. O teste antibacteriano foi realizado em ágar Mueller-Hinton inoculado com cepas *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus mitis* (ATCC 49456) e *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), partindo da suspensão direta das colônias (escala 0,5 de McFarland). Discos de papel de filtro impregnados com 10 µL do extrato etanólico 50 mg/mL foram avaliados em triplicata. O controle positivo foi Cloranfenicol 30 µg e o controle negativo etanol. Após a incubação das placas em estufa a 36°C por 19 horas, mensurou-se o halo de inibição ao redor dos discos. Na avaliação da atividade antibacteriana o halo de inibição ao redor dos discos testes foi de 8,8 mm ± 0,76 para *S. mutans* e de 7,3 mm ± 0,57 para *S. mitis*. Não houve formação de halo de inibição frente a *S. oralis*. Na avaliação da atividade antibacteriana são considerados ativos os extratos que exibem halo de inibição maior ou igual a 7,0 mm. Considerando o halo formado frente às espécies *S. mutans* e *S. mitis*, o extrato testado pode ser um excelente coadjuvante na higiene bucal, visando impedir a formação de cáries dentárias. O extrato avaliado possui atividade antimicrobiana frente à *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e não possui atividade frente à *Streptococcus oralis*.

AGRADECIMENTOS

Fundação Osvaldo Cruz (FIOCRUZ), Fapemig e CNPQ.



ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Coronopus didymus* L. FRENTE À *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* E *Streptococcus oralis*

Tatiane Vieira Braga¹, Rosana Gonçalves Rodrigues das Dores², Thaís de Araujo Pacheco Carvalho¹, Kissyla Christine Duarte Lacerda²

1. Faculdade Pitágoras de Belo Horizonte, MG; tativr@yahoo.com.br

2. Universidade Federal de Ouro Preto, UFOP, MG, Brasil

Coronopus didymus L., nativa da América do Sul, é popularmente conhecida como mastruço, menstruz-rasteiro, mastruz-miúdo, mastruço dos índios, erva de santa Maria, erva vomiqueira ou erva formigueira. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus oralis* estão envolvidos na formação da cárie dentária. O processo envolve aderência das bactérias, formação de biofilme e desmineralização do esmalte dentário pelos ácidos produzidos pelos microrganismos. O presente estudo avaliou a atividade antibacteriana do extrato etanólico das folhas de *Coronopus didymus* L. pelo método de difusão em ágar com disco. A coleta foi realizada na área rural da cidade de Ouro Preto, Minas Gerais (20°18'S; 43°43'O, altitude: 950m) e exsicata depositada no Herbário José Badini sob número OUPR 26754. O extrato etanólico, preparado por maceração e seco em banho-maria a 40°C, teve rendimento de 0,35%. O teste antibacteriano foi realizado em ágar Mueller-Hinton inoculado com cepas *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus mitis* (ATCC 49456) e *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), partindo da suspensão direta das colônias (escala 0,5 de McFarland). Discos de papel de filtro impregnados com 10 µL do extrato etanólico 50 mg/mL foram avaliados em triplicata. O controle positivo foi Cloranfenicol 30 µg e o controle negativo etanol. Após a incubação das placas em estufa a 36°C por 19 horas, mensurou-se o halo de inibição ao redor dos discos. Na avaliação da atividade antibacteriana não houve formação de halo de inibição ao redor dos discos testes. Na avaliação da atividade antibacteriana são considerados ativos os extratos que exibem halo de inibição maior ou igual a 7,0 mm. O extrato avaliado não possui atividade antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus oralis*.

AGRADECIMENTOS

Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Fapemig e CNPQ.



EVALUACIÓN DEL PERFIL QUÍMICO Y DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE MUESTRAS DE PROPÓLEOS PROVENIENTES DE LOS DEPARTAMENTOS DE SANTANDER, BOYACÁ Y MAGDALENA (COLOMBIA)

Christian Morales-Castillo¹, Pilar Meléndez¹, Consuelo Díaz², Martha Quicazán², Ivonne Alejandra González², Juan Camilo Marín-Loaiza³

1. Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia-Bogotá, Colombia

2. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA. Universidad Nacional de Colombia-Bogotá, Colombia

3. GRUPO GIFFUN. Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá; jcmarinlo@unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

El propóleo es un producto resinoso elaborado por las abejas a partir de exudados de diversas especies de plantas, que posteriormente son mezclados con cera, polen y secreciones enzimáticas. Es ampliamente utilizado en la medicina tradicional por sus reconocidas propiedades terapéuticas. En Colombia, es comercializado en tiendas naturistas para el tratamiento de enfermedades respiratorias. Sin embargo, son pocos los estudios científicos realizados con propóleos colombianos que respalden su uso y que garanticen su calidad, inocuidad y eficacia.

En el presente trabajo se establecieron los perfiles químicos, el contenido de fenoles y flavonoides totales, la actividad antioxidante y antimicrobiana de siete muestras de propóleos provenientes de tres regiones del país (Boyacá, Santander y Magdalena).

METODOLOGÍA

Los extractos etanólicos de propóleos se analizaron mediante cromatografía de capa delgada (CCD) y se les determinó el contenido de fenoles y de flavonoides totales por espectrofotometría. La capacidad antioxidante fue evaluada mediante dos métodos espectrofotométricos: capacidad captadora de los radicales DPPH• (radical 2,2-difenil-1-picrilhidracil) y ABTS^{•+} (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácidosulfónico). La actividad antimicrobiana se evaluó por el método de difusión en agar contra los microorganismos *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus*.

RESULTADOS Y DISCUSION

Todas las muestras analizadas presentaron valores de fenoles y flavonoides por encima de lo establecido por la normatividad Argentina, 50 mg de ácido gálico/g de extracto y 5 g de quercetina/g de extracto, respectivamente. El extracto proveniente de Santander (PR-271) fue el que presentó el mayor contenido fenólico ($106,18 \pm 5,9$). Para el contenido de flavonoides totales, los extractos de Boyacá (PR-154, PR-156 y PR-286) mostraron los valores más altos ($52,66 \pm 1,14 - 77,92 \pm 1,67$), lo que fue corroborado por los perfiles cromatográficos. La mayor actividad captadora de los radicales DPPH• y ABTS^{•+} fue mostrada por el propóleo PR-271. Con respecto a la actividad antimicrobiana, todos los extractos evaluados fueron activos contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*. Ninguna muestra fue activa contra *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*. El extracto PR-271 fue el que presentó los mayores halos de inhibición contra las bacterias empleadas y fue el único que mostró actividad inhibitoria del crecimiento del hongo *Aspergillus fumigatus*.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos con los extractos de propóleos Colombianos son variables. Dicha variabilidad viene dada, en gran parte, por la flora circundante que se encuentra en cada región de recolección, que es con la que las abejas elaboran el propóleos. Lo anterior repercute de forma directa en los perfiles químicos y de actividad que se obtuvieron. Cabe resaltar que la muestra originaria de Santander (PR-271) mostró el mayor contenido fenólico y fue una de las más activas en las pruebas de actividad antioxidante y antimicrobiana. La caracterización de propóleos Colombianos es pertinente ya que puede conducir al descubrimiento de nuevos constituyentes con actividades biológicas promisorias.

BIBLIOGRAFÍA

1. KUJUMGIEV, A., TSVETKOVA, I., SERKEDJIEVA, Y.; BANKOVA V. 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J of Ethnopharmacol.* 64(3):235-240.
2. KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. 2004. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem.* 84(3):329-339.



ANÁLISE FITOQUÍMICA E ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DA PINHA (*Pinus elliottii* ENGELM.)

Wadt N.S.Y.¹, Bardi H.², Hubner A. A.², Orsi R. B.¹, Rodrigues C. F. C.³, Iapichini J. E. C. B.³

1. Diretoria de Ciências da Saúde, Universidade Paulista, Jundiaí, S.P., Brasil

2. Universidade Paulista

3. Agência Paulista de Tecnologia de Agronegócios, S.P.

INTRODUCTION

Os estróbilos (cone) são ramos modificados que se diferenciaram em órgãos reprodutores do pinheiro (*Pinus elliottii* Engelm), no Brasil são conhecidos como pinha. Estas pinhas são utilizadas como material de decoração, porém normalmente sem utilização alimentícia ou medicinal. O excesso de estróbilos produzidos são considerados como “lixo” e com elevado tempo de degradação. A APTA (Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio), na cidade de Itapetininga, está pesquisando sobre a utilização da pinha como complemento na ração de animais e outras finalidades, porém há necessidade de maiores estudos sobre a pinha. O objetivo deste trabalho foi a análise fitoquímica, doseamento de taninos da pinha e a avaliação antimicrobiana do extrato da pinha e de xampu com extrato de pinha a 5%.

METHODS

Os ensaios fitoquímicos foram avaliados segundo métodos específicos para cada grupo de metabólitos secundários sendo: taninos, flavonóides, antraquinonas, cardioativos, saponinas, alcalóides e óleos voláteis. O doseamento de taninos foi realizado por espectrofotometria segundo Farmacopéia brasileira (2010). O extrato foi preparado por percolação fracionada utilizando como solvente etanol 70%. A análise antimicrobiana foi realizada pela técnica de semeadura em profundidade utilizando as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 e a levedura *Candida albicans* ATCC 90028, sendo o meio Ágar Caseína Soja para bactéria e Ágar Sabouraud para fungos.

RESULTS AND DISCUSSION

Os estróbilos foram colhidos na fazenda experimental da APTA, em Itapetininga. Os resultados fitoquímicos mostraram que os estróbilos (pinha) possuem taninos, flavonóides, saponinas, esteróides e açúcares. Com base nestes ensaios foi realizado o doseamento de taninos que teve concentração de 0,24%. O extrato apresentou inibição de 100% para todos os microrganismos testados nas concentrações de 50 e 100 µL de extrato quando comparados com o etanol 70%, que era o solvente do extrato, e solução fisiológica como controle positivo. Porém quando se adicionou o extrato de pinha à formulação de um xampu, não houve inibição do crescimento microbiano quando testados 50 e 100 µL de xampu. Isto pode ter ocorrido, pois a diluição do extrato, além da fórmula do xampu, que era mais viscoso, pois os taninos precipitam com os polissacarídeos que são agentes de viscosidade dos xampus, podem ter interferido nos resultados.

CONCLUSION

Os resultados demonstram um grande potencial dos estróbilos do pinheiro, tanto farmacologicamente, como fonte alternativa de renda para os produtores, pois como não há alta concentração de taninos e nem substâncias potencialmente tóxicas, os estróbilos (pinha) podem ser incorporados em rações para animais como complemento volumoso, sem danos aos animais.

FINANCIAL SUPPORT

Universidade Paulista (UNIP)



ACUTE TOXICOLOGY EVALUATION AND QUANTIFICATION OF PHENOLS AND PROTEINS OF SANTA MARIA HERB (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Wadt N. S. Y.¹, Miotta G. Q.², Silva D. U.², Silva R. S.², Okamoto M. K. H.¹, Oliveira H. A.², Costa S. G.², Bach, E. E.¹

1. Diretoria de Saúde, (pesquisadores) Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brasil

2. Diretoria de Saúde, (alunos Iniciação Científica) Universidade Nove de Julho, São Paulo, Brasil

INTRODUCTION

Santa Maria Herb, *Chenopodium ambrosioides* L., family Chenopodiaceae, also known as some others folk names, such as: ambrósia, mentruz, mentrusto, mentrasto, quenopódio. It is an annual herbaceous plant with simple leaves, petiolate, alternate, the floriferous branches have a leafy green coloration, small flowers, fruits achene type, spherical, black, erect stem, ranging in height from 0.20 to 1.50 m, reproduction by seeds, strong and peculiar odor. In folk medicine their leaves, seeds, flowers and stems are used in the form of inputs, decoctions, infusions, macerated, extracts, tinctures, syrup, beat in a blender with milk, tied at the fracture site, local poultice. Several works narrate toxic potential of volatile oil containing mainly ascaridol. The aim of this study was to evaluate the acute toxicological hydroethanolic extract 70% of *Chenopodium ambrosioides* L. in mice, assay of phenols and proteins from the aerial parts of the plant, and the phytochemical profile.

METHODS

The extract of Santa Maria Herb was prepared by percolation fractionated using 70% ethanol as a solvent. The acute toxicity test was performed according to RE 90 (Brazil, 2004) using mice with a single dose of 1ml/kg and evaluated for 14 days, using as controls water and 70% ethanol. Statistical analysis was performed by Tukey / ANOVA method. For protein quantitation method was used Lowry in SAB equivalents / mL (bovine serum albumin). The total phenols were analyzed by Folin-Ciocalteu and the results expressed in mg of chlorogenic acid equivalents per mL (mg eq. ac. chlorogenic / mL), the dosage from both tests was made with plants from three different locations (Ibiúna, Arujá and Atibaia). The phytochemicals tests were performed according with specific reactions in each group of secondary metabolites such as tannins, flavonoids, anthraquinones, cardioactive, saponins, alkaloids and volatile oils.

RESULTS/DISCUSSION/CONCLUSIONS

The extract showed significant acute toxicity to the spleen and kidneys, but there was no significant change in body mass, liver, heart and lungs. Phytochemical analysis showed the presence of tannins, flavonoids, saponins and volatile oils. The total phenol (mg phenol / g of leaf) was 0.934 for the Ibiúna sample, 0.022 for the Atibaia, and 0.133 for the Arujá. Already protein content (mg protein / g sheet) was 0.226 for Ibiúna, 0.176 to 0.450 respectively to Atibaia and Arujá. The tests proved the toxicity of the hydroethanolic extract justifying the toxicity found in animal studies that used Santa Maria Herb to treat parasites. The assay of proteins and phenols is being used by the research group to assess the capacity of inducing fungal resistance and influence from each different region in the composition of the plant.

FINANCIAL SUPPORT

Nove de Julho University (UNINOVE)



ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *in vitro* DE LOS EXTRACTOS OBTENIDOS DE LAS FLORES DE *Tabebuia chrysantha* (JACQ.) G. NICHOLSON

Alvarez-Giraldo A. R.¹, Jiménez-González F. J.², Veloza L. A.³, Sepúlveda-Arias J. C.⁴

1. Estudiante de Química Industrial, Universidad Tecnológica de Pereira/Grupo Infección e Inmunidad, La Julita, Pereira, Colombia
2. Estudiante Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Tecnológica de Pereira/Grupo Polifenoles, La Julita, Pereira, Colombia
3. PhD, Universidad Tecnológica de Pereira/Grupo Polifenoles, La Julita, Pereira, Colombia
4. MD., PhD, Universidad Tecnológica de Pereira/Grupo Infección e Inmunidad, La Julita, Pereira, Colombia; jcsepulv@utp.edu.co

INTRODUCCIÓN

Tabebuia chrysantha (Jacq.) G. Nicholson (sin. *Handroanthus chrysanthus* (Jacq.) S. O. Grose). (Bignoniaceae) es originaria de América tropical y se extiende desde México a través de Centroamérica hasta Sudamérica. En Colombia se conoce como *guayacán amarillo* y/o *cañahuate* y es utilizado como maderable y ornamental debido al color amarillo intenso de sus flores. Su principal uso no maderable es medicinal y las infusiones obtenidas a partir de su corteza se consideran útiles en el tratamiento de artritis, cáncer, infecciones, procesos infecciosos y cicatrización de heridas. De esta especie existen pocos estudios en cuanto a su química y actividad biológica y por ésta razón se evaluó la actividad antiinflamatoria *in vitro* de los extractos obtenidos a partir de las flores de *T. chrysantha*.

METODOLOGÍA

Las flores secas y molidas de *T. chrysantha* (1,0 Kg) se extrajeron por percolación con metanol durante tres días a temperatura ambiente. Se realizaron extracciones sucesivas líquido-líquido con solventes de diferente polaridad (*n*-hexano, cloroformo, acetato de etilo, butanol y agua). Los extractos obtenidos se concentraron a presión reducida y se emplearon para los ensayos *in vitro*. Se evaluó la citotoxicidad de los extractos (a concentraciones de 0,5, 1 y 2 mg/mL) sobre la línea de macrófagos murinos RAW264.7 con el método del MTT. Se estimularon las células RAW264.7 con lipopolisacárido bacteriano (LPS) a concentraciones de 5 y 10 mg/mL durante 12 o 18 horas, con el fin de determinar la producción de PGE₂/TNF- α y NO, respectivamente. El extracto promisorio por su efecto antiinflamatorio (*n*-hexano, 1,0 g) se fraccionó mediante columna cromatográfica empacada con sílicagel (55 g), eluida con el sistema de gradiente por etapas *n*-hexano-CO(CH₃)₂, CO(CH₃)₂-CHCl₃, CHCl₃-MeOH, MeOH-*i*-PrOH e *i*-PrOH, obteniéndose 14 fracciones (F1 hasta F14). A la fracción F9 (80 mg) se le realizó una placa preparativa sobre sílica gel, obteniéndose las fracciones F9A hasta F9I. La fracción F9A (45 mg) se fraccionó en cartucho C-18 con gradiente por etapas CO(CH₃)₂-agua, CO(CH₃)₂, CO(CH₃)₂-AcOEt, AcOEt y CH₂Cl₂, obteniéndose fracciones desde F9A1 hasta F9A23. A cada una de las fracciones obtenidas se le realizaron pruebas químicas de caracterización para determinar los núcleos presentes, así como sus perfiles cromatográficos por GC-MS.

RESULTADOS / DISCUSIÓN

Ninguno de los extractos evaluados mostró efectos citotóxicos superiores al 80% en concentraciones menores o iguales a 2,0 μ g/mL. El extracto en *n*-hexano obtenido a partir de las flores de *T. chrysantha* mostró el mayor efecto inhibitorio sobre la producción de PGE₂/ TNF- α y NO.

CONCLUSIONES

El fraccionamiento de éste extracto y las pruebas químicas realizadas a las fracciones obtenidas permitieron determinar la presencia de núcleos característicos para antraquinonas, quinonas, cumarinas, fenoles y terpenos. Los perfiles cromatográficos realizados por GC-MS muestran la presencia de timol, nerolidol, catecol y ésteres de ácidos grasos. Se está en el proceso de aislamiento de compuestos a partir del extracto en *n*-hexano para posterior evaluación de su actividad antiinflamatoria.

FINANCIAMIENTO

Se agradece a COLCIENCIAS por la beca doctoral de FJJG y el soporte financiero de la Vicerrectoría de Investigaciones Innovación y Extensión de la Universidad Tecnológica de Pereira.



ANTIBACTERIAL POTENTIAL OF THE *Vernonia condensata* BAKER (ASTERACEAE)

Silva J. B.¹, Temponi, V. S.¹, Matos D. M.⁴, Fernandes F. V.⁴, Rodrigues K. C. M.^{1,2}, Fabri R. L.¹, Ribeiro A.³, Scio E.^{2,3}, Sousa O. V.^{1,2}, **Alves, M. S.**^{1,2}

1. Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, Brazil; silvana.alves@ufjf.edu.br
2. Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil
3. Department of Biochemistry, Institute of Biological Sciences, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil
4. Undergraduate Course of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Federal University of Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, Brazil

INTRODUCTION

Vernonia condensata Baker (Asteraceae), known as “necroton”, is popularly used as analgesic, antimicrobial and gastric protector¹. Moreover, a steroid glycoside, the Vernionioside B2, was isolated from extracts of *V. condensata*, which showed antinociceptive and anti-inflammatory activities². The present study aimed to investigate the antibacterial activity of the ethanol extract (EE) and fractions of hexane (HF), dichloromethane (DF), ethyl acetate (AF) and n-butanol (BF) obtained from *V. condensata* leaves.

METHODOLOGY

The antibacterial potential was evaluated by Antimicrobial Susceptibility Test (AST) through agar diffusion and by Minimum Inhibitory Concentration (MIC) using microdilution method, according the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)^{3,4} guidance. The representative reference bacterial strains *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 were used.

RESULTS AND DISCUSSION

The AST results revealed that DF was active against *S. aureus*, *E. coli* and *S. typhimurium* strains tested and inactive against *P. aeruginosa*. HF was active against *S. aureus* and *E. coli*. AF showed activity only against *S. aureus* among the four strains tested. The MIC results obtained with EE and fractions of *V. polyanthes* leaves contributed to report that the antibacterial activity was much expressive against *S. aureus* [EE (2.5 mg/ml), HF (1.25 mg/ml), DF (2.5 mg/ml) and AF (1.25 mg/ml)]. The antibacterial activity exhibited by EE and fractions could be attributed to the presence of several phytochemical constituents. DF presents classes of lignan, methoxylated flavonoids, sesquiterpenes, lactones, triterpenes and coumarins compounds. AF includes flavonoids, tannins, xanthenes, triterpene acids, saponins and phenolic substances in general⁵. FH contains terpenes and steroids. Different substances related to these classes have antimicrobial activity⁶.

CONCLUSION

These results showed that *V. condensata* could be a potential source for new antibacterial agents or prototypes. However, further studies should be conducted to better comprehension about the safe and the effectiveness of this specie as medicinal plant.

SPONSORS

UFJF, FAPEMIG, CAPES and CNPq.

BIBLIOGRAPHY

1. LOLIS, M.I.G.A.; MILANEZE-GUTIERRE, M.A. Morfo-anatomia das folhas de *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae), o "figatil". *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 13, n. 1, p. 68-71, 2003.
2. VALVERDE, A.L. Analgesic and antiinflammatory activities of veronioside B2 from *Vernonia condensata*. *Phytotherapy Research*, v. 15, n. 3, p. 263-264, 2001.
3. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard - 11th ed., M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2009a.
4. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard-8th ed., M07-A8. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2009b.
5. CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Química Nova*, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.
6. SHER, A. Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants. *Gomal Journal of Medical Science*, v. 7, n. 1, p. 72-78, 2009.



ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE TRES ESPECIES DE ALGAS MARINAS DEL GÉNERO *Laurencia*

García Davis Sara¹, Morales Rubio Maria Eufemia¹, Garza Padrón Ruth Amelia¹, Murillo Álvarez Jesús Iván², Viveros Valdez Ezequiel¹

1. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas
2. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN; jose.viverosvld@uanl.edu.mx

INTRODUCCIÓN

Los organismos marinos son una rica fuente de productos naturales bioactivos, los cuales en muchos casos se producen como mecanismos de defensa, y cuyas propiedades biológicas abarcan aplicaciones en farmacéutica, nutracéutica, cosmética, entre otras industrias biotecnológicas. Las algas marinas han sido una importante fuente de dichas moléculas, siendo notable el género *Laurencia* por la presencia de sesquiterpenos, acetogeninas C15 y algunos di- y triterpenos con actividades antimicrobiana, antialimentaria, antihelmíntica y citotóxica (Hua Su et al., 2009). Además, se ha visto que uno o más de los productos naturales halogenados sintetizados por *Laurencia* son únicos de cada especie (Fenical W. and Norris J., 1974). Por ello, se propuso evaluar la capacidad antimicrobiana de los extractos etanólicos de tres especies de algas del género *Laurencia*.

METODOLOGÍA

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de las algas *L. pacifica*, *L. johnstonii* y *L. gardneri* mediante el ensayo de difusión por disco en agar contra bacterias gram positivas (*S. aureus*, *E. faecalis*, *B. cereus*) y negativas (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto de *L. gardneri* no presentó actividad antimicrobiana contra las bacterias probadas, mientras que los de *L. johnstonii* y *L. pacifica* mostraron halos de inhibición de 15 a 20 mm para *S. aureus*, *E. faecalis*, *B. cereus* y *K. pneumoniae*. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Castro-Reyes (1997), quien reportó actividad antimicrobiana para *L. johnstonii* contra *S. aureus* y *E. faecalis*.

CONCLUSIONES

Las especies del género *Laurencia* representan una amplia fuente de compuestos bioactivos con importante capacidad antimicrobiana.

FINANCIAMIENTO

Beca CONACYT No. 290666 otorgada a SGD

BIBLIOGRAFÍA

1. Hua Su et al. 2009. Sesquiterpenes from *Laurencia similis*. *Molecules*, 14, 1889-1897
2. Fenical, W. and Norris, J. 1974. Chemotaxonomy in marine algae: chemical separation of some *Laurencia* species (Rhodophyta) from the Gulf of California. *J. Phycol.*, 11, 104-108.
3. Castro-Reyes, M. A. 1997. Actividad antibacteriana de *Sargassum sinicola* (Sargassaceae, Phaeophyta) y *Laurencia Johnstonii* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) de Bahía de la Paz, B.C.S., México. Tesis de maestría, CICIMAR- IPN. Pp. 64.



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS PARTES AÉREAS E RAÍZES DE *Sida rhombifolia* L. (MALVACEAE) NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO

Machado L. M.¹, Lima R.¹, Costa Q.², **Manfron M. P.**^{1,3}

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil; melaniapalermo@gmail.com
2. Curso de Farmácia, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil
3. Departamento de Farmácia Industrial, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

INTRODUÇÃO

Radicais livres são moléculas altamente instáveis e reativas quimicamente. O desequilíbrio entre a formação de moléculas oxidantes e antioxidantes pode ocasionar um acúmulo dos produtos destas reações que resultará em danos celulares oxidativos. Estes danos induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados com a etiologia de várias doenças, como doenças degenerativas (cardiopatas, aterosclerose e Parkinson, diabetes), problemas pulmonares, câncer, processos de envelhecimento, entre outros (HALLIWELL, 1994; POULSEN et al., 1998; SORG, 2004).

Plantas medicinais são uma promissora e importante fonte de antioxidantes naturais e de baixo custo, a fim de substituir aditivos sintéticos que podem ter efeitos tóxicos, carcinogênicos e anormais nos seres humanos. Portanto, há um crescente interesse nestas substâncias pelos seus potenciais usos como antioxidantes em alimentos, na indústria farmacêutica e como profiláticos na prevenção de enfermidades. (GÖKTÜRK et al., 2007; DOUGHARI et al., 2008).

MÉTODOS

A espécie *Sida rhombifolia* foi coletada no município de Santa Maria- RS nas quatro estações e obteve-se o extrato hidroetanólico das partes aéreas e raízes de cada uma das extrações. A atividade antioxidante foi avaliada pelo método fotocolorimétrico do sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) com padrão ácido ascórbico, onde se pesquisou as IC₅₀ de cada extrato (concentração inibitória de 50% do radical DPPH) (CHOI et al., 2002).

RESULTADOS

Tabela 1- IC₅₀ dos extratos das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia* frente ao radical DPPH.

<i>S. rhombifolia</i>	IC ₅₀ (µg /mL)			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Partes aéreas	208,47	188,03	208,41	172,51
Raízes	705,83	376,0	636,40	374,08

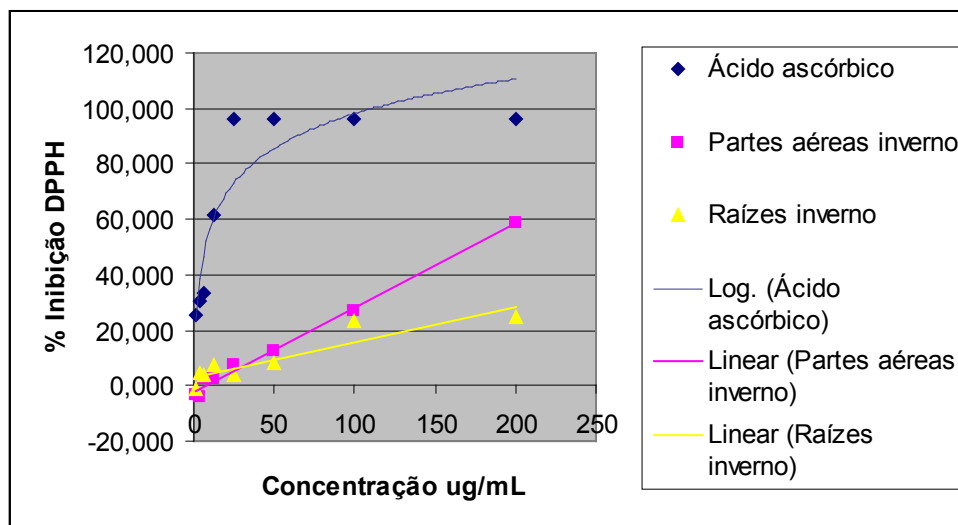


Figura 1- Gráfico da inibição do DPPH pelo ácido ascórbico e extratos das partes aéreas e raízes de *S. rhombifolia*

DISCUSSÃO

Os extratos de *S. rhombifolia* apresentaram atividade antioxidante frente ao radical DPPH, sendo que as partes aéreas necessitaram de uma concentração consideravelmente inferior às raízes para desenvolverem a mesma atividade. Tanto nas partes aéreas quanto nas raízes, a atividade antioxidante foi mais eficiente nas amostras coletadas no inverno e menos eficiente nas amostras coletadas na primavera, comprovando que os metabólitos responsáveis por esta ação antioxidante não se mantêm constantes durante o ano e distribuem-se diferentemente entre os órgãos da planta.

CONCLUSÃO

Podemos concluir que a espécie vegetal *S. rhombifolia* apresenta atividade antioxidante, e o período de coleta e órgão da planta utilizado influi nesta atividade.

BIBLIOGRAFIA

1. CHOI, C. W. et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoid by assay-guided comparison. *Plant Science*, v.163, p.1161-1168, 2002.
2. DOUGHARI, J. H.; EL-MAHMOOD, A. M.; TYOYINA, I.,. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Senna obtusifolia* (L.). *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.22, p.102-106, 2008.
3. GÖKTÜRK, N. B.; GÜLCAN, G. O.; YAS, S. A. Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. *Food Chemistry*. v.18, 1131-1136, 2007.
4. HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, New York, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.
5. POULSEN, H. E.; PRIEME, H.; LOFT, S. Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. *European Journal of Cancer Prevention*., Oxford, v.7, n.1, p.9-16, 1998.
6. SORG, O. Oxidative stress: a theoretical model or biological reality? *C. R. Biol.*, v. 327, p. 649-662, 2004.



EFFECTO *in vitro* DE *Justicia spicigera* SOBRE CULTIVOS DE CÉLULAS DE ORIGEN HEMATOPOYÉTICO

Elisa Vega-Avila, Ericka Yazmin Villegas Serrano, Enrique Martínez, Jesús Pérez Hernández

División de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F.; vega@xanum.uam.mx

INTRODUCCIÓN

Justicia spicigera (muitle, muicle, hierba tinta) es una planta endémica de México que se emplea en la medicina tradicional mexicana desde la época prehispánica. En estudios previos hemos reportado la actividad citotóxica del extracto etanólico sobre células HeLa y T47-D (1), así como las actividades antibacteriana y antifúngica de la fracción hexánica de dicho extracto (2). Por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar *in vitro* el efecto de la fracción hexánica sobre células hematopoyéticas.

METODOLOGÍA

La fracción hexánica se obtuvo como previamente se ha descrito (2). Con respecto a las células hematopoyéticas, estas se obtuvieron por maceración y/o perfusión del bazo, timo y médula ósea procedentes de ratas Wistar de 21 días de edad. Las suspensiones celulares se ajustaron a una concentración 1×10^6 células/mL y con ellas se prepararon los cultivos en placas multipozos donde posteriormente se adicionó la fracción hexánica en concentraciones de 0.1 a 113 $\mu\text{g/mL}$. La proliferación celular se evaluó mediante el método de sulforrodamina-B (3). Se emplearon como controles a la concanavalina A y colchicina. Los datos se procesaron empleando el programa Excel así como el paquete estadístico SPSS para Windows.

RESULTADOS

La media ($n=6$) del porcentaje de proliferación de las células de bazo fue de 55.35, 110.15 y 141.67 a las concentraciones de 1.13, 11.3 y 113 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. El porcentaje promedio de la proliferación de las células de timo fue de 54.80, 68.03, 82.4 y 182.01 % a las concentraciones de 0.113, 1.13, 11.3 y 113 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. La comparación entre los distintos grupos muestra que con la concentración de 113 $\mu\text{g/mL}$ existe diferencia significativa ($p < 0.05$) con los otros 3 grupos. El porcentaje promedio de proliferación de las células de médula ósea fueron de 65.19, 86.98, 71.14 y 100.14 a las concentraciones de 0.113, 1.13, 11.3 y 113 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

CONCLUSIONES

Nuestros datos muestran que a la concentración de 113 $\mu\text{g/mL}$ se tiene una proliferación mayor al 100 % en los cultivos de células de bazo y timo, siendo el mejor efecto sobre el cultivo de células de timo. Esto indica que la fracción hexánica contiene compuestos que promueven la proliferación de las células provenientes de dos de los 3 órganos hematopoyéticos probados. Uno de los usos comunes de esta planta es para tratar la anemia y fortalecer la sangre (4), sin embargo se requiere de más estudios que nos permitan concluir que *Justicia spicigera* tiene compuestos que contrarresten la anemia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vega-Avila, et al. 2009. Proc. West. Pharmacol. Soc. 52, 78-82.
2. Vega-Avila et al. 2012. Rev. Latinoamer. Quím. 40,7-12.
3. Monks, A., et al. 1991. J. Natl. Cancer Inst. 83,757-766.
4. Aguilar, A., et al. 1994. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. México. P.p.11-12.



LOS EXTRACTOS ACUOSOS Y METANÓLICOS DE *Berberis darwinii* H. INHIBEN RESPUESTAS CELULARES DEFENSIVAS EN MONOCITOS HUMANOS TRATADOS *in vitro*

Daniela Núñez R.^{1,2}, David Alarcón C¹, Marco Paredes H^{1,2}

1. Laboratorio de Investigación en Biotecnología Animal, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de La Frontera, Temuco Chile; dnunez2004@gmail.com; marco.paredes@ufrontera.cl

2. Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera, Av. Francisco Salazar 01145. Casilla 54-D, Temuco, Chile

INTRODUCCIÓN

Berberis darwinii es una especie perteneciente a la familia Berberidaceae, habita el sur de Chile y la Patagonia Argentina¹. Esta especie ha sido utilizada por la etnia mapuche como planta medicinal, para el tratamiento de estados febriles, procesos inflamatorios y dolores estomacales. Estas propiedades podrían estar relacionadas con la presencia de principios activos tales como alcaloides, polifenoles, entre otros². En este trabajo se estudio el efecto de extractos acuosos y metanólicos de raíz de *B. darwinii*, sobre la producción de anión superóxido, la expresión de interleuquina 1 beta (IL1- β) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) en cultivo primario de monocitos humanos activados con lipopolisacárido (LPS) y forbol miristato acetato (PMA).

METODOLOGÍA

Se prepararon extractos acuosos y metanólicos a partir de raíces de *B. darwinii*, recolectadas en la precordillera de la Región de La Araucanía, Chile. Las raíces se secaron a 40 °C por 2 días y posteriormente se pulverizaron con un mortero mecánico. Se procesaron 100g. de raíz pulverizada en un litro de metanol, concentrando en rotavapor. El residuo obtenido se suspendió en un litro de agua destilada y se desgraso por extracción líquido-líquido con n-hexano, recuperando la fracción acuosa y liofilizándolo posteriormente. El Extracto acuoso se preparó a partir de una infusión de 100 g de raíz pulverizada en 500 ml de agua destilada a 90 C° durante 15 min, se filtro y recupero el material húmedo, repitiendo el proceso dos veces. Posteriormente la solución se liofilizó.

Se determino el efecto de estos extractos en cultivo primario de monocitos humanos extraídos mediante un gradiente discontinuo de Percoll³. Se evaluó el efecto de los extractos sobre la viabilidad a las 18 y 72 horas mediante el método de azul tripan⁴. Posteriormente se determino el efecto de estos extractos sobre la producción de anión superóxido por medio de la reducción de nitroblue tetrazolium (NBT)⁵ y la expresión transcripcional de IL-1 β y TNF- α por PCR en tiempo Real⁶.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cultivos de monocitos tratados con extracto acuoso, mostraron una viabilidad superior al 95% a las 18 horas, bajando entre un 86% a un 92% a las 72 horas. La viabilidad de las células en presencia del extracto metanólico fue de un 90% a las 18 horas y entre un 76%-98% a las 72 horas. Tanto los niveles de anión superóxido, como la expresión transcripcional de IL-1 β y TNF- α , disminuyeron significativamente en cultivos activados con LPS y tratados con los extractos, respecto al control solo tratado con LPS. Estos resultados sugieren la presencia de compuestos con actividad inhibidora de mecanismos defensivos, funcionales y moleculares en monocitos activados. Estas propiedades antiinflamatorias han sido evaluadas en otras especies de *Berberis*, siendo asociadas a la presencia de alcaloides berberinicos^{7 y 8}.

CONCLUSIONES

Los extractos acuosos y metanólicos de *B. darwinii* disminuyen la producción de anión superóxido y citoquinas proinflamatorias en monocitos activados con LPS y PMA, sugiriendo la presencia de compuestos antiinflamatorios en *B. darwinii*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rodríguez R, Marticorena A y Teneb E. 2008. Vascular plants of Baker and Pascua Rivers, Region of Aisen, Chile. *Gayana Botanica* 65, 39-70.
2. Muñoz O, Montes M y Wilkomirsky T. 2001. Plantas medicinales de uso en Chile: química y farmacología. *Universitaria* 61-65.
3. Majsky A. 1982. Monocyte isolation using Percoll. A comparison with the adherence method. *Cas Lek Cesk* 121, 584-585.
4. Altman S, Randers L, Rao G. 1993. Comparison of trypan blue dye exclusion and fluorometric assays for mammalian cell viability determinations. *Biotechnol Prog.* 9(6), 671-674.
5. Paredes M, Gonzalez K and Figueroa J. 2013. Immunomodulatory effect of prolactin on Atlantic salmon (*Salmo salar*) macrophage function. *Fish Physiol Biochem*, DOI 10.1007/s10695-013-9777-7.
6. Matalama F, Paredes M y Cornejo R. 2010. Efecto del láser de baja energía sobre la expresión de GAP-43 en nervio isquiático de rata. *Int. J. Morphol* 28(3), 815-821.
7. Bottini M, De Bustos A, Sanso A, Jouve M, and Poggio L. 2007. Relationships in Patagonian species of *Berberis* (Berberidaceae) based on the characterization of rDNA internal transcribed spacer sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 153(3), 321-328.
8. Sood, P and Modgil R. 2013. *Berberis lycium* a Medicinal Plant with Immense Value. *Indian Journal of Pharmaceutical & Biological Research* 1, 27-36.



DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA OPTIMIZADA PARA EL TAMIZAJE Y CONFIRMACIÓN DE ACTIVIDAD ANTITUMORAL Y QUIMIOPREVENTIVA DE COMPUESTOS CANDIDATOS

Margarita Alvarado, Lilliana Calvo, Rodrigo Mora

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Universidad de Costa Rica; rodrigo.morarodríguez@ucr.ac.cr

INTRODUCCIÓN

El cáncer es un conjunto de enfermedades extremadamente complejas con opciones de tratamiento limitadas debido a resistencia por lo que la combinación sinérgica de quimioterapia con otras drogas representa un importante campo de investigación (1,2). El NCI-60 DTP (*National Cancer Institute*) ha realizado el tamizaje de actividad antitumoral de miles de compuestos sobre 60 líneas celulares de tumores humanos (<http://dtp.nci.nih.gov>), lo que presenta limitaciones prácticas, la falta de evaluación de interacciones sinérgicas con la quimioterapia y el potencial quimiopreventivo para prevenir el desarrollo de cáncer (3,4,5).

METODOLOGÍA

Proponemos entonces la utilización de una plataforma de evaluación de actividad antitumoral y quimiopreventiva basada en una serie de ensayos de tamizaje y confirmación. Para evaluar las interacciones sinérgicas esto se realiza en presencia de doxorubicina a concentraciones clínicamente relevantes, lo que permite la evaluación de sinergismo con múltiples mecanismos de acción ya que la doxorubicina tiene un efecto celular altamente pleiotrópico. Esto ha permitido utilizar la resistencia a doxorubicina como predictora de multiresistencia a quimioterapia (6).

RESULTADOS

Se ha estandarizado un ensayo de Sulforodamina B (7,8) para tamizar por actividad antitumoral de compuestos en la línea celular CCRF-CEM (9), sensible a quimioterapia incluyendo doxorubicina, y sobre la línea CEM/ADR5000 derivada de la anterior pero altamente resistente debido a varios mecanismos incluyendo genes MDR-1 de multiresistencia (6). Este ensayo presentó una gran linealidad, sensibilidad, punto final estable y bajo costo para confirmar la sensibilidad de CCRF-CEM y la resistencia de CEM/ADR5000 a doxorubicina. Además, se estandarizó un ensayo de Calceína y Etidio-homodímero para la confirmación de su actividad citotóxica, evidenciando que la doxorubicina no tiene un efecto citotóxico sobre estas líneas celulares. Esto sugiere que la disminución del crecimiento celular en CCRF-CEM se debe a un efecto antiproliferativo, lo que fue confirmado por las alteraciones evidenciadas en el ciclo celular mostrando un arresto en fase G2/M. Estos resultados confirman que nuestra plataforma presenta condiciones óptimas para el tamizaje y confirmación de efectos sinérgicos de compuestos con la doxorubicina ya que ésta presenta un efecto meramente citostático sobre las células CCRF-CEM, dando espacio para la búsqueda de interacciones que potencien este efecto hacia citotóxicidad.

Por otro lado, se ha estandarizado un ensayo de fluorometría en formato de 96 hoyos con CCRF-CEM para tamizar actividad antioxidante de compuestos basado en la sonda DCFDA ante el estrés oxidativo inducido por TBHP (10). Además, se ha estandarizado un ensayo por citometría de flujo para confirmación sobre diferentes poblaciones de células primarias sanguíneas (PBMCs), que conservan intactos sus mecanismos de detoxificación, mejorando así la valoración del efecto quimioprotector.

CONCLUSIONES

En conclusión, hemos establecido una plataforma de tamizaje y confirmación de actividad antitumoral y quimiopreventiva que permite la evaluación de efectos: i) citostáticos, ii) citotóxicos, iii) potenciación de un efecto citostático de la quimioterapia o conversión en efecto citotóxico, iv) sobrepasar una alta resistencia a la quimioterapia, v) posible actividad antioxidante y vi) confirmación de efecto quimiopreventor en células primarias. Esta plataforma está siendo actualmente utilizada para la búsqueda de actividades en conjugados polifenólicos (11) y compuestos esteroideos (12) mediante un proyecto financiado por FEES-CONARE 2012.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ghavami, G., Sardari, S. & Shokrgozar, M. (2011). Cheminformatics-based selection and synergism of herbal extracts with anticancer agents on drug resistance tumor cells—ACHN and A2780/CP cell lines. *Computers in Biology and Medicine*. 41: 665–674.
2. Eid, S., El-Readi, M. & Wink, M. (2012). Synergism of three-drug combinations of sanguinarine and other plant secondary metabolites with digitonin and doxorubicin in multi-drug resistant cancer cells. *Phytomedicine*. 19: 1288–1297.
3. Mukhtar, H. (2012). Chemoprevention: Making it a success story for controlling human cancer. *Cancer Letters*. 326: 123–127.
4. Hail, N., Cortes, M., Drake, E. & Spallholz, J. (2008). Cancer chemoprevention: A radical perspective. *Free Radical Biology & Medicine*. 45: 97–110.
5. Johnson, J. & Mukhtar, H. (2007). Curcumin for chemoprevention of colon cancer. *Cancer Letters*. 255: 170–181.
6. Efferth, T., Konkimalla, V., Wang, Y., Sauerbrey, A., Meinhardt, S., Zintl, F., Mattern, J. & Volm, M. (2008). Prediction of Broad Spectrum Resistance of Tumors towards Anticancer Drugs. *Clinical Cancer Research*. 14 (8): 2405-2412.
7. Lin, Z., Hoult, J. & Raman, A. (1999). Sulphorhodamine B assay for measuring proliferation of a pigmented melanocyte cell line and its application to the evaluation of crude drugs used in the treatment of vitiligo. *Journal of Ethnopharmacology*. 66: 141–150.
8. Papazisis, K., Geromichalos, G., Dimitriadis, K. & Kortsaris, A. (1997). Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay. *Journal of Immunological Methods*. 208: 151–158.
9. Anagnostopoulos, A., Vougas, K., Kolialexi, A., Mavrou, A., Fountoulakis, M. & Tsangaris, G. (2005). The Protein Profile of the Human Immature T-cell Line CCRF-CEM. *Cancer genomics & proteomics*. 2: 271-300.
10. Roy, A. & Sil, P. (2012). Tertiary butyl hydroperoxide induced oxidative damage in mice erythrocytes: Protection by taurine. *Pathophysiology*. 19: 137–148.
11. Hu, C. & Zhang, L. (2012). Nanoparticle-based combination therapy toward overcoming drug resistance in cancer. *Biochemical Pharmacology*. 83: 1104–1111.
12. Stroheker, T., Picard, K., Lhuguenot, J. C., Canivenc-Lavier, M. C., & Chagnon, M. C. (2004). Steroid activities comparison of natural and food wrap compounds in human breast cancer cell lines. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 42(6), 887–97. doi:10.1016/j.fct.2004.01.012



PERFIL DE ALCALOIDES OXI INDÓLICOS DE LA PLANTA *Uncaria tomentosa* DE COSTA RICA

Catalina Rosales¹, Andrea Sancho¹, Luis Ángel Sánchez¹, Francisco Aguilar¹, Tatiana Salazar²,
Silvana Alvarenga Venutolo²

1. CENIBiot
2. ITCR

INTRODUCCIÓN

U. tomentosa conocida como Uña de Gato es comúnmente usada en la medicina tradicional por sus efectos contra el sistema inmune y el sistema nervioso, gracias a la actividad biológica de los alcaloides oxi indólicos que contiene (Obregón, 1997).

El Centro de Investigación en Biotecnología del ITCR (CIB) junto con la colaboración del Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas (CENIBiot) han desarrollado un estudio con el título: "Obtención de un extracto acuoso de Uña de Gato con una concentración conocida de alcaloides oxi indólicos, para su uso como producto final y materia prima de productos derivados".

Actualmente existen en el mercado y registrados ante el Ministerio de Salud, varios Productos Naturales a base de *Uncaria tomentosa*, sin embargo, ninguno de ellos especifica el contenido de alcaloides a los que se les atribuye las propiedades terapéuticas que presenta.

METODOLOGÍA

El objetivo de dicha investigación fue obtener un extracto acuoso con propiedades terapéuticas, específicamente contra el cáncer. Para esto, inicialmente se analizaron plantas de campo de *Uncaria tomentosa*, recolectadas de la zona atlántica del territorio nacional. El estudio se realizó determinando el contenido de alcaloides oxindólicos en diferentes partes de la planta: hojas jóvenes, hojas adultas, tallo, flor, raíz y corteza de raíz de la planta. Además, se analizaron muestras en las diferentes épocas climáticas (época seca y época lluviosa) y las condiciones de cultivo, tomando muestras de diferentes fincas de la misma zona.

El análisis se realizó por cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD) y se utilizaron cinco estándares de alcaloides oxi indólicos: Uncarina E, Uncarina D, Uncarina C, Mitrafilina, Isomitrafilina e Isorynchofilina. El método fue validado por parte del CENIBiot, para el análisis de todas las muestras.

Adicionalmente a las plantas de campo de *Uncaria tomentosa* se analizaron hojas de las plantas de invernadero, plántulas *in vitro* y células vegetales para determinar su contenido de alcaloides oxindólicos.

RESULTADOS

Entre los resultados obtenidos, se ha encontrado mayor concentración de alcaloides totales en las hojas de la planta de campo, favoreciendo la obtención de materia prima, para la producción del extracto acuoso. Obteniendo 49,15mg/g de alcaloides totales en las hojas jóvenes, 34,96mg/g de en las hojas adultas, 19,71mg/g en la raíz, mientras que en la corteza de raíz, el tallo y las flores no se detectan alcaloides, para la época seca. Siendo esta época en la que se reportaron mayor concentración de alcaloides totales con respecto a la época lluviosa.

Por otro lado, se encontró una mayor concentración de alcaloides totales en las plantas de campo (66,28mg/g de alcaloides totales), seguido plantas de invernadero (39,52mg/g), plantulitas *in vitro* (19,27mg/g de alcaloides totales) y muy bajas concentraciones en células vegetales (no detectables en un rango de linealidad de 0,33mg/L a 15mg/L).

De todos los alcaloides identificados, el que se reporta en mayor concentración en las hojas de las plantas, es la Uncarina C.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Al presentar un mayor contenido de alcaloides totales en las hojas con respecto a la concentración en raíces, es ventajoso ya que se evita la destrucción de la planta, para la colecta de materia prima. Las condiciones climáticas afectan el contenido de alcaloides en las plantas, siendo la época seca quien ocasiona en la planta un mayor estrés y por ende la producción de mayor cantidad de metabolitos. Los tejidos más maduros y especializados, las condiciones de cultivo, la zona geográfica, las épocas de cosecha son una de tantas condiciones que determinan una mayor concentración de alcaloides en la planta.

FINANCIADORES

Esta investigación fue presentada como proyecto piloto, en la primer convocatoria de proyectos, al Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas (CENIBiot). El cual fue financiado por fondos de la Unión Europea y actualmente se esta finalizando gracias a la contrapartida que ofreció Costa Rica, por medio del MICIT y CONARE.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarenga, S. 2010. Establecimiento *in vitro* y cultivo de células de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*) (Willd.) D.C. Tecnología en Marcha 23(5): 24-33.
2. Aquino, R., De Feo, V., De Simon, F., Pizza, C., Conti, C., Cirino, G. 1991. *Plant Metabolites, new compounds and anti-inflammatory activity of Uncaria tomentosa*. Journal of Natural Products. 54 (2): 453-459
3. Erowele, G., Kalejaiye, A.O. 2009. Pharmacology and therapeutic uses of cat's claw." *Am. J. Health Syst. Pharm.* Jun 1; 66(11): 992-5.
4. Helmuth R., Manske F, Lavergne H., The Alkaloids: Chemistry and Physiology. Volume 14, Elseiver, Pages iii-xi, 1-610 (1973).
5. Heinz R. *Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C: Cat's Claw, Uña de Gato, or Savéntaro. The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 1999; 5(2),143-151.
6. Keplinger, K., Laus, G. Wuem, M, Dierich, M.P., Teppner, H. 1998. *Uncaria tomentosa* (Willd. DC) *Ethnomedicinal use an new pharmacological, toxicological and botanical results*. Journal of Ethnopharmacology. 64: 23-34
7. Obregón, L. 1997. "Uña de Gato, Cat's Claw". Genero *Uncaria*. Estudios botánicos, químicos y farmacológicos de *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*. Tercera Edición. Instituto de Fitoterapia Americano. Lima, Perú. 169 pp
8. Pereira R., Valente., Pinto J., Bertolucci S., Bezerra G., Alves F., Dos Santos P., Benavides P., Siani A., Rosario S., Mazzei J., Avila L., Gomes L., Aquino-Neto F., Emmerick I., Carvalhaes S. *In vitro* cultivated *Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis* with determination of the pentacyclic oxindole alkaloid contents and profiles. *J.Braz.Chem.Soc.* 2008, 19 (6), 1193-1200.
9. Romero, E. 2004. Optimización del Análisis Mediante Cromatografía Líquida de Metabolitos Presentes en la Planta Medicinal *Uncaria tomentosa* (Uña de Gato) Utilizando el Método de Simplex Secuencial. Tecnología en Marcha 18(2):91-94.
10. Sánchez; L. y Alvarenga, S. 2012. Calogénesis y establecimiento del cultivo de células en suspensión de *Uncaria tomentosa* (Willd.) D.C. (Uña de Gato. Tecnología en Marcha. En prensa.
11. Sandoval M., Okuhama N., Zhang X.J., Condenzo L.A., Lao J., Angele F.M., Musah R.A., Bobrowski., Miller M.J. Anti-inflammatory and antioxidant activities of cats claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. *Phytomedicine*.2002, 9:325-337.
12. Stuppner H, S. Stum, G. Konwalinka. HPLC Analysis of the main Oxindole Alkaloids from *Uncaria tomentosa*. *Chromatographia*, 1992; 34:11/12.
13. Trejo G., Cerdas C., Rodríguez M., Ramos A. Monoterpenoid Oxindole Alkaloid Production by *Uncaria tomentosa* (Willd) D.C. Cell Suspension Cultures in Stirred Tank Bioreactor. *Biotechnology Progress*. 2005, 21(3), 786-792.
14. Verpoorte, R. 2000. Plant secondary metabolism. IN: *Metabolic Engineering of Plants Secondary Metabolism* Verpoorte R, Alfermann AW (Eds.). Kluwer. Dordrecht, Holanda. pp:1-2937.
15. Verpoorte, R. 2011. Comunicación personal. Plant Cell Biotechnology for the Production of Fine Chemicals. CENIBiot. Asesoría Técnica a proyecto CB-025. Setiembre de 2011. San José, Costa Rica.

PATENTES CONSULTADAS

- Castillo, G. (2007). Patente n° US 7.285.293 B2. United States.
- Galdos, A. E. (1998). Patente n° PE7819898. Peru.
- Keplinger, K. (1990). Patente n° 4.940.725.
- Pero, R. W. (2009). Patente n° US 7.595.064 B2. Estados Unidos de Norte América.
- Ronald, W. P. (2000). Patente n° 6.039.949. Estados Unidos de Norte América.



ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE UN EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Witheringia solanacea*

Cristina Herrera, Olga Durán, Franklin Binns

Instituto de Investigaciones Farmacéuticas INIFAR, Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica

INTRODUCCIÓN

Witheringia solanacea (sulfatillo) es una planta de uso popular para tratar infecciones, dolor de cabeza, *Diabetes mellitus*, hipertensión, artritis, malestares estomacales, enfermedades de la piel, trastornos respiratorios y urogenitales, anemia, inflamación y alergias.^{1,2,3,4} Sin embargo, son pocos los estudios que validan el uso tradicional de esta planta en modelos animales.⁵ Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad antiinflamatoria de un extracto acuoso de las hojas de dicha planta por medio de dos modelos animales. Además, evaluar el efecto citotóxico *in vitro* y la actividad antioxidante.

METODOLOGÍA

La planta fue recolectada en Limón, Costa Rica, e identificada por un taxónomo. La planta se secó y molió, se colocó en agua hirviendo (1:10 p/v) por 1 h, posteriormente se filtró, evaporó y liofilizó. En el modelo de edema plantar se utilizaron ratas Sprague Dawley (180-220 g, n=6) y se evaluaron tres dosis: 500, 250 y 125 mg/Kg por vía IP. La carragenina 1% se administró 1h en la aponeurosis plantar derecha y solución salina en la izquierda. Se realizaron mediciones en el pletismómetro a las 1, 3, 5 y 24 h. En el modelo de edema auricular se utilizaron ratones machos Hsd:ICR (28-32 g, n=6). El tetradecanoilforbol (0.125 mg/ml) se disolvió en acetona junto con el extracto en diferentes concentraciones (12.5-500 mg/ml). Se aplicó 10 µL de esta mezcla en cada cara de la oreja derecha y 10 µL de acetona en la izquierda. Luego de 4h se sacrificó el animal, se cortó una porción circular de cada oreja y se determinó el peso. Para cada modelo se utilizó como referencia indometacina y se incluyeron los controles negativos respectivos. En ambos casos se calculó el porcentaje de inflamación como la diferencia de los valores obtenidos con respecto al control. Por otro lado, se evaluó el efecto citotóxico en células SW620 por medio del método de MTT luego de la exposición del extracto por 48 horas y la actividad antioxidante por medio de la actividad antiradicalaria con 2,2-difenil-1-picrilhidrazil e inhibición de la peroxidación lipídica en homogenizado de hígado de rata por medio de la determinación del malondialdehído con ácido tiobarbitúrico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto de *W. solanacea* presentó un efecto antiinflamatorio en el modelo de edema plantar a las dosis de 500 y 250 mg/kg en todos los tiempos de estudio ($p < 0.05$). Sin embargo, no se observó un efecto antiinflamatorio en el modelo de edema auricular en el rango de concentraciones estudiado. Lo cual indica que el extracto presenta componentes con actividad antiinflamatoria que no son capaces de absorberse por la vía tópica. Con respecto al efecto citotóxico se obtuvo un valor de IC50 mayor a 1500 µg/ml. Con respecto la actividad antioxidante, el extracto mostró actividad antiradical con un IC50 de 161 ± 7 µg/ml e inhibición de la peroxidación lipídica en concentraciones de 5 y 10 mg/ml ($p < 0.001$). Además, estudios preliminares de toxicidad en ratas indican que hasta una dosis de 2000 mg/kg VO no es letal para el animal ni se observan signos anormales.

CONCLUSIONES

El presente trabajo demostró que el extracto acuoso de hojas de *W. solanacea* presenta un efecto antiinflamatorio tras la administración sistémica, pero no local. Además, presenta actividad antioxidante importante. Por el contrario la actividad citotóxica (antitumoral) en células SW620 no fue relevante y parece no ser tóxico para los animales a dosis de hasta 2000 mg/kg VO.

BIBLIOGRAFÍA

1. Caballero-George C, Vanderheyden PML, Solis PN, Pieters L, Shahat AA, et al. Biological screening of selected medicinal Panamanian plants by radioligand-binding techniques. *Phytomedicine*. 2001; 8(1): 59–70.
2. García M, Sánchez P, Poveda L y Otárola M. Proyecto Etnobotánico del Caribe Norte de Costa Rica. Estación Biológica Caño Palma. Universidad Nacional Autónoma de Costa Rica (UNA). 2006.
3. Jacobo-Herrera N, Bremner P, Márquez N, Gupta MP, Gibbons S, et al. Physalins from *Witheringia solanacea* as modulators of the NF-KB cascade. *Journal of Natural Products*. 2006; 69(3): 328-331.
4. De la Torre L, Alarcón D, Kvist LP, Salazar J. Usos medicinales de las plantas. *Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador*. 2008; 105-114.
5. Herrera C, García-Barrantes PM, Binns F, Vargas M, Poveda L and Badilla S. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Witheringia solanacea* in normal and alloxan-induced hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011; 133(2): 907-910.



PROPÓLEOS CHILENOS Y SU ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA SOBRE ALGUNOS PATOVARES DE *Botrytis cinerea*

Natalia Balboa Ponce^{1,2,3,4,5}, Maribel Parada¹, Emilio Hormazabal^{2,3,4}, Luis Salazar⁴, Marysol Alvear^{2,3,4},

1. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de La Frontera. Av. Francisco Salazar 01145. Casilla 54-D, Temuco, Chile; n.balboa01@ufromail.cl
2. Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera. Av. Francisco Salazar 01145. Casilla 54-D, Temuco, Chile
3. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración, Universidad de La Frontera. Av. Francisco Salazar 01145. Casilla 54-D, Temuco, Chile
4. Núcleo de Desarrollo Científico-Tecnológico en Biorecursos (BIOREN)
5. Universidad de La Frontera. Av. Francisco Salazar 01145. Casilla 54-D, Temuco, Chile; marysol.alvear@ufrontera.cl

INTRODUCCIÓN

Dentro de las principales problemáticas que generan una mayor pérdida económica en el sector hortofrutícola en Chile, se encuentran las patologías provocadas por hongos a berries, trigo y uvas, donde se destaca como una de las principales perjudicadas, la producción de arándanos a nivel de exportación. Cepas como *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum* se mencionan como principales causales de estas patologías desarrolladas en plantas (1)Hinfl, Msel, Haelll were used. Endonucleases Bfml, Cfr9l, Hpy188l, MaeII or PspGI were used as necessary to complete discrimination. The 43 species studied generated 42 different composite profiles. Por este motivo, es de gran importancia generar nuevos antifúngicos a base de productos naturales, para dar solución a esta problemática de nivel mundial, debido a que estas cepas fúngicas presentan diversidad de polimorfismos los cuales producen gran resistencia a fungicidas comerciales. Durante los últimos años se ha probado al propóleo como antimicrobiano para solucionar estas problemáticas, además de ser utilizado en otras patologías como antibacteriano, antidiabético, anticancerígeno, antiviral, entre otras (2–4). Esta capacidad antifúngica reportada en propóleos se debe principalmente a la presencia de diversos compuestos bioactivos presentes en él; flavonoides, ácidos orgánicos, polifenoles, enzimas, vitaminas y minerales. De acuerdo a lo anteriormente descrito el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antifúngica de extractos etanólicos de propóleos (EEP) sobre algunos patovares de *Botrytis cinerea*.

METODOLOGÍA

Se utilizaron EEP de la región del Bio-Bío y de la región de La Araucanía obtenidos utilizando diferentes protocolos de extracción, a los que se les cuantificó polifenoles totales mediante la utilización del lector multimodal de microplacas Synergy H1-BIOTEK, por el método de Folin-Ciocalteu y flavonoides por el método del AlCl₃ (5,6). Además, se identificaron algunos de los componentes de los EEP mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Así mismo, se evaluó la capacidad antioxidante mediante el uso de permanganato de potasio. Finalmente, se evaluó la actividad antifúngica in vitro mediante la utilización de antibiogramas en medio Agar-Papa-Dextrosa (APD) donde se utilizaron los EEP diluidos (1:50) y sin diluir sobre algunos patovares de *Botrytis cinerea*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El EEP de la región del Bio-Bío obtenido a partir de etanol absoluto, presentó la mayor concentración de compuestos polifenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante. Por HPLC se detectaron 44 compuestos diferentes, de los cuales destaca por su alta concentración, pinocembrina. Además, presentó actividad antifúngica y en el caso del patovar de frambuesa, se observó un cambio en la morfología del micelio.

CONCLUSIÓN

El EEP de la región del Bio-Bío obtenido a partir de etanol absoluto, presenta una alta concentración de compuestos polifenólicos, flavonoides y actividad antifúngica sobre patovares de frutilla y frambuesa.

FINANCIAMIENTO

Este estudio fue financiado por el aporte de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad de La Frontera, Proyecto DI-10-0023; CONICYT (FONDEF D051- 10021), Chile y Proyecto 059/2011 del Fondo de Investigación del Bosque Nativo (CONAF).

BIBLIOGRAFÍA

1. Diguta CF, Vincent B, Guilloux-Benatier M, Alexandre H, Rousseaux S. PCR ITS-RFLP: A useful method for identifying filamentous fungi isolates on grapes. *Food Microbiology*. Elsevier Ltd; 2011 Sep; 28(6):1145–54.
2. Chan T, Barra NG, Lee AJ, Ashkar A. Innate and adaptive immunity against herpes simplex virus type 2 in the genital mucosa. *Journal of Reproductive Immunology*. Elsevier Ireland Ltd; 2011 Mar; 88(2):210–8.
3. Chan GC-F, Cheung K-W, Sze DM-Y. The Immunomodulatory and Anticancer Properties of Propolis. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2012 Jun 17;1–11.
4. Erejuwa OO, Sulaiman S a, Wahab MSA. Honey-a novel antidiabetic agent. *International Journal of Biological Sciences*. 2012 Jan; 8(6):913–34.
5. Curifuta M, Vidal J, Sánchez-Venegas J, Salazar LA, Alvear M. The *in vitro* antifungal evaluation of a commercial extract of Chilean propolis against six fungi of agricultural importance. 2012; 39(2):347–59.
6. Potkonjak NI, Veselinović DS, Novaković MM, Gorjanović SŽ, Pezo LL, Sužnjević DŽ. Antioxidant activity of propolis extracts from Serbia: a polarographic approach. *Food and Chemical Toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2012 Oct; 50(10):3614–8.



ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIOXIDATIVE EFFECTS OF THE STANDARDIZED METHANOLIC EXTRACT OF THE AERIAL PARTS OF *Mitracarpus frigidus* IN ESTABLISHED ANIMAL MODELS

Fabri R. L.¹, García R. A.¹, Florêncio J. R.¹, Pinto N. C. C.¹, Oliveira L. G.², Aguiar J. A. K.², Ribeiro A.¹, Scio E.¹

1. Bioactive Natural Products Laboratory, Department of Biochemistry, Biological Sciences Institute, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036 900, Brazil; elita.scio@ufjf.edu.br

2. Glycoconjugate Analysis Laboratory, Department of Biochemistry, Biological Sciences Institute, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036 900, Brazil

INTRODUCTION

M. frigidus (Willd. ex Roem. & Schult.) K. Shum, an annual shrub commonly found in South America including Brazil (Pereira et al., 2006). Previous studies showed that the methanolic extract obtained from this plant (MFM) revealed the presence of flavonoids, tannins, alkaloids, terpenes and quinones, and presented antimicrobial, leishmanicidal, cytotoxic and laxative activities (Fabri et al., 2009; 2012a). Recently, the pyranonaphthoquinone psychorubrin was first isolated from this extract (Fabri et al., 2012b). Moreover, MFM revealed no toxicity signs in rat models (Fabri et al., 2012). Based on these considerations, the present study was undertaken to evaluate the anti-inflammatory and antioxidative effects of the methanolic extract obtained from the aerial parts of *Mitracarpus frigidus* (MFM) in well-established animal models, and to identify some of its major compounds.

METHODOLOGY

The dried aerial parts of *M. frigidus* were powdered and extracted by maceration with methanol. The extract was concentrated on a rotatory evaporator to obtain the crude methanol extract. This extract was standardized using external standards: kaempferol, rutin, psychorubrin and ursolic acid. The acute and chronic anti-inflammatory activity was tested using the carrageenan-induced paw edema and peritonitis, ear edema induced by croton oil, and ethyl phenylpropiolate (EPP) and cotton pellet granuloma methods. The antioxidative activity was assessed using liver tissue malondialdehyde (MDA) accumulation, and also catalase and cyclooxygenase activities.

RESULTS AND DISCUSSION

The results revealed that MFM showed a more intense acute anti-inflammatory than chronic effects at doses of 100 and 300 mg.kg⁻¹, when compared with the reference drugs in all of the models tested. Strong antioxidative activity was also observed for MFM, since its administration led to a decrease of some antioxidative markers, such as MDA, catalase and myeloperoxidase. MFM also inhibited COX in a selective manner for COX-2, when compared with indomethacin. MFM demonstrated potential anti-inflammatory activity against the acute and chronic phases of inflammation. This activity may be related to the expressive antioxidative properties observed for MFM.

CONCLUSION

In conclusion, COX blockade or inhibition of this enzyme expression, and other mechanisms, such as inhibition of inflammatory mediators were possibly involved in the effects observed.

SPONSORS

This work was supported by the grants from FAPEMIG, CAPES and CNPq.

BIBLIOGRAPHY

1. Fabri RL et al. *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. *Bioresour Technol* 2009; 100: 428-433.
2. Fabri RL et al. *In vivo* laxative and toxicological evaluation and *in vitro* antitumor effects of *Mitracarpus frigidus* aerial parts. *J Pharm Pharmacol* 2012a; 64: 439-448.
3. Fabri RL et al. Antitumor, antibiotic and antileishmanial properties of the pyranonaphthoquinone psychorubrin from *Mitracarpus frigidus*. *Ann Acad Bra Sci* 2012b; 84(4): 1081-1090.
4. Pereira ZV et al. Rubiaceae Juss. da Reserva Florestal Mata de Paraíso, Viçosa, MG, Brasil. *Acta Bot Bras* 2006; 20(10): 207-224.



LIPID PEROXIDATION INHIBITORY ACTIVITIES FROM MEDICINAL PLANTS USING LIPOSOME ASSAY

Pizziolo, V. R.¹, Díaz, M. A. N.¹, Leite, J. P. V.¹, Brasileiro, B. G.², Marín, M. C., Nascimento, F. R.¹

1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Viçosa, Peter Henry Rolfs Avenue, s/n, 3657000-Viçosa-MG, Brazil; virginia.pizziolo@ufv.br

2. Federal Institute of Southeast of Minas Gerais –Monteiro Castro Avenue, 550 - 36880-000 -Muriaé-MG, Brazil

INTRODUCTION

Much attention has been paid to the activity of natural antioxidants present in medicinal plants since potentially these compounds may reduce the level of oxidative stress. Liposomes appears to be most promising as a method of assessing antioxidant properties relevant to human healthy, since these systems allow investigation of the protection of substrate by an antioxidant in a model biological membrane (Roberts & Gordon, 2003). This study aims to evaluate the lipid peroxidation inhibitory activities from ethanolic extracts of ten Brazilian native medicinal plants using liposome assay.

MATERIAL AND METHODS

The ethanolic extracts from aerial parts of each plant was provided by extract's library from BIOPESB(State Park of Serra do Brigadeiro) and Bionat, both research groups in medicinal plants from Federal University of Viçosa, Minas Gerais, Brazil. 100g of each plant materials was soaked in 500mL of ethanol for 7days with intermittent shaking. The plant extract were filtered through Whatman no 1 filter paper and then were concentrated to dryness under reduce pressure and stored at 4°C. The lipid peroxidation assay was based on the method described by Conforti et al (2002), with slight modification. It was evaluate the antioxidative effect by inhibition of lipid peroxidation in liposomes (10mM) induced by Fe⁺²(0,2mm) /ascorbate (10mm) system and quantified spectrophotometrically at 532 nm by TBA-test. The final concentration of each plants extracts and controls were 0,6g/L. For the preparation of liposomes a solution of 1- α phosphatidylcholine (Sigma) was evaporated under vacuum to dryness. Then distilled water was added to obtain final concentration of 78 mM of lipids and the suspension was vortex for 5 minutes.

RESULTS AND DISCUSSION

The results are showed in Figure 1. The commercial antioxidant BHT and standartized extract from *Ginkgo biloba*, a natural antioxidant, inhibited lipid peroxidation by 98.77 and 57.20% , respectively. DMSO was used as negative control. All of extracts exhibited high lipid peroxidation inhibited activities. *Senna macranthera* was the most active and inhibited lipid peroxidation by 59.26% followed by *Rosmarinus officinallis* (58.85%) and *Octea odorifera*(57.51%). Composition rich in phenolic compounds of these medicinal plants can be related to effective antioxidant properties observed in these extracts.

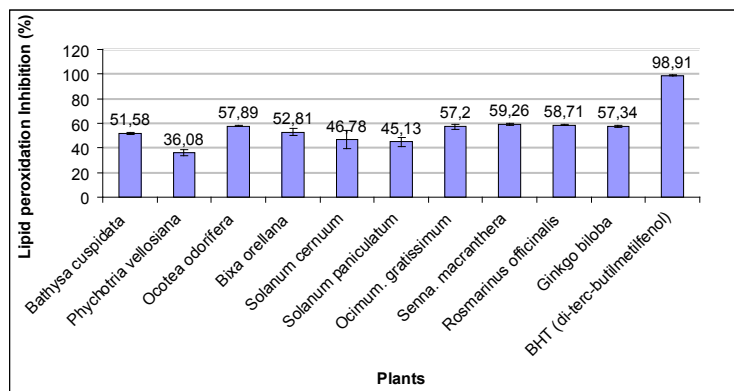


Figure 1- Lipid peroxidation inhibitory activities of medicinal plants extracts.

CONCLUSIONS

These preliminary results with ethanolic extracts from those medicinal plants are promising to be tested for *in vivo* pharmacological tests for chronic diseases as well as antioxidants components of cosmeceuticals. Further research is necessary for separation, purification and characterization of biological active compounds.

FINANCIAL SUPPORT

FAPEMIG

REFERENCES

1. Conforti, F., et al. Antioxidant activity of methanolic extract of *Hypericum triquetrifolium* Turra aerial part. *Fitoterapia*, v.73, 479-483, 2002.
2. Roberts, W.G. & Gordon, M.H. Determination of the total antioxidant activity of fruits and vegetables by a liposome assay. *J. Agric. Food Chem.* v.51, 1486 -1493, 2003.



ACTIVIDAD ANTIRADICAL, ANTIBACTERIANA Y PRUEBAS DE TÓXICIDAD SOBRE *Artemia salina* DE PARTES AEREAS DE *Acacia rigidula*

Cano-Flores Nohemi¹, Rivas-Morales Catalina¹, Rivas-Leos Catalina¹, Carranza-Torres Pilar², Viveros-Valdez Ezequiel¹

1. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas; jose.viverosvld@uanl.edu.mx

2. Centro de Investigación Biomédica del Noreste/IMSS

INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Acacia* han sido ampliamente utilizadas en la medicina tradicional para una gran variedad de propósitos debido a sus propiedades antiinflamatorias, antivirales, antibacterianas y cardiovasculares^{1,3,4}. *Acacia rigidula* es un arbusto espinoso perteneciente a la familia *Mimosaceae* que crece mayormente en el norte de México y extremo sur de Estados Unidos². Esta especie en particular ha sido poco estudiada, sin embargo debido a su cercanía quimiotaxonómica con otras especies del mismo género fue considerada para este estudio.

METODOLOGÍA

El propósito de éste proyecto fue evaluar la actividad biológica de los extractos clorofórmico, metanólico y el extracto proveniente de infusión sobre el secuestro del radical libre DPPH, su efecto sobre *Artemia salina* y la acción antibacteriana sobre algunas cepas de importancia médica por el método de difusión en pozo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto clorofórmico mostró una actividad antioxidante con una Concentración Efectiva media (CE_{50}) > 100 $\mu\text{g/ml}$, la CE_{50} del extracto metanólico fue de $65 \pm 11 \mu\text{g/ml}$ y el extracto proveniente de infusión posee con una CE_{50} de $38 \pm 6 \mu\text{g/ml}$, mostrando una tendencia de mayor efecto antiradical en los extractos polares. Para el caso de *Artemia salina* la Dosis Letal Media (DL_{50}) para los tres tipos de extractos se encuentra por arriba de 1000 $\mu\text{g/ml}$. El extracto clorofórmico no mostró actividad contra las bacterias probadas. En el caso de los extractos metanólico y el obtenido de infusión presentaron a los de inhibición entre 13 – 25 mm contra las bacterias *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*.

CONCLUSIONES

Acacia rigidula representa una fuente factible de moléculas biológicamente activas para su uso en investigaciones biomédicas.

FINANCIAMIENTO

Beca CONACYT No. 322979 otorgada a CFN

BIBLIOGRAFÍA

1. Chou TC, Chang LP, Li CY, Wong CS and Yang SP. 2003. The antiinflammatory and analgesic effects of baicalin in carrageenan-evoked thermal hyperalgesia. *Anesh Analq.* 97 (6); 1724 – 1729
2. Clement BA, Goff CM and Forbes DA. 1998. Toxic amines and alkaloids from *Acacia rigidula*. *Phytochemistry.* 49 (5); 1377 – 1380
3. De Clerq E. 2005. Current lead natural products for the chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Med Res Rev.* 20; 323–349
4. Huang Y, Tsang SY, Tao X and Chen ZY. 2005. Biological properties of baicalein in cardiovascular system. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord.* 5; 177–184



INHIBICIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO POR EXTRACTO ETANÓLICO DE *Stevia lucida* ¿UNA PLANTA CON ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA?

Blanco F., Estrada O., Michelangeli, Ruiz M., Fernández A., Taylor P.

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela

INTRODUCCIÓN

Venezuela posee una gran biodiversidad, estimándose la flora total del país en unas 30.000 especies; entre éstas más de 1.500 se han reportado con uso medicinal por las comunidades indígenas. No obstante, solo un pequeño número ha sido evaluado en términos de su capacidad antiinflamatoria, aún cuando por atribución de esta propiedad se han usado tradicionalmente y descrito una gran variedad de plantas, como manzanilla, aloe vera, cúrcuma y el sauce blanco.

METODOLOGÍA

El efecto de los extractos y fracciones de *S. lucida* sobre la producción de óxido nítrico (ON) por la línea de monocitos/macrófagos RAW 264.7 estimulados con lipopolisacárido (LPS), transcurridas 48 horas del tratamiento se determinó mediante la reacción de Griess.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inicialmente se evaluaron 165 extractos de 92 especies de plantas venezolanas ensayando su efecto inhibitorio sobre la producción de ON, como indicador de su capacidad antiinflamatoria, identificándose 9 plantas con actividad (IC₅₀) a concentraciones menores de 60 µg/ml.

En ese grupo destacó el extracto etanólico de hojas de *Stevia lucida* del género *Stevia*, cuyas propiedades han sido opacadas principalmente por su uso como edulcorante, especialmente *Stevia rebaudiana*. Sin embargo, se ha reportado el uso etnobotánico de diferentes especies del género para el tratamiento de diarreas, dolor de estómago, dismenorrea, etc.; particularmente, se ha reportado desde los años 70 el uso de las hojas de *S. lucida* por comunidades venezolanas, guatemaltecas y colombianas para el tratamiento de reumatismo e inflamación y por comunidades mexicanas como cataplasma para curar heridas.

Se encontró que el extracto crudo de *Stevia lucida* inhibió la producción, *in vitro*, de ON en macrófagos RAW 264.7 en un 50% a una concentración de 45 µg/ml y que de las 3 fracciones, separadas por su solubilidad en metanol/agua y acetona, las dos más apolares, E1 y E2, fueron capaces de inhibir la producción de ON en un 50% a concentraciones de 26 µg/ml y 20 µg/ml respectivamente, mientras que la E3 no tuvo efecto, esto sin mostrar efectos citotóxicos. Actualmente se avanza el fraccionamiento biodirigido, a fin de identificar el o los compuestos responsables de esta actividad, y se estudian los efectos sobre otros mediadores como TNF-α e IL-6.

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *Stevia lucida*, a concentraciones menores de 60 µg/ml, inhibe la producción de ON en macrófagos RAW 264.7, y esta actividad se ve potenciada en sus fracciones menos polares.

FINANCIAMIENTO

MC 20070000881 del programa Misión Ciencia, FONACIT, Venezuela.

BIBLIOGRAFÍA

Morton, J.F. (1975) Current folk remedies of northern Venezuela. Quarterly Journal of Crude Drug Research. 13, 97–121.
Soejarto, D.D., Compadre, C.M. and Kinghorn, A.D. (1983) Ethnobotanical notes on *Stevia*. Botanical Museum Leaflets, Harvard University 29, 1–25.
von Reis Altschul, S. (1973) Drugs and Foods from Little Known Plants, Harvard University Press, Cambridge, MA, pp. 298–299.



COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN DAMIANA (*Turnera diffusa* WILLD.) *in vitro* IRRADIADA CON UV-B

Alcaraz-Meléndez Lilia¹, Soriano-Melgar Lluvia de Abril Alexandra², Méndez-Rodríguez Lía C.²,
Puente María Esther², Zenteno-Savín Tania²

1. Agricultura en Zonas Áridas, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. CIBNOR. Instituto Politécnico Nacional 195, Playa Palo de Santa Rita Sur; La Paz, B.C.S. México, C.P. 23096; lalcaraz04@cibnor.mx
2. Planeación Ambiental y Conservación. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. CIBNOR. Instituto Politécnico Nacional 195, Playa Palo de Santa Rita Sur; La Paz, B.C.S. México, C.P. 23096

INTRODUCCIÓN

La composición química y nutracéutica de frutas, hortalizas y plantas medicinales está influenciada por condiciones climáticas (temperatura, humedad, radiación UV)¹. En casos extremos, éstos factores pueden generar un incremento en las especies reactivas de oxígeno (ERO) y el estrés oxidativo en las plantas, lo que genera modificaciones metabólicas para adaptarse a las nuevas condiciones. Altas temperaturas y niveles de radiación solar favorecen la síntesis de compuestos antioxidantes por parte de las plantas, como un mecanismo de defensa². El objetivo fue evaluar el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en damiana (*T. diffusa*) cultivada *in vitro* y su modificación por efecto de la radiación UV-B.

METODOLOGÍA

Plantas de damiana (n=5 por triplicado) se desarrollaron en medio MS durante 4 semanas y se irradiaron (F875 UV-B Lamp, 315 nm, BioRad, Hercules, CA, EUA). Los tratamientos fueron: 1) UV-B alta (0.5 ± 0.1 mW/cm²) 2 h/día, 2) UV-B severa (1 ± 0.1 mW/cm²) 2 h/día y 3) UV-B severa (1 ± 0.1 mW/cm²) 4 h/día. Se manejaron plantas control desarrolladas sólo con luz blanca. Se analizaron las muestras al día cero, recién irradiadas y cada semana por 3 semanas. Los niveles de radiación se midieron con un radiómetro (ultraviolet intensity meter, General Tools and Instruments, NY, USA). Se determinó el contenido de compuestos fenólicos³ y la capacidad antioxidante total⁴ en hojas frescas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante total disminuyó en todos los tratamientos de UV-B en comparación con las plantas control. Hipotéticamente se esperaba que los niveles de compuestos fenólicos incrementaran en respuesta a UV-B, debido a que se conoce que la UV-B incrementa los niveles de compuestos fenólicos, como los flavonoides, ya que son pigmentos que captan ésta radiación⁵. Pese a esto, los compuestos fenólicos en plantas de damiana disminuyeron significativamente por efecto de la UV-B. Esto indica que los niveles de UV-B son demasiado altos o que la damiana es sensible a los cambios de UV-B. La UV-B empleada puede estar incrementando el estrés oxidativo y con ello la pérdida de compuestos fenólicos y antioxidantes.

CONCLUSIONES

Niveles altos de UV-B generan la pérdida de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en plantas de damiana *in vitro*.

FINANCIAMIENTO

CIBNOR (BIO1,PC2.0, PC0.10, PC0.5, PC0.9), CONAFOR (PE09.02) y CONACyT (205249).

BIBLIOGRAFÍA

1. Jacobo-Velázquez, D.A. y L. Cisneros-Zevallos. 2012. An alternative use of horticultural crops: stressed plants as biofactories of bioactive phenolic compounds. *Agriculture*. 2:259-271.
2. Pandjaitan, N., L.R. Howard, T. Morelock y M.I. Gil. 2005. Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and maturation. *J Agric Food Chem*. 53:8618-8623.
3. Singleton, V.L. y J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolyb-dicphosphotungstic acid reagents. *American J Enol Viticulture*. 16:144-158.
4. Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier y C. Berset. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT*. 28:25-30.
5. Rozema J., J. Staij, L. Björn y D. Nancy. 1999. Depletion of stratospheric ozone and solar UV-B radiation. The Netherlands pp.1-19.



SCREENING FOR CYTOTOXIC ACTIVITY OF EXTRACTS FROM PLANTS IN A BRAZILIAN ATLANTIC FOREST AREA

Figueiredo P. S.¹, Kelmer N. S.¹, Fonseca C. R.², Chedier L. M.², Souza-Fagundes E. M.³, Scio E.¹, **Ribeiro A.¹**

1. Department of Biochemistry, Biological Sciences Institute, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036 900, Brazil; antonia.ribeiro@ufjf.edu.br
2. Department of Botany, Biological Sciences Institute, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036 900, Brazil
3. Department of Fisiology and Biophysics, Biological Sciences Institute, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais 31270 901, Brazil

INTRODUCTION

The Atlantic rainforest already covered the Brazilian coasts from north to south. Nowadays it's highly fragmented and reduced to approximately 27% of original area. However it presents the highest biodiversity per hectare among the planet's tropical forests, and is one foci of the world's conservation (MMA, 2013). In this conservation effort, in 2010, 80,07 hectares of Atlantic rainforest were transformed in a Botanical Garden by Federal University of Juiz de Fora (Juiz de Fora/Minas Gerais/Brazil). To achieve the objectives set out in the creation of this Botanical Garden, of delineation, preservation and scientific knowledge of an Atlantic rainforest area, the UFJF scientific community mobilizing to find out the potential of the biodiversity of the newly acquired area. Aiming to contribute with this effort, and select species for later biological and chemicals studies, we are performing the screening of *cytotoxic activity* of organic extracts of plants of the Botanical Garden. The cytotoxic drugs research from natural products, has been one the most efficient method to discovery drugs to prevent and treat diseases like cancer.

METHODOLOGY

Twenty-seven plant species were collected in the UFJF Botanical Garden. The different parts of the plants were dried, ground and submitted to maceration with ethanol to produce 38 extracts. The MTT assay (Mosmann, 1983) was used to determine the anti-proliferative effect of these extracts in a panel of six tumor cells lines (HCT, MDA, MCF7, JURKAT, THP-1 and HL60) and one normal cell line (Vero). The ethanolic extracts were tested in concentrations of 20 mg/mL and 100 mg/mL.

RESULTS AND DISCUSSION

The ethanolic extract of *Casearia sylvestris* Sw. leaves, tested at 20 mg/mL, was cytotoxic against HL60 and Jurkat cells with 83 and 74% growth inhibition, respectively. But toxicity against normal cells (Vero) was observed. The 100 mg/ml extracts of *C. sylvestris* stems and *Vismia guianensis* leaves and stems inhibited the growth of HL60 cells over than 80% and 45% of Jurkat cells. In this concentration, toxicity against normal cells was not observed. The cytotoxicity against HL60 for *C. sylvestris* and MCF7 for *V. guianensis* extracts has already been reported (Carvalho et al, 2009; Suffredini et al, 2007), but the most lineages tested in this study were not used. Extracts at 100 mg / ml of stems of *Cupania emarginata*, *Jacaranda macrantha* and *Bombacopsis glabra* and leaves of *C. emarginata* inhibited the growth over 85% of HL60 and more than 70% of Jurkat cells, but all them showed toxicity for normal cells. The other extracts tested were inactive against all cell lineages used in this study.

CONCLUSION

Our results shown that *C.casearia* and *V.guianensis* extracts had cytotoxicity effect on tumor cells line (HL60 and Jurkat), however others biological tests have to be investigated about this plant extracts.

SUPPORT

CNPq

BIBLIOGRAPHY

1. MMA,2013.<http://www.mma.gov.br/publicacoes/biodiversidade/category/142-serie-biodiversidade>.
2. FERREIRA *et al*, *Chemico-Biological Interactions* (2010), 188(3), 497-504
3. MOSMANN, T. J. *Immunol. Method* (1983) 65, 55.
4. SUFFREDINI, I.B *et al*, *Fitoterapia* (2007), 78(3), 223-.6



VALORACIÓN *in vitro* DE *Bocconia frutescens* L (PAPAVERACEAE) CONTRA EL HONGO *Trichophyton rubrum*: COMPROBANDO LA MEDICINA TRADICIONAL

Suarez Lasso, E.

Universidad de Caldas, calle 58 No. 26-10, Manizales, Colombia; biologotropicalandino@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Trichophyton rubrum es el principal hongo causante de dermatomicosis humana, contra éste se han utilizado fármacos sintéticos con presentan efectos colaterales y además su eficacia es variable. Los extractos de *Bocconia frutescens* son usados en la medicina popular para casi todo tipo de dermatitis infecciosa, en este estudio se muestra la evaluación antifúngica *in vitro* de tres estructuras (hoja, semilla, tallo y control con concentraciones (ppm) 25.000, 12.500, 6.250 y 3125).

METODOLOGÍA

Los extractos se obtuvieron mediante extracción soxhlet utilizando como disolvente etanol al 95%, el medio de cultivo agar P.D.A, se inoculó el hongo en el centro de cada caja petri para medir el crecimiento del diámetro durante 15 días. Para la evaluación de datos se realizó la prueba Kruskal- Wallis para determinar si las réplicas son estadísticamente iguales con nivel de confianza del 95% el valor $P=0.374$, aceptando la igualdad estadística.

RESULTADOS

ANOVA muestra los efectos significativos sobre la variable respuesta (crecimiento de *T. rubrum*) en un 95% $p=0.000$ mostrando varianza significativa entre tratamientos, en el análisis de varianza multifactor para la interacción entre concentraciones y tratamientos se rechazó la hipótesis nula $P\text{-value}=0.7555$ mostrando que no hay varianza significativa entre tratamientos de hoja y semilla. La DL50 muestra letalidad de *Bocconia frutescens* sobre el 50% de *T. rubrum* en el décimo día fue para semilla 0.014525 g/ml, para tallo 0.011203 g/ml y para hoja 0.015436 g/ml.

CONCLUSIONES

Estos resultados permiten proponer a esta especie como una fuente potencial de compuestos antimicóticos y debe ser sometida a nuevos bioensayos.

PALABRAS CLAVE

Bocconia frutescens L., contexto cultural, etnobotánica, medicina.



PHYTOCHEMICAL PROFILE, ANTILEISHMANIAL, ANTIPROLIFERATIVE AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF *Lacistema pubescens*

Silva J. M.¹, Antinarelli L. M. R.², Coimbra E. S.², Souza Fagundes E.M.³, Ribeiro A.¹, Scio E.¹

1. Bioactive Natural Products Laboratory, Department of Biochemistry, Biological Sciences Institute, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036 900, Brazil; elita.scio@ufjf.edu.br

2. Department of Parasitology, Microbiology and Immunology, Biological Sciences Institute, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brazil

3. Department of Physiology and Biophysics, Biological Sciences Institute, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

INTRODUCTION

Originally from Brazil, *Lacistema sp* Mart. (Lacistemataceae) is widely distributed in other countries of South America. In Brazil, "sabãozinho" and "café", are some of the popular names found for this genre tree, traditionally used by indigenous people in Amazon and Peru to treat rheumatism, vomiting, dysentery, fever and body aches (Di Stasi and Hiruma-Lima, 2002; Barbosa & Pinto, 2003; Roumy et al., 2007). The present study was conducted to evaluate the *in vitro* antibacterial, antiproliferative and antileishmanial properties and to determine the phytochemical profile of *L. pubescens*.

METHODOLOGY

The dried leaves were powdered and macerated with methanol. The crude extract, after removal of solvent, was dissolved in MeOH-H₂O (8:2) and fractionated to generate hexane, CH₂Cl₂, EtOAc and the remaining hydromethanolic fractions. A portion of each sample that was subjected to biological screening was used for the identification of the major secondary metabolites employing the protocols described by Matos (1997). The antileishmanial activity and antiproliferative was determined by colorimetric 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetra-zolium bromide (MTT) method (Mossman, 1983). The minimal inhibitory concentration (MIC) of crude extract and fractions was determined using the broth micro-dilution technique as described by NCCLS (2002).

RESULTS AND DISCUSSION

The leishmanicidal activity was observed in *Leishmania amazonensis*, *L. major*, *L. braziliensis* and *L. chagasi* promastigotes. Hexane fraction showed the most significant IC₅₀ against the four species tested. For the antiproliferative activity, crude extract, hexane and CH₂Cl₂ fractions were active for HL60 and only CH₂Cl₂ fraction was active for Jurkat tumor cell lines. Antimicrobial activity was evaluated against seven clinically significant bacteria. The best response was for the fraction with MIC values of 125 µg/mL, as follows: CH₂Cl₂ fractions for *Enterococcus faecalis*; EtOAc and hydromethanol fraction for *Enterobacter cloacae*. Phenols, flavonoids, coumarins, saponins, steroids and alkaloids were found in the crude extract as well CH₂Cl₂ fractions. Steroids and alkaloids in the hexane fraction. EtOAc and fractions were found phenols, flavonoids, coumarins, saponins and antraquinones.

CONCLUSION

The results were encouraging, as *L. pubescens* showed potential leishmanicidal and antiproliferative activity.

SPONSORS

This work was supported by the grants from FAPEMIG, CAPES and CNPq.

BIBLIOGRAPHY

1. Barbosa, W.L.R.; Pinto, L.N. 2003. Documentação e valorização da fitoterapia tradicional Kayapó nas aldeias A'Ukre e Pykanu - sudeste do Pará, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13:47-49
2. Di Stasi, L.C.; Hiruma-Lima, C.A. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. 2 ed. São Paulo: Editora UNESP, 2002. 592 p.
3. Matos, F.J.A. 1997. *Introdução à Fitoquímica Experimental*, EUFC, Fortaleza, Brazil.
4. Mossman, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, *Journal of Immunological Methods* 65:55–63.
5. NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing*; Twelfth informational supplement M100-512, vol. 22, nº 01, 2002.
6. Roumy, V.; Garcia-Pizango, G.; Gutierrez-Choquevilca, A.L.; Ruiz, L.; V. Jullian, V.; Winterton, P.; Fabre, N.; Moulis, C.; Valentin, A. 2007. Amazonian plants from Peru used by Quechua and Mestizo to treat malaria with evaluation of their activity *Journal of Ethnopharmacology*, 112:482-489.



ANTINOCICEPTIVE ACTIVITY OF THE CRUDE EXTRACT OF *Pereskia aculeata* MILLER LEAVES

Pinto, N. C. C.¹; Duque, A.P. N.¹; Motta, E. V. S.¹; Bellozi, P. M. Q.¹; Mendes, R. F.¹; Ribeiro. A¹.; **Scio, E.**^{1*}

1. Bioactive Natural Products Laboratory, Department of Biochemistry, Biological Sciences Institute, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036 900, Brazil *elita.scio@ufjf.edu.br

INTRODUCTION

Pereskia aculeata Miller is a climbing cactus naturally distributed from south to northeast of Brazil, where its succulent leaves are commonly used by natives as a vegetable because of their high nutritional value. There are reports that leaves of *P. aculeata* are also used in Brazilian folk medicine as emollients, in skin wound healing, and to treat inflammation (Sartor et al., 2010). This study aimed to evaluate the antinociceptive activity of the crude extract of *P. aculeata* leaves.

METHODOLOGY

The dried leaves of *P. aculeata* were powdered and extracted by maceration with methanol. The extract was concentrated on a rotatory evaporator to obtain the crude methanol extract (CME), which was resuspended in water/methanol (8:2 v/v). Then, it was evaluated the antinociceptive activity of CME 100 mg/kg in mice performing the acetic acid-induced writhing test (Koster, 1959). Indomethacin 10 mg/kg was used as reference drug. All solutions were prepared in saline with Tween 80 12% and administered orally at 10 mL/kg. The groups consisted of 6-8 animals.

RESULTS / DISCUSSION / CONCLUSION

The acetic acid-induced writhing test showed that CME 100 mg/kg has remarkable antinociceptive activity reducing by 75% the number of writhing when compared to vehicle. The leaves of *P. aculeata* are very rich in tryptophan, the precursor of serotonin, a neurotransmitter involved in inhibition of pain transmission (Millan, 2002; Takeiti et al., 2009). Indol alkaloids in plants are synthesized from this amino acid, which are very similar to serotonin in terms of chemical structure and biological activities (Dewick, 2002). Thus, it is possible that these constituents may be contributing to the antinociceptive effect found for CME. Moreover, this study showed that the leaves of this species are not only a vegetable of high nutritional value, but are also endowed with chemical constituents with analgesic potential.

SPONSORS

This work was supported by the grants from FAPEMIG, CAPES and CNPq.

BIBLIOGRAPHY

- Dewick PM, 2002. Medicinal natural product: a biosynthetic approach. 2nd edition, Chichester: John Willey & Sons Ltd. 507p.
- Koster R, Anderson M, de Debeer EJ, 1959. Acetic acid for analgesic screening. Federation Proceedings, 18, pp412-418.
- Millan MJ, 2002. Descending control of pain. Progress in Neurobiology, 66, pp355-474.
- Sartor CFP, Amaral V, Guimarães HET, Barros KN, Felipe DF, Cortez LER, Veltrini VC, 2010. Estudo da ação cicatrizante de folhas de *Pereskia aculeata*. Revista Saúde e Pesquisa, 3(2), pp149-154.
- Takeiti CY, Antônio GC, Motta EMP, Collares-Queiroz FP, Park KJ. 2009. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). International Journal of Food Sciences and Nutrition, 60, pp148-160.



STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS

Aragão, D.M.O¹; Assis, C.M.¹; Fernandes, M.F.¹; **Scio, E.^{1*}**

1. Bioactive Natural Products Laboratory, Department of Biochemistry, Biological Sciences Institute, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036 900, Brazil. *elita.scio@ufff.edu.br

INTRODUCTION

Cecropia pachystachya Trécul, popularly known as “embaúba”, is accepted in herbal medicine as a dietary supplement, used for treating cough and asthma, and also as cardiogenic, diuretic and hypoglycemic (Soraru and Bandoni, 1978; Lorenzi and Matos, 2002; Aragão et al., 2010). The present study focused to investigate the hypoglycemic and antioxidant effects of ethyl acetate extract from the leaves of *Cecropia pachystachya* and also its phytochemical profile.

METHODOLOGY

The hypoglycemic effect of the extract was tested in normal, glucose loading and streptozotocin-induced diabetic rats. The antioxidant activity was assessed by DPPH free radical scavenging (Govindarajan et al., 2003) and reduction power assays (Oyaizu, 1986). The total amount of phenolic and flavonoids compounds was determined by Folin-Denis (Duh and Yen, 1997) and AlCl₃ reagent method (Miliauskas et al., 2004), respectively. The qualitative composition of the extract was analyzed using a HPLC-DAD system.

RESULTS/DISCUSSION/ CONCLUSION

The glucose tolerance test demonstrated that basal glycemia remained high in the diabetic control group, whereas metformin caused a reduction of blood glucose (30%) after 6 h. However, in diabetic rats, the extract of *C. pachystachya* caused a significant hypoglycemic effect throughout the period studied, reaching glycemic levels below 128 mg/dL after 6 h with a blood glucose reduction of 50% when compared to the respective zero time. The extract also presented relevant antioxidant activity with IC₅₀ = 1.93 mg/mL (DPPH assay) and EC₅₀ = 0.71 mg/ml (reducing power). Results were compared with the reference antioxidants quercetin, rutin, and ascorbic acid. The content of flavonoids was 65 mg/g plant and of phenolics was 561.2 mg/g plant. Chlorogenic acid and the C-glycosylated flavones, orientin and isoorientin, may explain these activities.

SPONSORS

This work was supported by the grants from FAPEMIG, CAPES and CNPq.

BIBLIOGRAPHY

- Aragão, D.M.O.; Guarize, L.; Lanini, J.; Costa, J.C.; Garcia, R.M.G.; Scio, E. 2010. Hypoglycemic effects of *Cecropia pachystachya* in normal and alloxan-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 128: 629-633.
- Duh, P. D.; Yen, G. C. 1997. Antioxidative activity of three water extracts. *Food Chem.* 60: 639-645.
- Govindarajan, R.; Rastogi, S.; Vijayakumar, M.; Shirwaikar, A.; Rawat, A. K. S.; Mehrotra, S.; Pushpangadan, P. 2003. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gangeticum*. *Biol. Pharm. Bull.* 26: 1424-1427.
- Lorenzi, H.; Matos, F. J. A. 2002. *Plantas medicinais do Brasil*, 1st ed. Nova Odessa. Instituto Plantarum, São Paulo.
- Miliauskas, G.; Venskutonis, P. R.; Van-Beek, T. A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and plant extracts. *Food Chem.* 85: 231-237.
- Oyaizu, M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn. J. Nutr.* 44: 307-315.
- Soraru, S. B.; Bandoni, A. L. 1978. *Plantas de la medicina popular Argentina*. Albatros, Buenos Aires.



DETECCIÓN Y EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA DE *Solanum hispidum*

Rodolfo Velasco Lezama, Ma. Verónica Ortiz Monroy, Elisa Vega Avila

Laboratorio de Microbiología. Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D. F., 09340

INTRODUCCIÓN

En la medicina tradicional mexicana se emplea *Solanum hispidum* para el tratamiento de heridas, gastritis, anemia, úlceras e infecciones cutáneas o gastrointestinales. El objetivo de este trabajo fue detectar y evaluar actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos orgánicos y acuoso de las hojas de *S. hispidum* mediante los métodos de difusión (Kirby-Bauer) y de las diluciones.

METODOLOGÍA

Cien gramos de hojas pulverizadas se maceraron consecutivamente 24 horas a temperatura ambiente en hexano, cloroformo, metanol o agua. Los disolventes orgánicos se eliminaron en rotavapor y el extracto acuoso fue liofilizado. Dos gramos de éste fueron disueltos en 200 ml de agua y fraccionados con 200 ml de hexano, acetato de etilo y cloroformo. Se realizó un examen fitoquímico preliminar. Se prepararon concentraciones de 1,10 y 100 µg/mL en dimetilsulfóxido para el método de difusión y concentraciones de 10, 15, 20 y 25 mg/mL para el método de las diluciones. Las bacterias empleadas fueron *Escherichia coli* ATCC8739, *Escherichia coli* SOS, *Proteus mirabilis* NCTC2896, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 y *Bacillus subtilis* y las levaduras *Candida albicans*, *Candida tropicalis* y *Cryptococcus neoformans*. Las bacterias se sembraron en Agar-Mueller-Hinton y las levaduras en Sabouraud Dextrosa Agar e incubadas 37° y 28 °C durante 24 horas, respectivamente.

RESULTADOS

Estudio fitoquímico. En los extractos metanólico y acuoso se reportaron taninos, azúcares y saponinas.

Método de Kirby Bauer: No se observó inhibición del crecimiento de bacterias ni de levaduras en las concentraciones ensayadas. Sin embargo, la fracción cloroformo-agua (V/V) en la concentración de 100 µg/mL inhibió a todas las bacterias. A su vez, el residuo acuoso inhibió a todas las bacterias en las concentraciones de 1,10 y 100 µg/mL.

Métodos de las diluciones: El extracto metanólico inhibió a *E. coli* SOS en todas las concentraciones empleadas y a *C. neoformans* con la concentración de 25mg/mL. El extracto acuoso (25 mg/mL) inhibió el crecimiento de todas las bacterias, excepto a *B. subtilis* a la que inhibió en todas las concentraciones ensayadas. Los extractos metanólico y acuoso (20 y 25 mg/mL) inhibieron el crecimiento de *C. neoformans*.

DISCUSIÓN

El extracto acuoso y su fracción residual afectan tanto a las bacterias gram positivas como gram negativas utilizadas, lo que pudiera implicar un mecanismo de citotoxicidad general. Propiedad asociada con algunas plantas del género *Solanum* debido a su alto contenido de saponinas, sapogeninas y compuestos polifenólicos. Es posible que los resultados obtenidos en el presente estudio estén relacionados con la presencia de dichos compuestos en los extractos, además de la susceptibilidad de cada una de las cepas bacterianas empleadas.

CONCLUSIONES

Debido a que la fracción residual inhibe el crecimiento de las bacterias gram positivas y gram negativas empleadas en el estudio, pudiera servir como fuente para el aislamiento e identificación de los compuestos responsables de la actividad antibacteriana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar A. (1994). Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. IMSS. México.
2. Walthm, U.I, el al.,(2001). *Planta Medica* 67: 49-54.
3. Alarcon-Aguilar F. et al., (2006). *Proc West Pharmacol Soc* 49: 51-54.



EFFECTO DE *Justicia spicigera* SOBRE LA HEMATOPOYESIS EN RATONES CON HIPOPLASIA MEDULAR

Sara Herrera Solís¹, Rafaela Tapia Aguilar¹, José Luis Flores Sáenz², **Rodolfo Velasco Lezama¹**

1. Laboratorio de Hematología Experimental, Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D. F. 09340
2. Laboratorio de Farmacología. Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D. F. 09340

INTRODUCCIÓN

La producción de células sanguíneas puede ser modificada por agentes físicos, químicos o biológicos que causan alteraciones proliferativas de la médula ósea como la hipoplasia medular, provocando disminución en la concentración de plaquetas, eritrocitos y leucocitos por debajo de su nivel normal y con ello deficiencia en los mecanismos de defensa inmunológica específica e inespecífica del individuo afectado. Como alternativa terapéutica, algunos pacientes utilizan plantas con propiedades medicinales. Entre ellas, *Justicia spicigera* (muñile), planta que en México es frecuentemente empleada contra la anemia. El objetivo de este trabajo fue inducir hipoplasia medular en ratones y determinar la capacidad del extracto acuoso de *Justicia spicigera* para restablecer la hematopoyesis en ellos.

METODOLOGÍA

Se emplearon 50 ratones macho CD₁ de nueve semanas de edad distribuidos en los grupos 1, 2, 3, 4 y 5 con diez animales cada uno. A los grupos 1, 2 y 3 se les indujo hipoplasia medular mediante dos dosis de 250 mg/kg de ciclofosfamida. El grupo 1 sirvió como control positivo de inducción de hipoplasia, los ratones de los grupos 2 y 3 fueron tratados con tres dosis de 0.2 g/kg de la decocción de *Justicia spicigera* o de Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos-Macrófagos (FEC-GM), vía subcutánea, en días alternados, respectivamente. El grupo 4 sirvió como control sano y recibió bajo el mismo esquema decocción de la planta, al grupo 5 se le administró solución salina fisiológica vía intragástrica. El día once del experimento todos los animales fueron sangrados y se les realizó una citometría hemática en un analizador hematológico automatizado. Se aisló el fémur y se cuantificaron las células nucleadas totales. Los resultados fueron analizados con las pruebas de Turkey Kramer y de Fisher con un nivel de significancia $p < 0.05$ utilizando el programa estadístico NCSS2001.

RESULTADOS

Los grupos 1, 2 y 3 presentaron los signos clínicos de hipoplasia medular. En los ratones del grupo 2 se observó disminución en la cuenta de eritrocitos y parámetros eritroides (hemoglobina, hematócrito y reticulocitos) e inversión de la relación linfocitos-neutrófilos. Los ratones tratados con FEC-GM restablecieron los valores normales de eritrocitos y de leucocitos. La decocción de la planta administrada a los ratones sanos no modificó la concentración de elementos sanguíneos.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

J. spicigera es ampliamente recomendada en la medicina tradicional mexicana contra diferentes tipos de anemia, la cual es resultante de la hipoplasia medular de diversa etiología. En estudios previos de nuestro grupo, la decocción de las partes aéreas de la planta estimuló la proliferación *in vitro* de células de bazo y de médula ósea de ratones sanos. Sin embargo, en el presente trabajo la decocción no estimuló la hematopoyesis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Storb R. et al. (2001). Biol. Blood Marrow Transplant. 7: 39-44.
2. Aria, F. & Suda T. (2007). Ann. Rev. N. Y. Acad. Sci. 1106: 41-53.
3. Déciga-Campos M. et al. (2006). J. Ethnopharmacol. 110: 334-342.



ANTISPASMODIC EFFECTS AND PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF *Helichrysum italicum* (ROTH) DON ssp. *italicum*

Daniela Rigano¹, Carmen Formisano¹, Filomena Oliviero¹, Felice Senatore¹, Sonia Piacente², Ester Pagano¹, Raffaele Capasso¹, Francesca Borrelli¹, Angelo A. Izzo¹

1. Department of Pharmacy, University of Naples "Federico II", Via D. Montesano, 49, I-80131 Naples, Italy

2. Department of Pharmaceutical Sciences, University of Salerno, via Ponte Don Melillo – 84084 Fisciano, Salerno, Italy

INTRODUCTION

The genus *Helichrysum* consists of a few hundred species widespread throughout the world, but particularly distributed from the lower-meso-Mediterranean to the lower-sub-humid bioclimatic environments. Almost 25 species of *Helichrysum* are native of Mediterranean area, eight belonging to Italian Flora. *H. italicum* ssp. *italicum*, is a dwarf aromatic shrub, up to 40–50 cm high, with yellow flowers, growing on dry cliffs and sandy soil. *H. italicum* is a prolific producer of a host of secondary metabolites presumably responsible for the remarkable biological properties showed by different extracts of the plant. In the Mediterranean Area, the flowers of *Helichrysum italicum* ssp. *italicum* are a traditional remedy for the treatment of intestinal complaints and are used as herbal tea for curing digestive, stomachic and intestinal diseases. In order to find scientific evidence for the traditional utilization of this plant, the effect of *H. italicum* ssp. *italicum* extract was investigated by using *in vivo* and *in vitro* experimental models. Then, through bioassay-guided fractionation procedures, the active components were identified.

MATERIAL AND METHODS

Flowers of *H. italicum* ssp. *italicum* were collected in July 2007 in San Potito Sannitico loc. Sardarulo (CE, Southern Italy). Air-dried and powdered flowers of *H. italicum* were soaked with EtOH three times at room temperature for 12 h. The ethanol extract, concentrated under vacuum, afforded 18 g of a glassy material and was subjected to a Kupchan's partition procedure. Three extracts were obtained: *n*-hexane, CHCl₃ and *n*-BuOH. All the extracts were submitted for biological testing. Contractility *in vitro* was evaluated by stimulating the isolated ileum, in an organ bath, with acetylcholine and barium chloride; motility *in vivo* was evaluated by measuring upper gastrointestinal transit, both in control mice and in mice with experimental intestinal inflammation induced by croton oil. Chromatographic separation techniques such as HPLC and silica gel columns have yielded the active principles of *H. italicum*.

RESULTS AND DISCUSSION

We found that an ethanolic extract of *H. italicum* ssp. *italicum* flowers elicited antispasmodic actions in the isolated mouse ileum and inhibited transit preferentially in the inflamed gut. A bioassay guided fractionation of the extract yielded the known compounds 12-acetoxytremetone and 2,3-dihydro-2-[1-(hydroxymethyl)ethenyl]-5-benzofuranyl]-ethanone. The ability of the EtOH extract, at doses which were ineffective in healthy mice, to normalize intestinal motility in an experimental model of intestinal inflammation, is clinically relevant because the only drugs currently available to counteract motility changes in inflammatory bowel disease are often associated with constipation. Furthermore, the synergistic effect observed among the two chemical identified components from *H. italicum* extract highlights the concept that its biological activity is more than the simply algebraic sum of its chemical components.

CONCLUSIONS

The present results, by showing the inhibitory effect of *H. italicum* extract and isolated compounds on intestinal motility, not only justify the traditional use of the herb for the cure of digestive ailments, but are also of potential clinical interest for inflammatory bowel disease.

REFERENCES

1. Angioni, A., Barra, A., Arlorio, M., Coisson, J.D., Russo, M.T., Pirisi, F., Satta, M.M., Cabras, P., 2003. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 1030-1034.
2. Nostro, A., Cannatelli, M.A., Musolino, A.D., Procopio, F., Alonzo, V., 2002. *Letters in Applied Microbiology*. 35, 181-184.
3. Sala, A., Recio, M.C., Giner, R.M., Máñez, S., Rios, J.L., 2003. *Journal of Natural Products*. 64, 1360-1362.
4. Tagliatela-Scafati, O., Pollastro, F., Chianese, G., Minassi, A., Gibbons, S., Arunotayanun, W., Mabebie, B., Ballero, M., Appendino, G., 2013. *Journal of Natural Products*. 76, 346-353.



EFFECTO DEL BSS-4, UN DERIVADO DE DIOSGENINA, SOBRE LA MORFOLOGÍA NEURONAL DE CÉLULAS PIRAMIDALES DEL HIPOCAMPO DORSAL DE RATA EN UN MODELO NEUROTÓXICO

Rosalba Trejo Cruz¹, Isabel Martínez García¹, Félix Luna Morales², María Antonieta Fernández Herrera³, Jesús Sandoval Ramírez³

1. Laboratorio de Neuroquímica, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 72570 Puebla, México; trejo_cruzrosalba@hotmail.com

2. Laboratorio de Neuroendocrinología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 72570 Puebla, México

3. Laboratorio de Síntesis y Modificación de Productos Naturales, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 72570 Puebla, México

INTRODUCCIÓN

Evidencias experimentales indican que el uso de diosgenina en modelos *in vivo* tiene un efecto antiinflamatorio, antioxidante, anticancerígeno^{1,2,3} y que disminuye el daño cognitivo evaluado en ratones seniles.⁴ Modificaciones estructurales en una determinada molécula pueden originar importantes cambios en sus propiedades farmacológicas y así ha sucedido con la diosgenina, la cual ha sido transformada en el triacetato de 22-oxocolest-5-en-3,16,26-triilo (BSS-4), compuesto empleado en un modelo de lesión excitotóxica en rata con la finalidad de determinar su efecto sobre la morfología dendrítica de las células piramidales del hipocampo dorsal.

METODOLOGÍA

Para este experimento, grupos independientes fueron administrados vía intracerebral (ic), a través de cirugía estereotáxica, bilateralmente con 1 µl de ácido kaínico (AK) (100 ng) en el hipocampo dorsal (AP=-3.8, ML=±2.6, DV=-2.5). Después de 30 minutos de la administración de AK, los animales recibieron una inyección de BSS-4 vía intraperitoneal (ip) en tres diferentes dosis (0.5, 0.25 y 0.125 mg/Kg). Los grupos control fueron administrados con solución salina isotónica (ic) y vehículo (ip) respectivamente. A las 48 horas después de la intervención quirúrgica los animales fueron sacrificados, perfundidos y los cerebros extraídos fueron sometidos a la tinción Golgi-Cox. El estudio morfológico comprendió el análisis de neuronas piramidales (n=18) del hipocampo dorsal determinando la longitud dendrítica total, el número de dendritas y la longitud del cuerpo neuronal. La longitud dendrítica total fue analizada con un ANOVA no paramétrica de Kruskal-Wallis, de comparaciones múltiples ($p < 0.05$). En todas las demás pruebas se ocupó un ANOVA paramétrica de un factor post-hoc Tukey ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Los resultados indican que las diferentes dosis de BSS-4 evitan que la arborización dendrítica y el número de dendritas disminuyan; dicha afectación es obtenida por un proceso de excitotoxicidad como la lesión causada por AK. Además, en las ratas tratadas con BSS-4 se apreció un decremento del diámetro del cuerpo neuronal indicando un posible efecto antiinflamatorio frente al modelo con AK.

CONCLUSIONES

Este estudio sugiere que el BSS-4 tiene un efecto neuroprotector y por ello están en ruta un mayor número de estudios.

BIBLIOGRAFÍA

1. Turchan-Cholewo, J. et al. (2006). Increased vulnerability of ApoE4 neurons to HIV proteins and opiates: Protection by diosgenin and L-deprenyl. *Neurobiology of Disease*, 23(1), 109-119.
2. Kang, T. H. et al. (2011). Diosgenin from *Dioscorea nipponica* ameliorates diabetic neuropathy by inducing nerve growth factor. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34(9), 1493-1498.
3. Pari, L. et al. (2012). Beneficial role of diosgenin on oxidative stress in aorta of streptozotocin induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 691(1-3), 143-150.
4. Chiu, C. S., et al. (2011). Diosgenin ameliorates cognition deficit and attenuates oxidative damage in senescent mice induced by D-galactose. *The American Journal of Chinese Medicine*, 39(3), 551-563.



EFFECT OF *Arthrospira (spirulina) maxima* ON MITOMYCIN-C INDUCED GENOTOXICITY IN MICE

Germán Chamorro-Cevallos¹, Nicole Pages Despau², Leticia Garduño-Siciliano¹, Gabriela Gutiérrez Salmeán³

1. Departamento de Farmacia¹, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México D.F., México
2. Laboratoire de Toxicologie, Faculté de Pharmacie of Strasbourg, Strasbourg, France
3. Laboratorio de Investigación Integral Cardiovascular, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, México D.F.

INTRODUCTION

Arthrospira (Spirulina) maxima (AM) is a plankton blue-green filamentous alga or cyanobacterium. This cyanobacterium represents an important staple diet in humans as a source of protein, vitamins, essential amino acids, minerals, essential fatty acids and sulfolipids. It also contains phenolic acids, tocopherols and phycocyanin, that are known to exhibit antioxidant properties (1). Many AM pharmacological activities have been previously described by some authors (2, 3). Recently evidence was published about the effectiveness of SP against teratogenicity induced by hydroxyurea (4) and against cancer in humans and animals (5). These properties could be due in part to the antioxidant capacity of the algae as a whole, its protean and water extracts or bioactive components (such as phycocyanin) (6). The aim of this study was to investigate the antimutagenic effects of AM on male and female mice by the dominant lethal test using mitomycin-C (MMC) as a mutagen on male and female mice.

METHODOLOGY

Male and virgin female CF1 mice, 9-10 weeks old, were used. The animals were housed in polycarbonate cages in an air-conditioned room (22 ± 1°C, 50-60% relative humidity) with a photoperiod of 12 h, from 08:00 to 20:00 hours; they were fed purina rodent lab chow and tap water *ad libitum*. All the animals were acclimatized for at least 7 days prior to use. AM was orally administered at 0, 200, 400 or 800 mg/kg body weight to mice of both sexes for 2 weeks before starting the MMC i.p. injection at 1 mg/kg of body weight for 5 consecutive days. For the male dominant lethal test, each male was caged with 2 untreated females per week for 3 weeks. For the female-dominant lethal test each female was caged for one week with one untreated male. All the females were evaluated 13-15 days after mating for incidence of pregnancy, total *corpora lutea*, total implants and pre- and post-implant losses.

RESULTS AND DISCUSSION

All the three doses of AM protected from MMC induced pre- and post-implant losses in the male dominant lethal test, and from MMC-C induced post-implantation losses in treated females. Our results illustrate the protective effects of SP in relation to B[α]P-induced genetic damage to germ cells.

CONCLUSIONS

It was suggested that AM, is a promising agent as a functional food for the prevention of cancer or prevention. This suppressing ability could be due to its antioxidant constituents. However further investigations on its effectiveness and mechanisms of action are warranted before recommending AM for the treatment of this disease.

SUPPORT

This work was supported in part by the grant 708555, Secretaría de Investigación y Postgrado, Instituto Politécnico Nacional., México.

REFERENCES

1. *Spirulina* in Human Nutrition and Health. M.E. Gershwin and A. Belay (Eds.), CRC Press. 2008; pp.101-151.
2. Karkos PD et al. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2010, doi: 10.1093.
3. Khan Z et al. Curr Pharm Biotech 2005;6:373-379
4. Vázquez-Sánchez J, et al. Food Chem Toxicol 2009;47:2785-2789.
5. Szumiło J et al. Pol Merkur Lekarski. 2012;32:138-142.
6. Riss J et al. J Agr Food Chem 2007;55:7962-7967.



EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y DE LA MUTAGENICIDAD DE EXTRACTOS DE LOS CLADODIOS DE *Opuntia santa-rita*

Mary Carmen Cortés-Acosta¹, Myriam Arriaga-Alba³, Cynthia Ordaz-Pichardo²,
Blanca Estela Barragán-Huerta¹

1. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México (IPN), D.F. Av. Wilfrido Massieu s/n, Unidad Profesional Adolfo López Mateos. C.P. 07738. Tel (55)-57296000 Ext 52310.
2. Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía. IPN. Guillermo Massieu Helguera No. 239. Fracc. La Escalera, Ticomán. C.P. 07320.
3. Hospital Juárez de México, Avenida IPN No. 5160, Colonia Magdalena de las Salinas, México, DF 07760, México; bbarraganh@ipn.mx

INTRODUCCIÓN

El género *Opuntia* ha ganado una gran importancia económica, es una fuente de frutos y vegetales para propósitos nutricionales, médicos y cosméticos, en la medicina tradicional es utilizado por sus propiedades anti-diabéticas y anti-inflamatorias. Estas propiedades se han relacionado con la capacidad antioxidante de algunos constituyentes químicos, entre ellos compuestos polifenólicos y pigmentos.

En el presente trabajo se evaluó la actividad antioxidante de los extractos de los cladodios de *O. santa-rita* y se analizó su efecto mutagénico utilizando la prueba de AMES. La utilización de las cepas de TA98, TA100 y TA102 de *Salmonella typhimurium* indican si un compuesto es mutagénico por corrimiento de formato, sustitución de pares de bases o por acción de radicales libres respectivamente. La presencia de un activador metabólico S9 de hígado de rata, indica si el compuesto de prueba podría generar metabolitos secundarios mutagénicos, cuando se encuentra en un organismo vivo.

METODOLOGÍA

Los cladodios de *Opuntia santa-rita* se colectaron en el Estado de Sonora (México), se limpiaron, cortaron y liofilizaron. Las muestras se guardaron en congelación a -20°C hasta su análisis.

Para la determinación de la actividad antioxidante, se dispersó 1 g de muestra en 1 mL de disolventes de diferente polaridad (agua, metanol, acetona, acetato de etilo y hexano). Posteriormente, se prepararon diluciones (1:5, 1:10, 1:25, 1:50 y 1:100) y a una alícuota de 30 µL se le adicionaron 1.5 mL de radical ABTS, la mezcla se homogeneizó por 6 min y se leyó en un espectrofotómetro a 734 nm. El control utilizado fue metanol. Se calculó el porcentaje de inhibición y la EC₅₀ (concentración efectiva 50), (Sacchetti et al., 2008).

Para determinar si alguno de los extractos presentaba mutagenicidad, se realizó la Prueba de Ames.

Se mezcló 1 g de cladodios en polvo con 5 mL de metanol o agua. Se colocaron diferentes cantidades de extracto en presencia y ausencia del activador metabólico S9 (1%) (1 y 30 ug/placa) en placas Petri con agar Vogel-Bonner e histidina (0.02 mL-0.5 nM) y se mezclaron con cultivos de *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100 y TA102). Las placas se incubaron por 48 horas a 37°C y se contaron las revertantes espontáneas (Ames, 1973).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los extractos de los cladodios de *Opuntia* mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en su actividad antioxidante con valores de CE₅₀ de 4.0 a 6.0 mg mL⁻¹. Los extractos con hexano y acetona mostraron la mayor inhibición del radical ABTS.

Ninguno de los compuestos evaluados mostró valores que duplicaran el número de colonias revertantes solos o con el activador S9, por lo que se considera que nos son mutagénicas.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que los cladodios de *Opuntia santa-rita* son fuente de antioxidantes y que los extractos no presentan mutagenicidad por el ensayo de Ames, lo cual indica que estos extractos pueden ser seguros para su uso en otras ensayos biológicos.

FINANCIADORES

Agradecemos el apoyo del CONACyT y al IPN (Proyecto SIP 20131865 y 20131135) por el apoyo económico brindado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sacchetti, G., Di Mattia, K., Pittia, P., Martino, G. Application of a radical scavenging activity test to measure the total antioxidant activity of poultry meat, *Meat Science* 132 (2008), pp. 213-234.
2. Ames, B.N., Lee, L.D., Durston, W.E. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens, *Proceedings of Natural Academic Science* 70 (1973), pp. 782-786.



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD TRIPANOCIDA DE TRES ESPECIES VEGETALES *in vitro*

Rodríguez-Miranda Nancy Raquel¹, Hernández-De Jesús María De Lourdes², Aguilar-Figueroa Blanca Rosa¹, **Barragán-Huerta Blanca Estela³**

1. Departamento de Parasitología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Campus Casco de Santo Tomás, IPN, México D.F.; baguilarf@gmail.com
2. Depto. de Farmacia, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Campus Zacatenco, IPN, México D.F.
3. Depto. de Ingeniería de Sistemas Ambientales Escuela Nacional de Ciencias Biológicas Campus Zacatenco, Instituto Politécnico Nacional. Av. Wilfrido Massieu S/N, Unidad Profesional Adolfo López Mateos CP 07738, México D.F.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, es una infección parasitaria causada por el protozooario *Trypanosoma cruzi*; transmitida por hemípteros del género *Triatoma*. La quimioterapia está restringida a dos compuestos nitroheterocíclicos: el benznidazol y el nifurtimox; ambos fármacos son tóxicos y para su tratamiento es necesario administrarlos por largo tiempo, sirviendo solamente para la fase aguda de la enfermedad. En este sentido, se hace necesario encontrar nuevas sustancias con actividad tripanocida, con menores efectos colaterales, que permitan el desarrollo de tratamientos más cortos y con efectividad en las diferentes cepas del parásito. En este trabajo se evaluó la actividad tripanocida de tres extractos vegetales clorofórmicos *in vitro* sobre tripomastigotes sanguíneos de las cepas INC-5 y NINOA de *T. cruzi*.

METODOLOGÍA

Se llevó a cabo la preparación de los extractos por maceración, los cuales se concentraron a presión reducida, hasta la eliminación del disolvente. A partir de un ratón inoculado con *T. cruzi* se determinó la parasitemia, obteniendo una concentración de 1×10^6 tripomastigotes sanguíneos/mL. En microplacas de 96 pozos se colocaron 195 μ L de sangre infectada, más 5 μ L de los extractos vegetales clorofórmicos disueltos en DMSO. Las plantas evaluadas fueron: *Phoradendron californicum* (Toji), *Krameria sonora* (Cosahui) e *Ibervillea sonora* (Huereque) (concentración final de 100, 50 y 10 μ g/mL). Se utilizó el Benznidazol como fármaco de referencia (control positivo) y como control negativo DMSO. Posteriormente se incubaron a 4 °C por 24 horas. La disminución en el número de tripomastigotes sanguíneos (porcentaje de lisis) se determinó por el método de Pizzi.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación mostraron que los extractos de las tres plantas evaluadas a la concentración de 50 μ g/ml presentan mayor actividad tripanocida sobre la cepa INC-5 de *T. cruzi* que el fármaco de referencia; mientras que para la cepa NINOA el extracto de *I. sonora* es el que presenta mayor efecto que el benznidazol a todas las concentraciones.

CONCLUSIONES

Los resultados de esta evaluación confirman que las especies vegetales podrían presentar un potencial antiparasitario. Cabe mencionar que uno de los extractos, al realizar su estudio de toxicidad en ratón resultó ser nefrotóxico. Por lo que es necesario aislar el compuesto responsable de la actividad tripanocida, y seguir realizando estudios de toxicidad al principio activo.

FINANCIAMIENTO

Coordinación General de Estudios de Posgrado e Investigación Clave 20131135.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brener Z. (1982), *Recent development in the field of Chagas' disease*. Bull WHO; 60: 463-473.
2. Kirchhof, LV. (2001). *Tripanosomiasis Americana (enfermedad de Chagas)*. Guerrant R, Walker D, Weller P. *Enfermedades infecciosas tropicales*. 1ª Edición. Elsevier science. Pág. 397.
3. Monteón V., Godínez S., Cruz Z., Balmes J., López R., Hernández O. 2009 Caracterización biológica de aislados mexicanos de *Tripanozama cruzi*: maticiclogénesis, parasitemis y resistencia contra benznidazol. Biomed. 20:206-214.
4. Santos K.A.; Matias E.; Sobral-Souza C.; Tintino S.; Morais-Braga M.; Guedes G.; Santos F.; Sousa A.; Rolón M.; Vega C.; Rojas de Arias A.; Costa J.; Menezes I. y Coutinho H.(2012). Trypanocide, cytotoxic, and antifungal activities of *Momordica charantia*. Pharmaceutical Biology. 50(2): 162-166.



ACTIVIDAD ANALGÉSICA DE HOJAS DE *Erythrina americana* MILLER (COLORÍN)

María Eugenia Garín-Aguilar¹, María de los Ángeles Cervantes-Flores, Axel Isaac Barragán, Jéssica Martínez Uribe, **Gustavo Valencia del Toro**²

1. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Av. de los Barrios Núm. 1. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla Edo. México. 54090, México; maragarin@yahoo.com

2. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, IPN. La Laguna Ticomán, D.F. 07340, México

INTRODUCCIÓN

Los fármacos analgésicos poseen una alta eficacia pero provocan efectos secundarios como esofagitis, úlceras, elevación de la presión arterial y/o lesión renal (AINEs); náuseas, vómitos, tolerancia y dependencia física (opioides). *Erythrina americana* Miller (colorín) es una planta mexicana cuyos "frutos" son aplicados en inflamaciones de brazos, piernas, cabeza y ojos. Vaporizaciones de la corteza o semilla molida se aplican en la mejilla para aliviar el dolor de muelas. Con la intención de corroborar el uso empírico descrito, en este estudio se evaluó la actividad analgésica del liofilizado de hojas de *Erythrina americana* Miller.

METODOLOGÍA

Para los modelos de placa caliente y la prueba de contorciones abdominales inducidas por ácido acético se usaron ratones macho CD-1 (20g-30g) distribuidos al azar en grupos independientes a los que se les administraron (v.o.) 100, 200 ó 400 mg/kg de liofilizado de hojas de *E. americana*. Para el modelo de inmersión de la cola se usaron ratas macho Wistar (150-200g) y se les administraron 400 mg/kg del liofilizado. Un grupo recibió 100 mg/kg de ácido acetil salicílico y otro el vehículo (destilada 10mL/kg). Los resultados se analizaron con una ANOVA de una vía y Duncan ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Con el modelo de placa caliente el efecto analgésico del liofilizado (200, 400 mg/kg) fue semejante al de la aspirina a los 90 min. También la analgesia generada por 400 mg de liofilizado en el modelo de inmersión de cola fue similar al de la aspirina. Estos modelos son específicos para el estudio del dolor central (Marchioro et al., 2005; Vasconcelos et al., 2003) ante una lesión somática provocada por un estímulo térmico. El modelo de contorciones provoca un dolor visceral ante estímulos químicos (González-Darder, 2000) y es sensible a fármacos de acción central y periférica (Aliaga et al., 2002). Los animales tratados con 3 dosis de extracto liofilizado de hojas de *E. americana* disminuyeron el número de contorciones de manera dependiente de la dosis. El liofilizado en dosis de 400 mg/kg redujo como el grupo de aspirina (100 mg/kg) el número de contorciones en 20 min. Los resultados obtenidos con estos modelos indican que en el efecto analgésico del liofilizado están implicados mecanismos centrales y periféricos. Estudios de aislamiento y purificación deben realizarse para dilucidar que compuestos presentes en los extractos que son los responsables de la actividad. También es necesario realizar ensayos utilizando naloxona para evaluar la participación del sistema opioide a nivel central.

CONCLUSIONES

El estudio presenta las primeras evidencias experimentales que corroboran el uso empírico de *Erythrina americana* como analgésico.

FINANCIAMIENTO

PAPCA 78 FES-Iztacala y PAPIIT IN212906 DGAPA-UNAM

BIBLIOGRAFÍA

1. Aliaga, L. & Catalá, E. (2003). Manual de tratamiento del dolor. Barcelona: Publicaciones Permanyer.
2. González-Darder, J. M. (2000). Modelos Animales del Dolor y Aspectos Éticos de la Experimentación Animal. *Revista Sociedad Española del Dolor*, 7:313-318.
3. Marchioro, M., Arrigoni, B. F., Veras, M. H. R. & Roberto, A. A. (2005). Anti-nociceptive Activity of the Aqueous Extract of *Erythrina velutina* Leaves. *Fitoterapia*, 76:637-642.
4. Vasconcelos, M. M. S., Reboucas, O. G., Mohana de Carvalho, M., Rodrigues, P. C. A., Rocha, S. E., Fonteles, F. M. M., Florenco, S. C. F. & Barros, V. S. G. (2003). Antinociceptive Activities of the Hydroalcoholic Extracts From *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in Mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 26(7):946-949.



EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE POLISACARIDOS DE CUERPOS FRUCTÍFEROS DE *Pleurotus* spp.

Cruz-Solorio Angélica¹, Valencia-del Toro Gustavo¹, Garín-Aguilar María Eugenia², Yañez Fernández Jorge¹, Durán Páramo Enrique¹

1. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, La Laguna Ticomán, D.F. 07340, México; gvovaltor@yahoo.com.mx
2. Facultad de Estudios Superiores Iztacala-UNAM, Av. de los Barrios Num. 1. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla Edo. Méx. 54090, México

INTRODUCCIÓN

Un número de componentes bioactivos han sido aislados de hongos incluyendo compuestos de moléculas pequeñas, polisacáridos, complejos proteína-polisacárido, proteínas, entre otros (Wasser, 2002). Estos componentes bioactivos se han convertido en fuentes populares de agentes naturales con actividad antioxidante, antitumoral, antiviral, antimicrobiana e inmunomodulatoria. Entre todos los componentes bioactivos de los hongos, los polisacáridos son los más investigados lo cual ha incrementado su interés farmacéutico (Wang et al., 2012). El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antioxidante y antibacteriana de extractos crudos de polisacáridos de cepas del género *Pleurotus*.

METODOLOGÍA

Se realizó el cultivo en sustrato paja y la obtención de cuerpos fructíferos de cuatro cepas: IE200, IE201, Caz Rosa y Tamazopo. Los cuerpos fructíferos se secaron y molieron para obtener extractos crudos de polisacáridos a los que se les cuantificó azúcares totales por el método de fenol-sulfúrico y el contenido de proteínas por el método de Bradford. Se evaluó actividad antibacteriana (Kirby Bauer y CMI) y antioxidante (DPPH) de los extractos crudos de polisacáridos. Posteriormente, los extractos crudos de polisacáridos fueron hidrolizados, para caracterizarlos por Cromatografía en Capa Fina (CCF), Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), Espectroscopia de Infrarrojo (IR) y Resonancia Magnética Nuclear (¹H RMN).

RESULTADOS

No hubo diferencias estadísticas significativas para la Eficiencia Biológica (16.20-22.42 %EB), Tasa de Producción (0.21-0.33 %TP), y Rendimiento (4.70-6.59 %R), pero si para el Peso medio (Pm) de las cuatro cepas trabajadas, para este parámetro, la prueba de rango múltiple de Duncan ($p < 0.05$) indicó la formación de dos grupos, siendo la cepa Caz Rosa la que obtuvo el mayor Pm (10.65 g) con respecto a las cepas IE200, IE201 y Tamazopo, con valores entre 3.51 y 5.19 g. La CCF indicó que los extractos crudos de polisacáridos, tienen entre sus componentes manosa, xilosa, arabinosa, maltosa y celobiosa. Los extractos crudos de polisacáridos, mostraron halos de inhibición sobre la cepa bacteriana *Salmonella typhi*. Los extractos que presentaron mayores halos de inhibición fueron los concentrados por evaporación (CE): Tamazopo (8.98 mm), IE200 (8.29 mm); seguidos de los extractos de polisacáridos concentrados por secado por aspersión (CSA): IE200 (7.54 mm), IE201 (7.73 mm), Tamazopo (7.26 mm) y Caz Rosa (6.79 mm). La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos probados fue mayor a 12 mg/mL.

CONCLUSIONES

Todos los extractos crudos de polisacáridos presentaron efecto antioxidante que va desde 63 % hasta 84 %, y una concentración en equivalentes de ácido gálico de 0.24 a 0.34 mg/mL.

FINANCIAMIENTO

Proyecto IPN-SIP: 20131354, Proyecto CONACyT: CB-2008-105683, ICYTDF: PICO12-096.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wang, Q., Li, H., Chen, T., & Han, J. (2012). Yield, polysaccharides content and antioxidant properties of *Pleurotus abalones* and *Pleurotus geesteranus* produced on asparagus straw as substrate. *Scientia Horticulturae* (134), 222–226.
2. Wasser S.P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60:258-274.



EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE CONCENTRADOS PROTEICOS DE CUERPOS FRUCTÍFEROS DE *Pleurotus* spp.

Cruz-Solorio Angélica¹, Valencia-del Toro Gustavo¹, Garín-Aguilar María Eugenia²,
Ramírez Sotelo Guadalupe¹, Robles Martínez Fabián¹

1. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, La Laguna Ticomán, D.F. 07340, México; gvovaltor@yahoo.com.mx
2. Facultad de Estudios Superiores Iztacala-UNAM, Av. de los Barrios Num. 1. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla Edo. Méx. 54090, México

INTRODUCCIÓN

Las proteínas son consideradas macromoléculas esenciales para la adecuada nutrición humana y debido a su estructura y composición de aminoácidos se han empleado con éxito en la industria alimentaria y farmacéutica. Los hongos comestibles presentan un importante contenido de proteínas, carbohidratos, vitaminas, minerales, fibra y son bajos en grasa. En los hongos se han encontrado nuevas proteínas con actividad biológica^(2,3) antioxidante, antitumoral, antiviral, antimicrobiana entre otras; por lo que pueden ser utilizadas en los procesos biotecnológicos y para el desarrollo de nuevos fármacos. El objetivo del presente trabajo fue obtener concentrados proteicos a partir de cuerpos fructíferos de cepas de *Pleurotus* spp. y evaluar su actividad antibacteriana.

METODOLOGÍA

Se cultivaron 3 cepas: parental de colección (PCM), parental comercial (POS) y una cepa híbrida obtenida a partir de ellas PCM₁xPOS₁, denominada PAPO. Los cuerpos fructíferos obtenidos del cultivo se deshidrataron para obtener harina, la cual, se desengrasó con hexano; posteriormente, se determinó el punto isoeléctrico de las proteínas de la harina y con estos datos se obtuvieron los concentrados proteicos⁽¹⁾ mediante dos etapas: solubilización y precipitación en medio ácido, se utilizaron diferentes valores de pH para cada una de las etapas. El contenido proteico se determinó por el método de micro Kjeldhal y el método de Kirby-Bauer permitió evaluar la actividad antibacteriana de los concentrados proteicos.

RESULTADOS

Los puntos isoeléctricos de las proteínas presentes en las harinas de las cepas PCM, POS y PAPO fueron 4.03, 4.15 y 3.96 respectivamente y los rendimientos máximos alcanzados a estos pH's fueron de 10.74, 11.96 y 12.3%. El contenido de proteínas de la harina de la cepa parental PCM fue de 21.35% y para la harina de cepa POS o PAPO de 24.4%; el contenido de proteína se incrementó a 48.8% en los concentrados proteicos de las tres cepas. Por otro lado, las bacterias Gram negativas: *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans* ATCC 27155 y *Klebsiella rhinoescleromatis*, fueron sensibles a los concentrados proteicos de las tres cepas fúngicas, alcanzando esta última bacteria, halos de inhibición hasta 16 mm.

CONCLUSIONES

El estudio evidenció la actividad antibacteriana de los concentrados proteicos de las cepas parentales e híbrida de *Pleurotus* spp. Deberá realizarse la purificación de las proteínas en los concentrados para determinar cuál o cuáles son las responsables del efecto antibacteriano.

FINANCIAMIENTO

Proyecto IPN-SIP: 20131354, Proyecto CONACyT: CB-2008-105683, ICYTDF: PICS012-096

BIBLIOGRAFÍA

1. Alobo, A. (2003). Proximate composition and functional properties of *Pleurotus tuberregium* sclerotia flour and protein concentrate. *Plant Foods for Human Nutrition*, 58:1–9.
2. Gogavekar, S., Rokade, S., Ranveer, R., Ghosh, J., Kalyani, D. and Sahoo, A. (2012) Important nutritional constituents, flavour components, antioxidant and antibacterial properties of *Pleurotus sajor-caju*. *J Food Sci Technol.*, DOI 10.1007/s13197-012-0656-5.
3. Wani, B., Bodha, B. and Wani, A. (2010) Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(24):2598-2604.



β -PINENO Y LINALOL, ANTIDEPRESIVOS NATURALES DE PLANTAS AROMÁTICAS: EVIDENCIA SOBRE LA PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA MONOAMINÉRGICO EN SU MECANISMO DE ACCIÓN

Guzmán-Gutiérrez S. L.¹, Bonilla-Jaime H.¹, **Gómez-Cansino R.**², Reyes-Chilpa R.²

1. Laboratorio de Farmacología Conductual, Dpto. Biología de la Reproducción, D.C.B.S., Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México, D.F. CP 09340, México

2. Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., México; chilpa@unam.mx

INTRODUCCIÓN

Recientemente se reportó la actividad antidepresiva del aceite esencial de *Litsea glaucescens*, planta aromática cuyo uso medicinal ha sido descrito en México desde la época de la conquista¹. Además, se identificaron dos de sus componentes activos, el β -pineno y el linalol, compuestos presentes en los aceites esenciales de otras plantas medicinales aromáticas, sin embargo se desconoce el mecanismo de acción mediante el que ejercen su actividad antidepresiva.

METODOLOGÍA

En este trabajo se exploró el mecanismo de acción antidepresivo del β -pineno y del linalol, utilizando como modelo la prueba nado forzado (PNF) en ratones ICR. Se utilizaron fármacos antagonistas a los receptores serotoninérgicos y noradrenérgicos, blanco de fármacos antidepresivos. Los monoterpenos se administraron (i.p.), 24 h, 18 h y 1 h antes de la prueba de evaluación. Los antagonistas fueron administrados 15 minutos antes del linalol o el β -pineno en, los mismos tiempos. Los antagonistas utilizados fueron: WAY100635 (5HT_{1A}, 0.1 mg/Kg), yohimbina (α_2 , 1 mg/Kg), prazosina (α_1 , 1 mg/Kg), propranolol (β , 2 mg/Kg), SCH23390 (D₁, 0.025 mg/Kg), PCPA (inhibidor de la síntesis de serotonina, 100 mg/Kg x 4) y DSP-4 (neurotoxina noradrenérgica, 50 mg/Kg, 7 días antes de la prueba).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El WAY 100535 y la yohimbina bloquean el efecto de linalol, sin embargo el PCPA y la prazosina no modifican la respuesta del este monoterpeno, lo que indica que el receptor serotoninérgico 5HT_{1A} y α_2 adrenérgicos están involucrados en el mecanismo de acción antidepresivo. Previos estudios demuestran que agonistas parciales a los receptores 5HT_{1A} como la bupiriona y gepirona tienen efecto antidepresivo. Un efecto similar se observó para el compuesto 8-hidroxí-2-(dipropilamino)tetralina (8-OH-DPAT), un agonista a los receptores 5HT_{1A}, sugiriendo que su efecto es a través de los receptores postsinápticos² cuando se administra previamente PCPA. Por lo que se sugiere que el linalol, al igual que varios fármacos antidepresivos, ejerce su acción a través de las vías serotoninérgicas y noradrenérgicas. Por otro lado, el efecto del β -pineno es bloqueado por el propranolol, el SCH23390, el WAY 100535 y el DSP-4 sin efecto con el tratamiento del PCPA y la prazosina, indicando que su acción antidepresiva podría ser a través de los receptores noradrenérgicos, además de ejercer su efecto a través del sistema dopaminérgico, lo cual no es ajeno a los fármacos antidepresivos ya que los antidepresivos tienen efecto dual.

CONCLUSIONES

La hipótesis monoaminérgica sobre la depresión postula que en esta enfermedad el proceso neuroquímico que se deteriora es la neurotransmisión monoaminérgica, lo que conlleva a una disminución en la concentración de serotonina, noradrenalina, y/o dopamina en el espacio extracelular³. Los resultados indican que la vía serotoninérgica y adrenérgica están involucrados en el mecanismo de acción del linalol y en el caso del β -pineno la noradrenérgica y dopaminérgica.

FINANCIAMIENTO

UAM, UNAM, ICyTDF y CONACYT

BIBLIOGRAFÍA

1. Guzmán-Gutiérrez SL, Gómez-Cansino R, García-Zebadúa JC, Jiménez-Pérez NC, Reyes-Chilpa R. 2012. *J. of Ethnopharmacol.* 143: 673-679.
2. Luscombe GP, Martin KF, Hutchins LJ, Gosden J, Heal DJ. 1993. *Br J Pharmacol.* 108: 669-77.
3. Schildkraut JJ. 1965. *Am. J. Psychiatry* 122: 509-22.



EFFECTO HIPOCOLESTEROLEMIANTE DE PENIOCEROL EN RATÓN HEMBRA.

Juan Rodrigo Salazar, Rodrigo Francisco Uribe Chiquete

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad La Salle, A.C. México D.F.

El peniocerol es un esteroide extraído de *Myrtillocactus geometrizans*, conocido como garambullo del estado de Hidalgo, México. En estudios previos se ha informado de la actividad antiinflamatoria en varios modelos in vivo, y citotóxica contra cultivos in vitro de líneas de cáncer humano, de este compuesto natural (Salazar et al., 2011).

Como objetivo del presente estudio, se evaluó el efecto hipocolesterolemiante del peniocerol en diferentes grupos de ratón hembra de la cepa CD-1 a los cuales se indujo previamente hipercolesterolemia a través de una dieta.

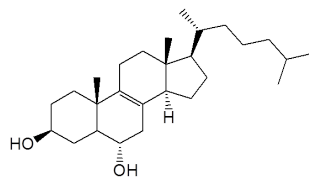


Figura 1. estructura de Peniocerol

METODOLOGÍA

A un grupo de 40 ratones hembra se les indujo la hipercolesterolemia con esta dieta 1% de colesterol, 0.5% de colato, 5% de mantequilla, 30% de azúcar glass, 10% caseína, 53.5% de alimento comercial de ratón.

Esta dieta se les dio durante tres semanas, se separaron en cuatro grupos.

Grupo	Descripción
Grupo1 n=10	Control positivo con hipercolesterolemia
Grupo2 n=10	Hipercolesterolemicos + 3 Dosis 1mg/kg
Grupo3 n=10	Hipercolesterolemicos + 3 Dosis 10mg/kg
Grupo4 n=10	Hipercolesterolemicos + 1 Dosis 100mg/kg

Después de tres semanas se les siguió dando la dieta, se separaron en grupos y se administró peniocerol a diferentes dosis vía ip. cada dos días más la dieta hipercolesterolemizante.

Durante todo el experimento se llevó un control de peso y de alimento ingerido por cada ratón.

Se sacrificó a los ratones hembra por decapitación y se recolectó toda la sangre, se separó el plasma por centrifugación y se analizó el contenido total de colesterol en plasma con un kit comercial.

RESULTADOS

Tabla1. Peso promedio, peso ganado y concentración de colesterol

	Peso promedio (g)	Peso ganado (g)	Colesterol en plasma (mg/dl)
Ratón hembra salvaje * *	23.0±0.4 n=29	----	86±5 n=18
Control n=6	22.44±0.08	1.5	94.85±5.65
1 mg/Kg y Dieta n=9	23.40±0.07	1.9	108.28±7.89
10 mg/Kg y Dieta n=8	22.33±0.48	1.3	79.52±3.03
100 mg/Kg y Dieta n=8	22.81±0.07	1.3	97.76±7.22

CONCLUSIONES

Se pudo observar una reducción de la concentración en plasma del grupo de la dosis de 10mg/kg con respecto al grupo de control positivo con hipercolesterolemia.

Esto evidencia que el peniocerol tuvo efectos hipocolesterolémicos a la dosis de 10mg/kg, por lo que se requieren estudios posteriores.

BIBLIOGRAFÍA

Erickson S., 2003, *Journal of Lipid Research*, Hypercholesterolemia and changes in lipid and bile acid metabolism in male and female cyp7A1-deficient mice.

Salazar et al., 2011, Anti-inflammatory and Cytotoxic activities of Chichipegenin, Peniocerol and Macdougallin isolated from *Myrtillocactus geometrizans* (Mart. ex Pfeiff.) Con.Z. Naturforsch. 66c.



REGRESO AL FUTURO. EN LA BUSQUEDA DE ANTIPARASITARIOS

Yulieth Upegui¹, Wiston Quiñones², Sara Robledo¹, Fernando Torres², Ivan D. Vélez¹, Gustavo Escobar², Rosendo Archbold², **Fernando Echeverri²**

1. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales PECET, Facultad de Medicina

2. Grupo de Química Orgánica de Productos Naturales, Instituto de Química, Facultad de Ciencias Universidad de Antioquia, Calle 70 #52-21, Medellín- COLOMBIA

INTRODUCCION

La Leishmaniasis, la Trypanosomiasis, la Malaria y la Tuberculosis, están adquiriendo alarmantes niveles de *morbi* y mortalidad, debido al cambio climático, desplazamientos poblacionales masivos, reducido arsenal farmacológico y resistencia microbiana. La mayor preocupación es obtener nuevas y más poderosa moléculas, lo que equivale a obtener mejores e innovadores esqueletos.

Sin embargo, existen en la literatura muchas moléculas y extractos con excelentes resultados *in vitro*, que nunca han sido comprobados en modelo animal, por la ausencia del modelo, o la carencia de las cantidades necesarias para esos ensayos; uno de esos ejemplos son las xanthonas de *Garcinia mangostana*, para las cuales se han reportado potencial antimalárico *in vitro*.

METODOLOGIA

Se hicieron ensayos biodirigidos de extractos, fracciones cromatográficas y compuestos de *Garcinia mangostana* para tamizar su potencial leishmanicida, plasmicida y citotóxico, mediante citometría de flujo y MTT; actividad anti-plasmodial en cultivo asincrónico de *Plasmodium falciparum* sensible a cloroquina, por la detección de DNA parasitario. Los IC₅₀ se calcularon en probit. Ensayos en modelo ratón-*P. berghei*, test de Rane, administración oral e intraperitoneal a 100 y 50mg/kg de peso día x 7 días. Se realizó seguimiento clínico, parasitológico e histológico.

RESULTADOS

Los extractos mostraron una buena actividad sobre *P. falciparum*, IC₅₀ 11,3 µg/ml, pero fueron prácticamente inactivos sobre *L. panamensis*. En el modelo animal de *Plasmodium berghei*, es claro que la citotoxicidad *in vitro*, IC₅₀ de 190µg/ml, no es extrapolable a la toxicidad crónica en modelo animal; además la vía de administración tiene una gran influencia, pues los resultados negativos se generaron al parecer por la baja biodisponibilidad.

CONCLUSIONES

Es necesario invertir mejores esfuerzos científicos y económicos en revivir moléculas de las cuales se conoce su actividad preliminar *in vitro*, su estructura y su método de purificación y que pueden ser susceptibles de sintetizarse o de aislarse a partir de otros materiales más abundantes; los modelos *in vitro* tienen poca extrapolación con los ensayos *in vivo*.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por COLCIENCIAS (Colombia, 111548925424); Y.U agradece a Colciencias por becas de Maestría y Joven Investigadora.

BIBLIOGRAFIA

Mahabusarakam W, Kuaha K, Wilairat P, Taylor WC. 2006. Prenylated xanthones as potential antiplasmodial substances. *Planta Med.* 72, 912-916.

Obolskiy D, Pischel I, Siriwatanametanon N, Heinrich M. 2009. *Garcinia mangostana* L: a phytochemical and pharmacological review. *Phytother Res.* 23, 1047-1065

Pedraza J, Cárdenas N, Orozco M, Pérez J. 2008. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*) *Food Chem. Toxicol* 46 3227–3239



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIÚLCERA E TOXICIDADE AGUDA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO 70% DE *Arnica brasileira* (SOLIDAGO CHILENSIS MEYEN)

Wadt, N.S.Y.¹, Giacometti, V.O.², Silva, R.R.², Vilela, A.A.², Souza, M.S.², Silva, A.L.C.², Fernandes, V.M.², Okamoto, M.K.H.¹, Bach, E.E.¹

1. Diretoria de Saúde (pesquisadores), Farmácia, Universidade Nove de Julho, S.P., Brasil

2. Diretoria de Saúde (Iniciação científica), Farmácia, Universidade Nove de Julho, S.P., Brasil

INTRODUCTION

A *Solidago microglossa* DC, pertencente à família Asteraceae, é conhecida popularmente como arnica brasileira, e sinônimas vulgares são Arnica, Erva-lanceta, Arnica-silvestre, Espiga-de-ouro. A droga apresenta odor levemente aromático e sabor pouco amargo. A arnica do Brasil é utilizada pela população como se fosse a *Arnica montana* L., como anti-inflamatório, cicatrizante, entre outras finalidades. O uso popular precisa de comprovação científica e principalmente a avaliação da toxicidade, pois a *Arnica montana* possui hepatotoxicidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade aguda e a atividade antiúlcera aguda do extrato hidroetanólico 70% de *Solidago chilensis*.

METHODOLOGY

As plantas foram colhidas na chácara Wadt, em Valinhos –S.P., e a secagem foi realizada em estufa de circulação de ar a 35°C. O extrato foi preparado por percolação fracionada utilizando etanol 70% como solvente. O ensaio de toxicidade aguda foi realizado segundo RE 90 (Brasil, 2004) utilizando camundongos, sendo dose única de 2mL/kg e avaliados por 14 dias, utilizando como controles a água e o etanol 70% que era o solvente de extração. O teste antiúlcera foi realizado pelo modelo de indução aguda por etanol e ácido clorídrico utilizando como controles o omeprazol e água e o extrato na dose de 1mL/Kg. Análises estatísticas foram feitas pelo método Tukey/ANOVA. Todos os testes foram aprovados pelo comitê de ética da UNINOVE.

RESULTS, DISCUSSION/CONCLUSIONS

O teste antiúlcera apresentou um resultado significativo quando comparado com a água e também com o omeprazol, indicando uma ação gastroprotetora efetiva do extrato hidroetanólico 70% de *Solidago chilensis* na dose de 1mL/Kg. No ensaio de toxicidade aguda o extrato hidroetanólico 70% não apresentou diferença significativa quando comparadas as massas dos órgãos com o etanol 70%. Em relação à diferença de massa corpórea também não houve diferença significativa entre os grupos. É possível concluir que o extrato hidroetanólico 70% de *Solidago chilensis* tem grande potencial para ser utilizado no tratamento de problemas gástricos, com segurança.

FINANCIAL SUPPORT

Universidade Nove de Julho (UNINOVE)



ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DOSAGEM DE FLAVONOÍDES DE *Odontocarya vitis* (VELL) J.M.A. BRAGA (MENISPERMACEAE)

Mariana Martinelli J. Ribeiro¹, Maria Carolina Anholeti¹, João Marcelo Alvarenga Braga², Alessandra Leda Valverde³; Ana Joffily¹; Selma Ribeiro de Paiva¹.

1. Setor de Botânica, Departamento de Biologia Geral, Instituto de Biologia, UFF. Outeiro de São João Batista, s/n, Campus do Valonguinho, 24020-150. Niterói, RJ.
2. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, JBRJ. Rua Pacheco Leão, 915. 22460-030. Rio de Janeiro, RJ.
3. Lapromar, Instituto de Química, UFF. Outeiro de São João Batista, s/n, Campus do Valonguinho, 24020-005. Niterói, RJ.

Menispermaceae pertence à ordem Ranunculales e conta com aproximadamente 70 gêneros e 520 espécies de distribuição pantropical (Stevens, 2001). Possui espécies ricas em alcalóides, glicosídeos e saponinas (Hoehne 1978), sendo conhecida pelos estudos com os gêneros *Curarea* e *Chondrodendron*, usados na preparação do curare, veneno utilizado por tribos indígenas da América do Sul (Bisset, 1988). *Odontocarya vitis* é endêmica da Mata Atlântica, foi incluída como vulnerável na lista oficial de espécies ameaçadas de extinção da flora brasileira e foi pouco estudada. Este trabalho objetivou avaliar a atividade antioxidante total (AAT) e o doseamento de flavonas e flavonóis em extratos de *O. vitis*, visando ampliar os estudos da família Menispermaceae.

Folhas e caules de *O. vitis* foram separados, processados, e extraídos por maceração estática com hexano e metanol. Os solventes foram reduzidos em evaporador rotatório, obtendo-se os extratos brutos. A AAT do extrato metanólico das folhas (FM) e dos caules (CM) foi realizada utilizando 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), conforme Silva e Paiva (2011), tendo butil-hidroxi-tolueno (BHT) como padrão. O doseamento de flavonas e flavonóis destes extratos foi realizado pela reação com cloreto de alumínio (Chang et al., 2002), tendo rutina como padrão.

Os resultados da atividade antioxidante total mostraram reação rápida entre o DPPH e a amostra FM nas concentrações analisadas. A amostra CM apresentou cinética mais lenta, sofrendo variação um pouco maior na porcentagem de DPPH remanescente, semelhante ao resultado obtido para o BHT. A atividade antioxidante máxima (AAM) da amostra CM foi aproximadamente 69% em 250 µg/mL, com 31% de DPPH remanescente após 30 minutos de reação. Para a amostra FM a AAM foi aproximadamente 47% na mesma concentração. A AAM do BHT foi 87% em 125 µg/mL, com 13% de DPPH remanescente após 30 minutos de reação, percentual mantido em 250 µg/mL. A amostra CM apresentou o menor valor de EC₅₀. Os resultados do doseamento de flavonas e flavonóis mostraram um maior percentual de flavonóides no caule, e estes podem ser responsáveis, pelo menos em parte, pela atividade antioxidante observada. Não existem estudos sobre a presença de flavonas e flavonóis em *O. vitis*, entretanto, flavonóides já foram descritos para espécies de Menispermaceae, como stephaflavona A e stephaflavona B, biflavonóides isolados de *Stephania tetrandra* (Si et al., 2001).

Os resultados obtidos para *Odontocarya vitis* corroboram o potencial de espécies de Menispermaceae na produção de substâncias seqüestradoras de radicais livres, dentre elas flavonóides, mostrando-se os caules desta espécie uma fonte promissora destas substâncias. PROPPi/UFF

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRAGA, J.M.A. 2000. Anales del Jardín Botánico de Madrid 58(2): 358-360.
- BISSET, N.G. 1988. Acta Amazonica. 18: 255-290.
- Chang, C.C.; Yang, M.H.; Wen, H.M.; Chern, J.C. 2002. J. of Food and Drug Anal. 10 (3): 178-182.
- HOEHNE, F.C. 1978. Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais. 2ª. Ed. São Paulo: Departamento de Botânica do Estado. 355p.
- SI, D., ZHONG, D., SHA, Y., LI, W. 2001. Phytochem. 58 (4): 563-566
- SILVA, M.C.A., PAIVA, S.R., 2012. An. Acad. Bras. Ciênc. 84(3): 609-616.
- STEVENS, P.F. 2001. Angiosperm Phylogeny Website. Version 8, June 2007. <[http:// www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/](http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/)> (Acesso Junho/ 2013).



EFFECTOS DEL ESTEVIOSIDO EN UN MODELO DE ATONTAMIENTO POR ISQUEMIA-REPERFUSION EN CORAZONES DE RATA

Consolini, A.E.^{1*}, Ragone M.I.¹, Bonazzola P.²

1. Cátedra de Farmacología, Área Ciencias Farmacéuticas, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Argentina. *dinamia@biol.unlp.edu.ar
2. Instituto de Investigaciones Cardiológicas, Universidad de Buenos Aires (UBA-CONICET)

INTRODUCCIÓN

El estevósido es un glucósido diterpenoide y principio activo de la planta *Stevia rebaudiana* Bertoni, originaria de Sudamérica, Paraguay y NE de Argentina, y conocida popularmente como "yerba dulce". Exhibe probadas propiedades edulcorantes, hipoglucemiantes y antiespasmódicas (1, 2). Dado su uso tradicional y frecuente como edulcorante, fue de interés evaluar posibles efectos cardíacos y su acción en un modelo de atontamiento cardíaco por isquemia/reperfusión, considerado como la disfunción menor y reversible en el estado de angor o angina de pecho. El estudio mecánico-energético permite evaluar cambios en la energética cardíaca y en la economía muscular que predicen disfunción, especialmente aquella relacionada a homeostasis de Ca²⁺ y metabolismo (3).

MATERIALES Y MÉTODOS

Corazones aislados de rata fueron perfundidos a flujo constante de 6 ml/min por la técnica de Langendorf con solución Krebs con 2 mM Ca²⁺ en un calorímetro de flujo a 30°C, y estimulados a frecuencia de 1 Hz. Se midieron continuamente el flujo de calor total (Ht en mW/g) liberado por el músculo, y la presión intraventricular isovolumétrica (en mmHg), a partir de la cual se calculó la presión máxima desarrollada en la contracción (P) y la presión diastólica (LVEDP). Se calculó la economía (Eco) como el cociente P/Ht. Se efectuó un grupo control (C, n=8), y un grupo pretratado con stevósido 0.3 mg/ml (Stv, n=4) durante 20 minutos previos a la isquemia (I). Se efectuó una isquemia de no-flujo durante 45 minutos, seguida de una reperfusión por otros 45 min (R). Los resultados fueron comparados mediante tests de ANOVA de dos factores (tratamiento y tiempo) seguido de comparaciones pareadas post-hoc de Bonferroni, considerando el nivel de significación a p<0.05.

RESULTADOS

Los corazones estabilizados exhibieron una contractilidad con P de 104±23 mm Hg, Ht de 13.9±2.2 mW/g y economía muscular total P/Ht de 7.5±0.9 en el grupo C. El grupo Stv exhibió inicialmente una P de 83.0±8.7 mm Hg, Ht de 13.3±2.1 mW/g y P/Ht de 6.4±0.8 mm Hg.g/mW y el tratamiento con 0.3 mg/ml de Stv elevó la P al 145±17%, sin afectar (97.7±4%) el Ht y aumentando la Eco a 10.5±3.3 mm Hg.g/mW. La isquemia (I) redujo rápidamente LVEDP, P y Ht en ambos grupos. La reperfusión (R) elevó la LVEDP en +13.5±4.8 mm Hg a los 5 min R en el grupo C y en +11.4±4.7 mm Hg en grupo Stv (NS). Durante la reperfusión, P recuperó durante los 45 minutos, hasta un 64±9% de su valor inicial en el grupo C y un 120±42% del P inicial en el grupo Stv (p<0.05).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que el estevósido produce efecto inotrópico positivo rápido durante su perfusión, y mejora la recuperación contráctil post-isquémica de los corazones atontados por I/R, mejorando su economía y energética. Estos resultados sugieren que el uso de este compuesto como edulcorante sería beneficioso en pacientes de angor.

FINANCIAMIENTO

Subsidios UNLP X-513 y CONICET-PIP00213.

REFERENCIAS

- Gregersen S, Jeppesen PB, Holst JJ, Hermansen K. *Metabolism* 53:73-76, 2004.
 Matera, S., Piersante M.V., Ragone M.I., Consolini, A.E. *PhOL* 1:1-8 (Special Issue SILAE) 2012.
 Ragone M.I. and Consolini AE. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 54:213-223, 2009.