



Artículo original

Actividad cardiaca de *Ocimum tenuiflorum* Linn in vitro

Torres Atencio, Ivonne¹; Rodríguez Melita, Sergia¹; Barrera Soriano, Marlys² y Ríos Cubilla, Luis².

1. Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá, Panamá. 2. Laboratorio de Bioorgánica Tropical, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad de Panamá, Panamá.

Resumen

La *Ocimum tenuiflorum* L (OtL) es una planta usada en la medicina tradicional India para una variedad de padecimientos y ha sido evaluada tanto el extractos crudos como los aceite esenciales de la planta. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto inotrópico y antiarrítmico de OtL y de los productos aislados de ésta planta en la preparación de aurícula de rata. Al compararse el efecto producido con la administración de las concentraciones efectivas 50 (CE₅₀) tanto del extracto crudo como de las fracciones purificadas con fármacos inotrópicos patrones, adrenalina y ouabaína, los productos naturales produjeron un marcado aumento en la actividad inotrópica, con diferencias significativas ($p > 0.05$). Al evaluar el efecto preventivo en la aparición de arritmias en el modelo de arritmias inducidas con aconitina, solo uno de los productos naturales purificados de OtL presentó un comportamiento similar a los antiarrítmicos patrones, propranolol y quinidina. Es concluyente que la OtL posee propiedades inotrópicas, y que están presentes en la fracción acuosa la cual mantuvo el perfil de efectos cardiacos. Se aislaron dos productos de la fracción acuosa, sin embargo solo uno de estos compuestos modifica los parámetros de latencia y duración de las arritmias.

Palabras clave: *Ocimum tenuiflorum* L (OtL), inotrópico, antiarrítmico, aurícula de rata.

Recibido: Junio 2008. Aprobado: Agosto 2008. Publicado: Septiembre 2008.

Abstract

The *Ocimum tenuiflorum* L (OtL) is a plant used in the traditional medicine India for a variety of sufferings and has been evaluated so much the crude extracts as the essential oil of the plant. The aim of this work was to determine the inotropic and antiarrhythmic effect of OtL and isolated products of this one plant in the preparation of rat auricle. When comparing itself the effect produced with the administration of effective concentrations 50 (EC₅₀) as much of the crude extract as of the fractions purified with inotropic drugs landlords, adrenalin and ouabain, the natural products produced a noticeable increase in the inotropic activity, with significant differences ($p > 0.05$). When evaluating the preventive effect in the appearance of arrhythmias in the model of arrhythmias induced with aconitin, one of purified natural products of OtL only, presented a behavior similar to the antiarrhythmic landlords, propranolol and quinidin. It's conclusive that the OtL possesses inotropic properties, and the effect observed with both purified products is marked. Nevertheless only one of these compounds modifies the parameters of latency and duration of the arrhythmias. Two products of the watery fraction were isolated; nevertheless one of these compounds modifies the parameters of latency and duration of the arrhythmias.

Keywords: *Ocimum tenuiflorum* L (OtL), inotropic, antiarrhythmic, atrial preparation.

Introducción

La amplia utilización de plantas medicinales para el alivio de diversas enfermedades, entre estas las cardiovasculares, es una práctica común en todas las culturas. Entre las enfermedades cardiovasculares en las cuales las plantas medicinales han sido utilizado, están: la insuficiencia cardiaca congestiva, hipertensión, angina de pecho, arterosclerosis y arritmias [1]. Tal es el caso de la *Ocimum tenuiflorum* L (*Ocimum sanctum* syn.), planta originaria de las regiones tropicales y subtropicales de la India, conocida en lengua sánscrita como "Tulsi o Tulasi", en Panamá se le conoce como "Toronjil". El uso de esta planta es mencionado en la medicina tradicional India y sus aplicaciones médicas

modernas están recibiendo mucha atención [2,3].

Entre las múltiples evaluaciones que se han hecho, con los extractos crudos y los aceite esenciales de la planta, se reportan las realizadas para probar la actividad anti-ulcerogénica, el efecto Hipoglicemiante, el efecto analgésico, la acción inmunomoduladora, la acción antioxidante, la actividad quimiopreventiva [4,5,6,7,8,9]. Además, al toronjil también se le describen efectos hipolipemiantes y en trabajos realizados por Sharma y colaboradores, estos describen el posible efecto cardioprotector de *Ocimum tenuiflorum* L en lesiones inducidas por isoproterenol, debido a la presencia de antioxidantes entre los componentes de esta planta. [10,11].

En Panamá, la *Ocimum tenuiflorum* Linn es utilizada en infusión para el alivio de trastornos gastrointestinales, como sedante, en palpitaciones entre otros usos, esta última propiedad fue evaluada con el extracto crudo en 30 modelos experimentales de animales anestesiados. Los resultados mostraron el incremento en la fuerza de contracción y la corrección de arritmias inducidas con el alcaloide arritmogénico, aconitina [12].

A pesar de la evaluación farmacológica de esta planta, falta establecer que componentes de la planta son los responsables de los efectos observados en la respuesta cardiaca.

Objetivo

El objetivo de este estudio fue determinar la actividad inotrópica y antiarrítmica en aurícula aislada de ratas del extracto crudo, de las fracciones y de los compuestos aislados de *Ocimum tenuiflorum* Linn.

Materiales y Métodos:

Material vegetal

La especie de *Ocimum tenuiflorum* L fue identificada por el Dr. José Luis Fernández Alonso (Colombia), y la muestra se encuentra en el Herbario de la Universidad de Panamá con el voucher #051069. La planta ha sido sembrada en la parcela de la granja de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Panamá, ubicada en Tocumen, que está a cargo del Profesor Félix Pineda, de donde se realizaron las colectas para la preparación de los extractos. Se recolectaron las hojas

jóvenes de la planta en los meses de enero y febrero de 2004 y 2006.

Preparación del extracto

El procedimiento químico de fraccionamiento y aislamiento de compuestos se realiza en el laboratorio de Bioorgánica Tropical, dirigido por el Dr. Luis Cubilla-Ríos. Las hojas jóvenes de *Ocimum tenuiflorum* L una vez recolectadas se lavaban y secaban cuidadosamente, y luego de pesadas eran homogenizadas con una mezcla de metanol y acetato de etilo (7:3 vol/vol) y posteriormente politronada la mezcla se filtraba. El extracto crudo se obtuvo bajo presión usando un rotavapor. El fraccionamiento del extracto crudo se realiza a través de partición con disolventes de diferentes polaridades. El eluido de cada solvente fue recolectado separadamente y concentradas utilizando el rotavapor a presión reducida y a una temperatura de 29 °C, ó liofilizándolas, en el caso de la fracción acuosa. Al ser un fraccionamiento biodirigido, como se muestra en el esquema (Fig. 1), los compuestos que resultaron activos fueron aislados y purificados mediante procesos que incluyen la cromatografía en columna de Sephadex® y cromatografía líquida de alta presión. La cromatografía de exclusión molecular llamada Sephadex® se procedió a eluir con una mezcla de etanol: agua (8:2 vol /vol). Los compuestos así obtenidos se purifican mediante el uso de cromatografía líquida de alta presión (CLAP), con un sistema de gradiente metanol: Agua (30:70 vol/vol), en una columna de fase reversa marca X-Terra®, las fracciones que presentaron picos bien definidos en los espectros cromatográficos, fueron recolectadas y

secadas para su posterior utilización en los bioensayos.

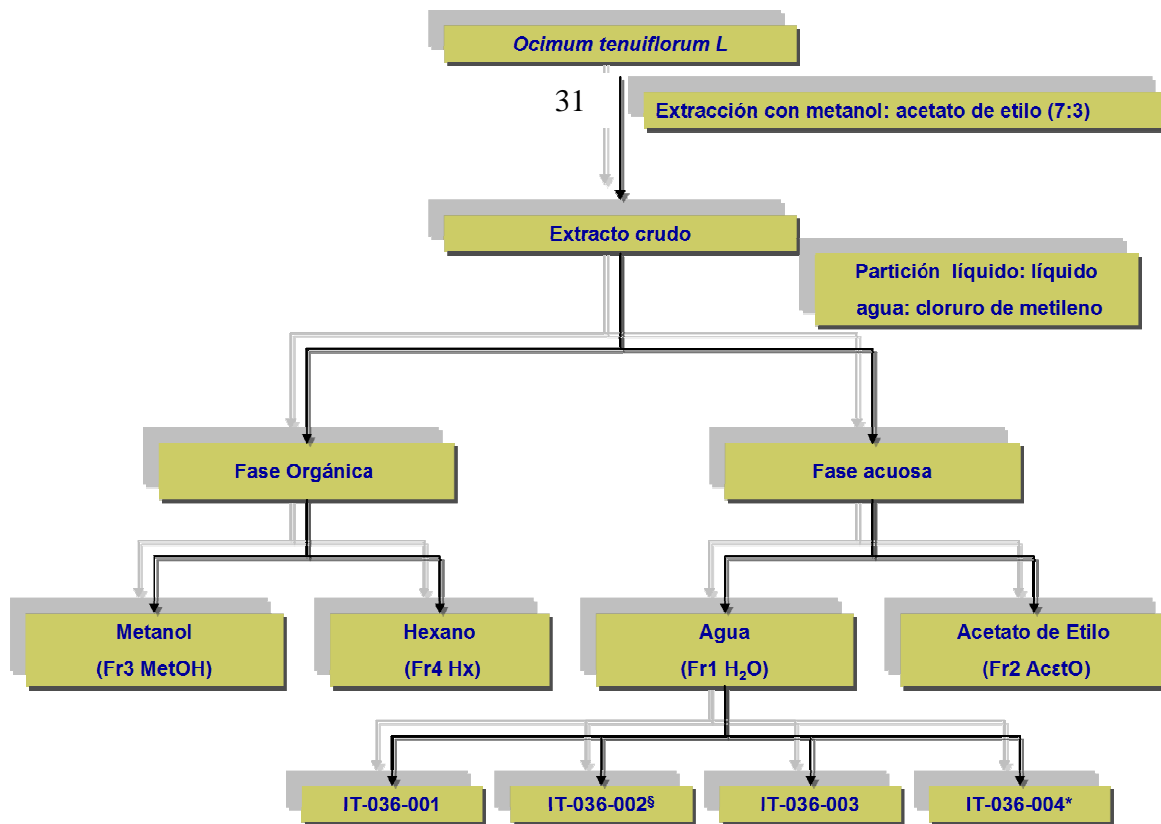


Fig. 1. Esquema de fraccionamiento bioguiado del extracto crudo de las hojas de *Ocimum tenuiflorum* L. El compuesto IT-036-002(§) es un compuesto flavonoide de estructura conocida, el compuesto IT-036-004(*) es el que ha mostrado mayor efecto cardiaco.

Procedimiento Farmacológico

Animales

Todo el procedimiento experimental descrito en este estudio contemplan los principios éticos y las guía adoptadas en el Manual "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" del Institute of Laboratory Animal Resources (ILAR) of the National Research Council.¹³

Se utilizaron ratas albinas Sprague-Dawley hembras, con pesos comprendidos entre 250-350g. Estos

animales se mantienen en condiciones de laboratorio (temperatura: 23± 2oC, ciclos de luz y oscuridad de 12 horas) y los animales tenían libre acceso a agua y alimento.

Estudios in vitro en aurícula de rata

Para la obtención de las aurículas se eutanizan y desangran rápidamente las ratas para extraerles el corazón. La aurícula es separada del resto del tejido cardíaco, en un plato petri, con solución nutriente Ringer-Locke, con la siguiente composición: 154mM NaCl, 5.6mM KCl 32 1.25mM de CaCl_2 2.2mM de MgCl_2 , 5.95 mM de NaHCO_3 , 2.8mM de D-glucosa, burbujeada constantemente, con una mezcla de gas carbógeno (95% de O_2 y 5% de CO_2) que mantiene el pH en 7.4. Luego se ata con un hilo fino una de las orejuelas de la aurícula, al fondo del baño de órgano aislado (modelo automatic organ bath de 4 cámaras, Letica®) que contiene un volumen de 15mL, burbujeado con gas carbógeno, a una temperatura de 37 grados Celsius. El otro extremo de la aurícula es atado por medio de un hilo, a la palanca inscriptora de un transductor de fuerza (Modelo TRI 201, Letica®) que está conectado a un polígrafo (Modelo 2006, Letica®). La señal biológica generada es amplificada por medio de un preamplificador (Modelo ISO 506, Letica®). Se da una tensión de 1 gramo a las aurículas. La fuerza generada en cada contracción de la aurícula corresponde al inotropismo; y los pulsos generados en un minuto es la frecuencia cardíaca o cronotropismo. Las aurículas se dejan estabilizar por un período de 30 a 45 minutos, realizando lavados cada 15 minutos con solución nutriente fresca. Luego de este período de estabilización, se comprobaba la regularidad de la contracción y el tono basal, ya que si presentaban arritmias o una fuerza de contracción débil, se excluían del estudio; comprobado esto se procedía a realizar el esquema de administración de los fármacos.

Estudio del efecto inotrópico.

Con el propósito de poder comparar la eficacia inotrópica entre la *Ocimum tenuiflorum L* y otros agentes inotrópicos patrones, como Adrenalina y Ouabaína, se realizaron curvas concentración respuesta de estos dos fármacos y el extracto crudo de la planta. Las curvas de respuesta de Adrenalina se realizan con concentraciones de 10^{-11} M hasta 10^{-6} M, hasta obtener el efecto inotrópico máximo, sin que se manifiesten cambios en la automaticidad normal. Para la Ouabaína, las curvas se realizarán con concentraciones que oscilaban entre 10^{-8} M y 10^{-4} M, hasta obtener el efecto inotrópico máximo y para el extracto crudo de la planta las concentraciones fueron de 10^{-7} hasta 10^{-2} g/mL. Las CE_{50} se obtuvieron gráficamente.

Estas concentraciones efectivas medias se utilizaron para comparar la intensidad del efecto inotrópico con los compuestos que resultaron activos en el fraccionamiento de *Ocimum tenuiflorum L*.

Estudio de la actividad antiarrítmica.

Para la evaluación de la actividad antiarrítmica, determinando la capacidad profiláctica en la aparición de arritmias de la CE_{50} del extracto crudo y de los compuestos aislados de *Ocimum tenuiflorum*, en el modelo de arritmias inducidas con aconitina y luego fueron comparados con los resultados obtenidos con fármacos antiarrítmicos, como propranolol (1×10^{-6} M), y quinidina (1×10^{-4} M), mediante las modificaciones de los tratamientos en parámetros como latencia e intensidad de las arritmias. Luego de la estabilización de la aurícula, se administraron los tratamientos por ensayar y luego de 15 minutos se administró la concentración arritmogénica de aconitina que fue de

de $2 \times 10^{-7} M$. Se observaron y registraron los parámetros mencionados y se compararon los efectos observados entre los diferentes tratamientos. Los resultados se expresaron de la siguiente forma: (a) para la latencia, es el tiempo promedio en segundos de la aparición de la primera irregularidad en el ritmo sinusal; (b) para la intensidad, se describe el tipo como el tipo de irregularidad presentada por la aurícula que incluye aumento del automatismo, taquicardia, posdespolarizaciones o extraestímulos y, finalmente, fibrilación auricular y asistolia.

Análisis de los datos

Los resultados obtenidos para el efecto inotrópico son dados como los valores promedio \pm el error estándar del porcentaje de cambio de cada tratamiento con respecto al valor inicial o basal. El análisis estadístico de la eficacia del efecto inotrópico de la CE_{50} de *Ocimum tenuiflorum* y sus compuestos activos, adrenalina y ouabaína se realizó mediante el análisis de varianza de una vía (ANOVA) y por la t de *student's*, tomando como significativas aquellos datos con una $p < 0.05$.

Para el efecto antiarrítmico de los diferentes productos de *Ocimum tenuiflorum L* y los fármacos patrones se expresaron en los siguientes términos:

Latencia Arrítmica:

Se expresaba como el promedio de tiempo en segundos para la aparición de arritmias luego de la administración de aconitina en presencia de una concentración única de los compuestos de *Ocimum tenuiflorum L* o de los fármacos antiarrítmicos, propranolol y quinidina. Estas arritmias podían presentarse como

posdespolarizaciones, taquiarritmias, fibrilación, aleteo o asistolia, en el montaje de aurícula aislada.

Duración de arritmias:

Se expresaba como el promedio de tiempo en segundos que transcurría desde la presentación de las arritmias hasta que el montaje de aurícula mostraba asistolia. Se realizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) y por la t de *student's*, tomando como significativas aquellos datos con una $p < 0.05$.

Resultados

En el esquema de fraccionamiento del extracto crudo de *Ocimum tenuiflorum L* (Fig. 1) de las cuatro fracciones obtenidas, solo la fracción acuosa presentaba el efecto cardiaco observado con el extracto crudo, ya que las fracciones de acetato de etilo, de metanol y de n-hexano inducían en las aurículas disminución de cualquier parámetro cardiaco o la muerte del tejido, por lo que se descartaron. De la fracción acuosa que mantenía el perfil de efectos cardiacos, se realizaron posteriores fraccionamientos obteniéndose dos productos hidrosolubles relativamente puros mediante técnicas de cromatografía líquida de alta presión y en estudios de identificación química (datos no publicados), estos compuestos son estructuras hidrosolubles, uno de ellos es la apigenina (IT-036-002), que es un flavonoide reportado por Grayer y colaboradores como taxonómico del género *Ocimum* y el otro producto desconocido aún (IT-036-004) es un compuesto con varios grupos hidroxilos [14].

Estudio de la actividad inotrópica

Para evaluar la actividad inotrópica del extracto crudo de *Ocimum tenuiflorum* L los compuestos obtenidos de la separación fitoquímica, se obtuvieron las concentraciones efectivas medias de

adrenalina ($3 \times 10^{-8} \text{M}$) y ouabaína ($3 \times 10^{-5} \text{M}$) y se compararon con el extracto crudo (300mcg/ml) y los compuestos obtenidos de *Ocimum tenuiflorum* (Tabla 1).

Tabla 1

Valores de concentración eficaz 50 (CE₅₀) obtenidos de las curvas concentración-respuesta en aurículas de ratas.

Compuesto	CE ₅₀
Adrenalina	0,0055 mcg/mL ($3 \times 10^{-8} \text{M}$)
Ouabaína	21,9 mcg/mL ($3 \times 10^{-5} \text{M}$)
Extracto crudo <i>Ocimum tenuiflorum</i> L	300 mcg/mL

Los resultados de los porcentajes de cambio en la fuerza de contracción en aurículas de ratas de las CE₅₀ de los tratamientos con respecto al valor control se observan en tabla #2 y en la figura 2. El extracto crudo y la fracción acuosa de *Ocimum tenuiflorum* L aumentaban la fuerza de contracción en un 53.90% y 51.23% respectivamente, con respecto al control, y con ouabaína fue de 69.68%; los compuestos IT-036-002 aumentó en un 127.8% y el IT-036-004 106.5% contrastando con el 142% observado con adrenalina. Cabe señalar que la duración del efecto inotrópico fue observada por un período no mayor de 30 minutos para todos los tratamientos, este tiempo permitió determinar la latencia del efecto inotrópico y también el momento en que se producía el efecto máximo. El tiempo de 30 minutos

era el tiempo adecuado para que la aurícula estuviera en condiciones óptimas, sin necesidad de hacer cambio de la solución nutriente que contenía la concentración de los fármacos evaluados. Comparando la latencia y duración inotrópica positiva de adrenalina, observamos que fue de 15 segundos aproximadamente y de 5 minutos para el efecto máximo, esto es debido a que es una catecolamina que se metabolizada rápidamente, en cambio con al administrar la ouabaína la latencia se fue de 10 minutos y el efecto máximo a los 25 minutos, pero en cambio los tiempos observados con el extracto crudo y los compuestos aislados de *Ocimum tenuiflorum* L fueron, para el extracto crudo la latencia fue de 1 minuto y medio y el efecto máximo se observó a los 10

minutos, la fracción acuosa presentó una latencia de 5 minutos y el efecto máximo fue de 10 minutos, el compuesto IT-036-002 tuvo una latencia de 1 minuto y el efecto máximo se

alcanzó a los 25 minutos y para el compuesto IT-036-004 la latencia fue de 1 minuto también, pero el efecto máximo se observó a los 10 minutos.

Tabla 2

Valores promedios de los gramos de tensión generados y porcentaje de aumento en la fuerza de contracción con respecto al control obtenidos con la administración de las CE₅₀ en aurículas aisladas de ratas.

Tratamiento	Contracción (g de tensión)	Respuesta (%aumento± ES)
Control	0.54	
Adrenalina	1.31	142± 46.51
Ouabaína	0.92	69.68±8.55
OtL extracto crudo	0.83	53.90± 15.44 ж
OtL fracción acuosa	0.82	51.23± 14.35 ж
IT-036-002	1.23	127.8± 14.82*
IT-036-004	1.12	106.5± 13.70*

OtL= *Ocimum tenuiflorum* L Promedio± ES, n=6

ж p<0.05, comparado con adrenalina

* p< 0.05, comparado con ouabaína

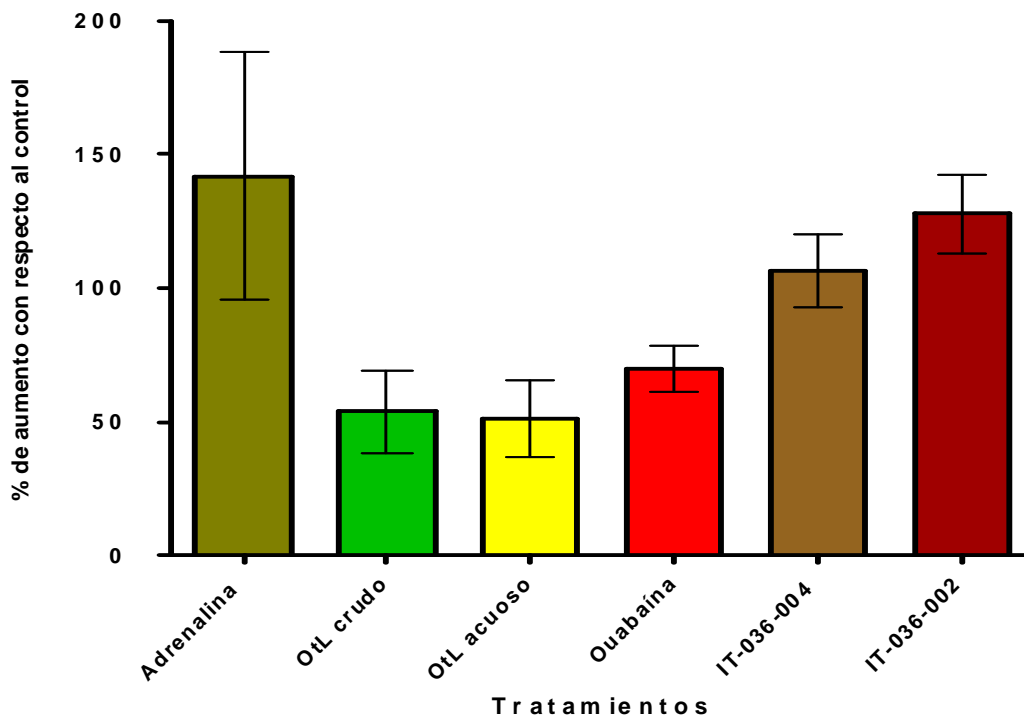


Fig. 2. Comparación del efecto inotrópico de las CE50 del extracto crudo y los productos aislados de OTL con Adrenalina y Ouabaina (n=6).

Evaluación de la actividad antiarrítmica

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 3 y en las figuras 3 y 4 donde se muestran los parámetros de latencia y tiempo de duración de las arritmias.

Como se puede apreciar en la gráfica de la figura 3, los tiempos de latencia de los diferentes tratamientos son comparativamente mayores que aconitina, como es de esperarse quinidina presenta el mayor efecto profiláctico ya que el tiempo de latencia es prolongado, y se puede constatar por el mecanismo de acción que posee este fármaco, ya que como se ha mencionado con anterioridad es un

inhibidor de los canales de sodio, a los cuales aconitina se une ávidamente, sigue propranolol que tiene el efecto estabilizante de membrana, cualidad que le confiere la capacidad para retardar el inicio de las arritmias. En cuanto a los productos naturales, el compuesto IT-036-004 es el que presenta el mayor tiempo de latencia comparados con el extracto crudo, la fracción acuosa y el compuesto IT-036-002. Aun así, el efecto es relativamente menor que los observados con los fármacos antiarrítmicos patrones. Este parámetro de la duración de las arritmias indica el tiempo que permaneció el tejido viable antes de que cualquier actividad mecánica de la

aurícula cesara. Como es de esperarse las aurículas tratadas previamente con quinidina estuvieron viables por mayor tiempo que el resto de los tratamientos, pero al igual que con el tiempo de latencia, tanto el propranolol como el

compuesto IT-036-004 también mostraron mantener la aurícula viable por mayor tiempo.

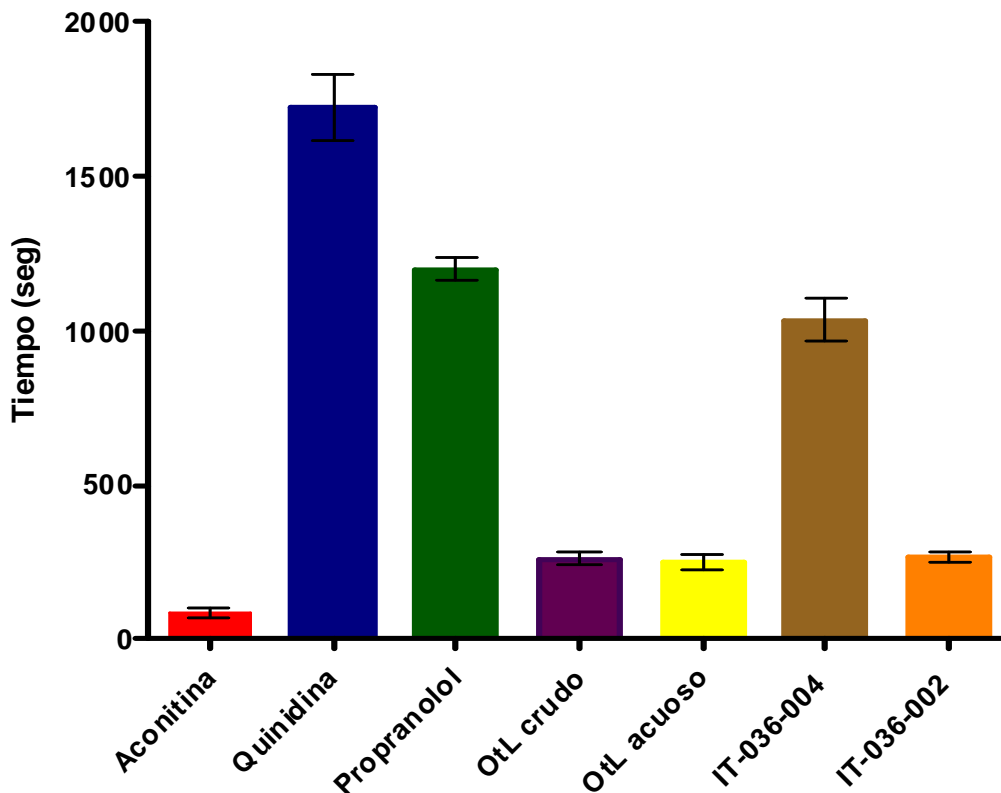


Fig. 3. Promedio del tiempo de latencia arrítmica de los diferentes tratamientos comparados con aconitina.

Estos resultados nos muestran una tendencia del posible efecto antiarrítmico. Los parámetros de latencia y duración presentan tendencias similares para los tratamientos utilizados, es decir la quinidina es la que presenta un tiempo de latencia mayor y la duración de la viabilidad de la aurícula también es mayor con este fármaco, por

otro lado de los productos naturales, el compuesto IT-036-004 es el que manifiesta por su parte características similares a la quinidina pero en menor grado. Estos resultados expresan diferencias significativas entre aconitina y propranolol, quinidina y el compuesto IT-036-004, con una $P < 0.05$ en la prueba de ANOVA.

Tabla 3

Promedio de los tiempos de latencia antiarrítmica y de duración de las arritmias de los fármacos antiarrítmicos patrones, el extracto crudo, la fracción acuosa y los compuestos aislados de *Ocimum tenuiflorum L* comparados con aconitina.

Tratamiento	Latencia (segundos)	Duración de la arritmia (segundos)
Aconitina	84.5	555
Quinidina	1725*	3735*
Propranolol	1200*	2184*
OtL extracto crudo	260*	600
OtL fracción acuosa	247.5*	705
IT-036-002	1035*	2090*
IT-036-004	266.3*	802.5*

OtL= *Ocimum tenuiflorum L* Promedio de tiempo en segundos, n=6
 *p<0.05 , comparado con aconitina

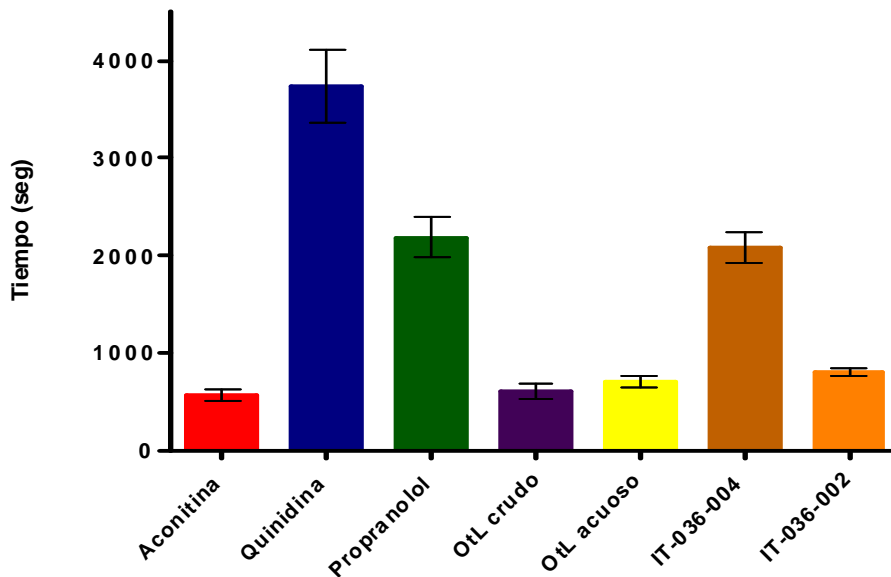


Fig. 4. Promedios del tiempo que transcurre desde la instauración de la arritmia inducida por aconitina hasta la asistolia, denominado como duración de la arritmia.

Discusión

En el presente estudio, mostramos que la fracción acuosa y dos de los compuestos aislados a partir de las hojas de *Ocimum tenuiflorum L* presenta un importante efecto inotrópico positivo en el modelo de aurícula aislada de rata y que al comparar con dos fármacos inotrópicos, como adrenalina y ouabaína, estos efectos tienen similar intensidad. Cabe señalar de que se utilizaron a la misma concentración, el extracto crudo y los compuestos activos obtenidos a partir de este, y que la intensidad de la respuesta inotrópica de los compuestos más puros fue mayor, esto podría deberse a que se encuentran concentrados mayoritariamente los productos responsable del efecto cardiaco en esta porción de la planta.

En el modelo de arritmias inducidas con aconitina los productos de la *Ocimum*

tenuiflorum L aumentan el tiempo de latencia, retardando el inicio de la arritmia y la duración del tejido con actividad se prolonga con todos los tratamientos antiarrítmicos. En estudios anteriores (datos no publicados) el extracto etanólico de las hojas de *Ocimum tenuiflorum L* producía aumento de la fuerza de contracción en el modelo de corazón in situ de sapo, pero la intensidad era mayor en el ventrículo, además que se evaluó la capacidad de corrección de las arritmias inducidas con aconitina. En este estudio en cambio, se realizó la evaluación in vitro en aurícula aislada de rata del efecto inotrópico antiarrítmico directamente en el tejido cardiaco. El efecto antiarrítmico que se evaluó fue la capacidad profiláctica o preventiva de la *Ocimum tenuiflorum L* en retardar la aparición de arritmias inducidas por aconitina.

Conclusiones

Este trabajo permitió la evaluación de la actividad cardiaca directa de *Ocimum tenuiflorum L*, conjuntamente al fraccionamiento biodirigido con el cual se pudo determinar que compuestos eran los que mantenían dicha actividad, aportando información con respecto a que los componentes de planta que podrían resultar interesantes seguir estudiando. El perfil de los efectos observados con *Ocimum tenuiflorum L* hacen que esta planta adquiera mayor relevancia para su utilización en

padecimientos cardiovasculares, además que la presencia de grupos flavonoides tienen importancia como antioxidantes. Otro aspecto importante es que el uso vernacular de la infusión de las hojas de la planta se correlaciona con los efectos encontrados en la fracción acuosa, en la que se pudo constatar la presencia de los productos activos. Recomendamos la realización del estudio del posible mecanismo de acción inotrópica con los productos de mayor efecto cardiaco.

Agradecimientos:

Esta investigación fue beneficiada en parte por el Programa Estímulo a la Investigación de SENACYT (2005) y por la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado de la Universidad de Panamá. Al personal del laboratorio del Departamento de Farmacología

de la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá, al Departamento de Fisiología, por el apoyo con el equipo utilizado. Al personal de INDICASAT, en especial al Lic. Albano Díaz. A los Profesores Elizabeth De Freitas y Rolando Zamora por la ayuda en la corrección y edición de este artículo.

References

1. Mashour NH, Lin GI, Frishman WH. Herbal Medicine for the treatment of cardiovascular disease. *Archive of Internal Medicine*. 1998; 158(20):2225-34.
2. Vats V, Yadav SP, Grover JK. Ethanolic extract of *Ocimum sanctum* leaves partially attenuates streptozotocin-induced alterations in glycogen content and carbohydrate metabolism in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004; 90(1):155-60.
3. Gupta SK, Prakash J, Srivastava S. Validation of traditional claim of Tulsi, *Ocimum sanctum* Linn as a medicinal plant. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2002; 40 (7):765-73.
4. Dharmani P, Kuchibhotla VK, Maurya R, Srivastava S, Sharma S, Palit G. Evaluation of anti-ulcerogenic and ulcer-healing properties of *Ocimum sanctum* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004; 93(2-3):197-206.
5. Gholap S, Kar A. Hypoglycemic effects of some plant extracts are possibly mediated through inhibition in corticosteroid concentration. *Pharmazie*. 2004; 59(11): 876-878.
6. Khanna N, Bhatia J. Antinociceptive action of *Ocimum sanctum* (Tulsi) in mice: possible mechanisms involved. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003; 88(2-3):293-296.
7. Mediratta PK, Sharma KK, Singh S. Evaluation of immunomodulatory potential of *Ocimum sanctum* seed oil and its possible mechanism of action. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002; 80(1):15-20.
8. Yanpallewar SU, Rai S, Kumar M, Acharya SB. Evaluation of antioxidant and neuroprotective effect of *Ocimum sanctum* on transient cerebral ischemia and long-term cerebral hypoperfusion. *Archive of Pharmacology and Biochemical Behavior*. 2004; 79(1): 155-64.
9. Prakash J, Gupta SK. Chemopreventive activity of *Ocimum sanctum* seed oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000; 72(1-2):29-34.
10. Balanehru S, Nagarajan B. Protective effect of oleonic acid and ursolic acid against lipid peroxidation. *Biochemistry international*. 1991; 24: 981-990.
11. Sharma M, Kishore K, Gupta SK, Joshi S, Arya DS. Cardioprotective potential of *Ocimum sanctum* in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Molecular and cellular biochemistry*. 2001; 225(1):75.
12. XV Congreso Latinoamericano de Farmacología, VI Congreso de la Sociedad Interamericana de Farmacología Clínica y Terapéutica, VI Congreso Colombiano de Farmacología (1997, Cartagena, Colombia), Estudio Farmacológico de las Hojas de la planta Toronjil (*Ocimum s.p.*): póster. Rodríguez, SM. 1997.
13. Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Sciences National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National

Academy Press, Washington, D.C.
(1996).

14. Grayer, RJ, Kite, G, Veitch, NC, Eckert, MR, Marin, PD, Senannayake, P, Paton, AJ. Leaf flavonoid glycosides as chemosystematic characters in Ocimum. *Biochemical systematics and ecology*. 2002; 30, 327-42.

Correspondencia:

Torres Atencio Ivonne

e-mail:

torres_ivonne182001@yahoo.com

Departamento de Farmacología,
Facultad de Medicina, Universidad de
Panamá.