

# BOLETÍN LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE DE PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS

Publicación Electrónica Bimestral Registrada en LATINDEX

ISSN 0717 7917

Enero 2006 Volumen 5 Número 1



"Desde el Río Grande a la Patagonia,  
incluyendo el Caribe de habla Española, Inglesa y Francesa"

## Editores

Jefe: José L. Martínez (Chile)  
Asociado: Jorge Rodríguez (Cuba)  
Ejecutivo: José M. Prieto (Reino Unido)

## Supervisores de Edición

Patricia Arenas (Argentina)  
Gabino Garrido (Cuba)

## Co-editores

Arnaldo Bandoni (Argentina)  
Maria E. Medina (Nicaragua)  
Francisco Morón (Cuba)  
Patrick Moyna (Uruguay)

## Presidente de la SLF (2005 - 2008)

Horacio Heinzein (Uruguay)

Bajo el auspicio de



<http://www.blacpma.cl>

## Consejo Editorial

Christian Agyare (Ghana)  
Jorge Alonso (Argentina)  
Giovanni Appendino (Italia)  
Elizabeth Barrera (Chile)  
Bruce Cassels (Chile)  
Geoffrey Cordell (EUA)  
Marco Dehesa (Ecuador)  
Rene Delgado (Cuba)  
Carla Delporte (Chile)  
Pilar D'Ocón (España)  
Luis Doreste (Venezuela)  
Angela Duque (Colombia)  
Norman R. Farnsworth (EUA)  
Mildred García (Costa Rica)  
Martha Gatusso (Argentina)  
Michael Heinrich (Reino Unido)  
Alberto Hernández (Cuba)  
Peter Houghton (Reino Unido)  
Ana Ladio (Argentina)  
Patricia Landazuri (Colombia)  
Ingrid Loayza (Bolivia)  
Olga Lock (Perú)  
Vicente Martínez (Guatemala)  
Ernesto Medina (Nicaragua)  
Pedro Melillo de Magalhaes (Brasil)  
Leonora Mendoza (Chile)  
Jordi Molgó (Francia)  
John A. O. Ojewole (Sudáfrica)  
Mahendra Rai (India)  
Rosalia Ramírez (México)  
Luca Rastrelli (Italia)  
Elsa Rengifo (Perú)  
José L. Ríos (España)  
Alicia Rodríguez (Cuba)  
Carles Roersch (República Dominicana)  
Marcela Samarotto (Chile)  
Aurelio San Martín (Chile)  
Guillermo Schinella (Argentina)  
Nikolai Sharapin (Brasil)  
Mario Silva (Chile)  
Damaris Silveira (Brasil)  
Djaja D. Soejarto (EUA)  
Claudia Tramón (Chile)  
Carlos Vicente (Argentina)  
Marcelo Wagner (Argentina)

## Objetivos del Boletín



## Índice

Estimular a los grupos de trabajo existentes en Latinoamérica, sean investigadores, productores, funcionarios o simplemente interesados en las plantas medicinales y aromáticas, poniendo a su disposición este Boletín para la difusión y la divulgación de sus investigaciones y de las actividades que en general desarrollen en torno a plantas.

Ser una herramienta de difusión para la Sociedad Latinoamericana de Fittoquímica, principalmente, y de otras sociedades y agrupaciones que se sientan representadas por este Boletín.

Constituir un nexo entre los profesionales de habla hispana, francesa, portuguesa e inglesa de la región, relacionados con el tema central del Boletín

|   |          |
|---|----------|
| <b>Editorial</b> .....  | <b>3</b> |
| <b>Nota Editorial</b> .....   | <b>5</b> |
| <b>Obituario</b>  |          |
| Prof Nikolai Sharapin.....  | 6        |
| <b>La Columna de Michael Heinrich:</b>  |          |
| La Etnofarmacología - 'quo vadis?'.....   | 7        |
| <b>Original Articles</b>  |          |
| Antimicrobial activity of <i>Hymenostegia afzeli</i> and <i>Napoleanea vogelii</i> .            |          |
| C. Agyare, A.Y. Mensah, K. Sarpong, G. Komlaga.....   | 11       |
| Isolation and identification of antibacterial compounds from <i>Oedogonium capillare</i> leaves |          |
| R. M. Pérez-Gutiérrez.....  | 15       |

## Instrucciones para los autores

**EL BOLETÍN LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE DE PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS (BLACPMA)**, es una publicación científica electrónica bimensual dirigida a diversos profesionales y técnicos vinculados al campo de las plantas medicinales y aromáticas. Se aceptarán trabajos relacionados con las áreas que cubre el Boletín y que son: agronomía, antropología y etnobotánica, aplicaciones industriales, botánica, calidad y normalización, ecología y biodiversidad, economía y mercado, farmacología, fitoquímica, legislación, informaciones y difusión de eventos, cursos, premios, reglamentaciones, noticias, cuestiones de mercado, ponencias, bibliografía, o cualquier otro tipo de material que se crea importante comunicar.

Se podrán presentar trabajos referativos y de investigación científica, y comunicaciones cortas, escritos en idioma español, inglés, portugués o francés. La extensión máxima será de 5 cuartillas para los trabajos referativos y de investigaciones científicas y de 3 cuartillas para las comunicaciones cortas. Los anuncios, noticias y otros no deberán exceder la cuartilla. En todos los casos están incluidas las tablas.

Los trabajos serán presentados en lenguaje de Microsoft Word (versión 3.1 o superior, con letra arial número 12) y enviados por correo electrónico a la siguiente dirección: [pulpito@entelchile.net](mailto:pulpito@entelchile.net) o en su lugar por correo aéreo en disquette de 3.5 pulgadas a: Lic. José Luis Martínez, Editor, Casilla de Correos 70036, Santiago 7, Chile.

Los trabajos se acompañarán de una relación de los correos electrónicos y/o direcciones postales de todos los autores. El autor principal se responsabilizará de la conformidad de cada uno de ellos con su publicación en **BLACPMA**, así como de cualquier problema surgido por la autoría y/o originalidad del trabajo.

Una vez recibidos, los trabajos se enviarán a dos evaluadores que decidirán su aprobación o rechazo.

Los trabajos se dividirán en Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones y Bibliografía. En cualquiera de las modalidades en la cual se presenten los trabajos, en la primera página deberá aparecer: Título del trabajo (en español e inglés), autores, institución a la cual pertenecen los autores, dirección del autor principal y correo electrónico. Deberá aparecer además un resumen en español e inglés de no más de 100 palabras, un título corto y un máximo de 6 palabras clave. Los números de las tablas y las figuras deben ser arábigos.

Las referencias bibliográficas se numerarán según el orden de mención en el texto y deberán identificarse con número arábigos. Se incluirán citas de documentos relevantes y publicados; los documentos no publicados o citas personales se incluirán dentro del texto entre paréntesis. A continuación algunos ejemplos de los principales casos:

### Revistas:

Kostennikova ZA. (1983). UV spectrophotometric quantitative determination of flavonoids in Calendula tincture. *Farmatsiya* 33 (6): 83 – 88.

Soto H, Roviroso J, San Martín A, Argandoña V. (1994). Metabolitos secundarios de *Dictyota crenulata*. *Bol. Soc. Chil. Quím.* 39 (3): 173–178.

### Libros

Durand E, Miranda M, Cuellar A. (1986). Manual de prácticas de laboratorio de Farmacognosia. Ed. Pueblo y Educación, La Habana, Cuba 130 pp.

### Capítulos de Libros:

Lopes de Almeida JM. (2000). Formulación farmacéutica de productos fitoterapéuticos, pp 113-124. En Sharapin, N: Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Ed. CAB y CYTED, Bogotá, Colombia.

Gracias de antemano por sus colaboraciones



## Quince años de Sociedad Italo-Latinoamericana de Etnomedicina (SILAE)

Cuando recibí la propuesta de escribir una editorial para la revista **BLACPMA** sobre la actividad y la historia de la **SILAE** acepté inmediatamente con mucho entusiasmo e interés, consciente de la importancia que tiene la revista en el mundo científico latinoamericano y europeo. Me encontré en una verdadera dificultad, dado que no es fácil resumir en una breve editorial la historia, la actividad científica y el esfuerzo coordinado de un gran número de personas, para crear una red en grado de implementar una colaboración científica entre los países latinoamericanos e Italia y creando fuertes vínculos institucionales y personales entre investigadores italianos y americanos.

La **SILAE** se fundó en 1992 por los profesores Francesco de Simone de Italia, Víctor Villanueva (Paris, Francia), Wagner (Munich, Alemania), Fernando Cabieses (Perú), Plutarjo Naranjo (Ecuador), los que organizaron el primer congreso italo-peruviano de etnomedicina que se llevó a cabo en Villa Guariglia en Raito (Salerno), el 12 de octubre de 1992.

A mitad de los años 80 se desarrolló un gran interés por parte de investigadores y profesores de varias universidades italianas por el estudio de plantas medicinales utilizadas tradicionalmente por los países del tercer mundo y los países en vías de desarrollo de Asia, África y sobre todo de América Latina, y el congreso de 1992 fue el punto de encuentro de estos investigadores, donde se dio a conocer los resultados de los trabajos científicos que se estaban desarrollando; el éxito del congreso condujo a la constitución de la Sociedad de Etnomedicina que en primera instancia se llamó Italo-peruviana, posteriormente se denominó Italo-Andina, hasta llegar a lo que conocemos hoy como Sociedad Italo-latinoamericana.

Los miembros de la Sociedad deliberaron y se decidió que la junta directiva debía estar constituida por tres latinoamericanos uno de los cuales desempeñaría la función de presidente, que el congreso sería anual y que tendría lugar en la segunda mitad del mes de septiembre alternativamente en Italia y en un país de Latinoamérica. En estos años han figurado como presidente: Fernando Cabieses (Perú, 1992-1994), Plutarjo Naranjo (Ecuador, 1995-1996), Juan Garbarino (Chile, 1997-1998), Massayoshi

Yoshida (Brasil 1999-2000) y Jeanette Mendez (Venezuela, 2001-2004), actualmente el Presidente es la Italiana Paola Vita-Finzi. Los congresos se desarrollaron en Salerno (1992), Lima (1993), Roma (1994), Quito (1995), Roma e Padula (SA) (1996), Antigua, Guatemala (1997), Salerno y Roma (1998), Valparaíso (1999), Urbino (2000), Isla Margarita (2001), Pavia (2002), Río de Janeiro (2003), Roma y Salerno (2004) y el último en el 2005 que se desarrolló en la ciudad de México.

La sociedad ha crecido en manera rápida manifestándose en el creciente número de investigadores y la calidad y cantidad de los trabajos presentados, participando al congreso no solo países de Latinoamérica (con excepción de Haití) si no también de otras naciones (Bahamas, Jamaica, Puerto Rico, Francia, España, Holanda, USA) lo que incrementa el éxito del congreso aunado a los temas de actualidad que se tratan, para crear un intercambio de información desde una perspectiva global, como ser Antropología, Botánica, Fitoquímica, Química de organismos marinos, Farmacognosia y Farmacología, Química de los Alimentos, Problemas de Comercialización con la CEE, etc. lo que incrementa el número de personas interesadas.

La gestión de la **SILAE** se desarrolla en forma voluntaria, sin ningún apoyo económico del gobierno italiano, sin embargo en el transcurrir de los años hemos consolidado una estrecha colaboración con organismos como el **CYTED**, con grupos franceses e ingleses, que han puesto a nuestra disposición todos los medios necesarios para la consolidación, crecimiento y fortalecimiento de la **SILAE**. En estos 15 años la sociedad ha desarrollado programas de investigación en colaboración con prestigiosas universidades latinoamericanas, que incluyen *stages* de profesores universitarios, desarrollo de doctorados de investigación en nuestras universidades con el objetivo de estudiar las plantas medicinales y alimenticias de estos países y validar el uso etnobotánico de estas plantas.

El próximo congreso se llevará a cabo en Perugia, Italia en Septiembre de 2006, el cual nos permitirá intercambiar información y ponernos al día de los avances logrados este año, y para que este congreso tenga la proyección que han tenido todos los precedente es importante la presencia de sus miembros para darle más realce al evento y esperamos contar con la presencia de más investigadores. Para facilitar la comunicación, estamos creando nuestra página Web donde podremos a disposición toda la información y los avances de la Sociedad, con lo que pretendemos constituirnos en una red internacional de intercambio de información, además a partir de febrero del 2006 podrán encontrar un formulario el cual les permitirá ser miembro de la **SILAE**, inscripción que tendrá un valor monetario simbólico ya que como ustedes saben la sociedad no cuenta con un apoyo económico, pero que si todos contribuimos seguiremos teniendo el éxito alcanzado hasta el momento, los miembros tendrán ventajas especiales como descuentos en las cuotas de inscripción a los congresos entre otros beneficios.

Además esto será un útil instrumento para tener una idea de cuantos somos y de nuestra específica actividad científica, esto nos permitirá trabajar en proyectos temáticos diferentes, así tendremos una relación mas directa, consolidando aun mas nuestras colaboraciones, trabajando juntos para alcanzar las metas que se trazaron nuestros colegas hace quince años.

Estimados amigos y colegas espero que esta editorial les de una idea del trabajo que se desarrolla al interno de la **SILAE**, y será un gran placer para nosotros verlos a todos este Septiembre en Perugia, contamos con su presencia.

**Dr. Luca Rastrelli**  
Università di Salerno - Italia  
[rastrelli@unisa.it](mailto:rastrelli@unisa.it)



## **PRIMER SIMPOSIO BLACPMA.**

### **PRIMERA ASAMBLEA DEL COMITÉ EDITORIAL**

**20 al 24 de Noviembre de 2006  
Varadero  
CUBA**

<http://www.scf.sld.cu/natprod/portada.htm>

## **Han confirmado ya su participación:**

**Geoffrey Cordell – USA**

**Ana Ladio – Argentina**

**Ángela Duque Villegas – Colombia**

**Rosalía Ramírez – México**

**Aurelio San Martín – Chile**

**José María Prieto – UK**

**Mahendra Rai - India**

**Jorge Rodríguez – Cuba**

**Francisco Morón – Cuba**

**Gabino Garrido – Cuba**

**Alberto Hernández – Cuba**

**René Delgado – Cuba**



Me es muy grato desear a todos quienes nos leen un muy **FELIZ AÑO NUEVO**, esperando que cada uno de Uds. puedan cumplir sus metas. Para todos Uds. muchas felicidades.

También me es de mucha pena comunicar el sensible fallecimiento de mi querido amigo y miembro del Comité Editorial de este Boletín, el Dr. Nikolai Sharapin, a quien conocí en Argentina en 1997, de gran carisma y excelente persona. Tuve la suerte de invitarlo a Chile en dos ocasiones y en otra a Colombia, además de un sinnúmero de veces en reuniones de **CYTED**. En la Universidad del Quindío en Colombia en el 2003 pude compartir con él más allá de lo que refleja un investigador, un hombre de ciencia, pude compartir con él en lo que sentía con ser abuelo y en donde en cada presentación terminaba mostrando una foto de una nieta residente en Argentina. También como olvidar aquellas reuniones de **RIPROFITO** en Antigua Guatemala donde salimos más de alguna vez a beber un poco de ron en las noches y donde él narraba jocosas historias. La última vez que nos vimos personalmente fue en su visita a la Universidad de Valparaíso en Chile, con motivo del Primer Curso de Control de Calidad de Fitofármacos del Conosur. Esa vez al igual que en varias anteriores estuvo en mi casa, si bien no para alojar pero si para compartir un rato. En forma personal guardaré muchos recuerdos de Nikolai, de su calidad humana, de su fuerza como científico y de sus ganas de vivir, quedó de volver algún día a conocer el Parque Nacional del Café en Colombia... ahora lo hará su espíritu.

En la misma línea debemos dar el pésame a nuestra compañera Alicia Rodríguez, que perdió recientemente a su padre. Se da el caso que Gerardo Rodríguez, era muy conocido en La Habana por el nombre de "Papá Gerardo". Fue muchos años guía de turismo y ostentaba el título de Guía Mayor (había solo 2). Nos cuentan que donde quiera que uno va por la ciudad y sale la conversación, hay alguien que lo conoció y siempre hablan con una emoción y devoción y todo el mundo termina diciendo, "usted no se imagina cuánto le debo a Papá Gerardo" o "cómo me ayudó Papá Gerardo cuando yo comencé", etc. Tal era el afecto por su persona que aquel que despidió el duelo en el cementerio lloró. Tuve el honor de conocerlo en 1999, era un tipo encantador, hablaba varios idiomas y por entonces se desempeñaba como Guía en el histórico Cementerio de La Habana.

En un número anterior en estas mismas páginas, dábamos las gracias a nuestro Editor Ejecutivo Dr. José María Prieto gracias a quien en la Universidad de Valencia (España) nos permitían tener un ciber espacio. Ahora ese espacio ya está y pronto será inaugurado. La elaboración de dicha página web estuvo a cargo del propio Dr. Prieto.

En este número iniciamos un dialogo que esperamos que nos lleve a buen puerto con la Sociedad Italo-Latinoamericana de Etnomedicina (**SILAE**), en esta oportunidad su secretario el Dr. Luca Rastrelli, quien en la editorial hace una reseña de lo que ha sido la historia de esta sociedad. Además el Dr. Rastrelli se incorpora al Comité Editorial de **BLACPMA**. También deseamos dar la bienvenida formal a la nueva Editora de Supervisión, Dra. Patricia Arenas, La Plata, Argentina. Ella reemplaza a la Dra. Rita Zeichen también de Argentina a quien damos las gracias por su labor.

Finalmente deseamos dar la bienvenida al nuevo Presidente de la Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica (**SLF**), Dr. Horacio Heinzein de Uruguay, quien pronto nos escribirá una editorial a modo de presentación.

Esperamos en Marzo tener muchas más novedades para Uds.

Les saluda

**José Luís Martínez**  
Editor Jefe



Estimados amigos:

Con mucho pesar he recibido la noticia desde Brasil del sensible fallecimiento de nuestro querido amigo y compañero de tantos eventos que juntos pudimos compartir, me refiero al Dr. Nikolai Sharapin.

Quienes tuvimos la ocasión de compartir tantos momentos juntos, nos es de gran pesar su partida, pero nos deja tras de sí un gran legado, que servirá de ejemplo para generaciones futuras.

Tuve el honor de compartir muchas veces con Nikolai, en Guatemala, en Cuba, en Chile y una ocasión muy hermosa como la vivida junto a Marco Dehesa en Colombia el 2003 que nos permitió conocerle más allá del investigador y quizás tener en nuestros recuerdos a aquel hombre gentil y caballero. Se que en Colombia como en Chile y en toda América será recordado y muchos rostros se llenarán de tristeza con su alejamiento.

Además como miembro del Comité Editorial de BLACPMA siempre estuvo dispuesto, incluso cuando ya no se sentía bien de salud...

Gracias Nikolai por todo lo que nos dejaste....

**Jose Luis Martinez**  
Editor Jefe



**O Professor NIKOLAI SHARAPIN** nasce em 20 de maio de 1939, na cidade de Harbin - China, com nacionalidade russa. Ainda jovem veio ao Brasil, onde obteve a cidadania brasileira em 22 de abril de 1959. Se graduou em Farmácia na Faculdade Nacional de Farmácia da Universidade do Brasil (hoje - Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro) em dezembro de 1961. Recebe em 1980 o título de Alta qualificação científica (notório saber) conferida pelo Departamento de Química do Instituto de Química da Universidade Federal Fluminense. No mesmo ano se torna Professor Titular do Departamento de Química do Instituto de Química da Universidade Federal Fluminense, após defesa de tese intitulada "Contribuição para o aproveitamento do suco de sisal como fonte de esteróides".

Foi membro da Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira e Diretor da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal Fluminense no período de 2000-2003. Foi ainda coordenador da Área de Fitoquímica do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas UNICAMP no período de Janeiro de 1987 a Agosto de 1995. Criador e coordenador do Laboratório de Tecnologia de Produtos Naturais LTPN, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal Fluminense, se tornou referência em toda a Ibero-América na área de Tecnologia de Produtos Naturais, ministrando cursos em praticamente todos os países da América do Sul e Central. Deixa como obra diversas publicações científicas, patentes e livros científicos, dedicados principalmente ao crescimento industrial e autosuficiência em medicamentos dos povos da América Latina.

Seu exemplo de dedicação e paixão pelas plantas medicinais de nosso continente ficaram, e a luta pela melhoria da saúde de nosso povo agora se faz luta de todos nós, que tivemos a honra de conviver com pessoa de visão tão ampla, que se tornou um de nossos maiores latino-americanos.

Fuente: Universidad Federal Fluminense (<http://www.uff.br/>)

(Autorizado por Dr. Leandro M. Rocha, de la Universidad Federal Fluminense, Río de Janeiro, Brasil).

Algunas reacciones tempranas del mundo académico llegadas a la redacción de BLACPMA antes del cierre de esta edición:

*"Es una pena la pérdida del Prof. Nikolai Sharapin, lo cual lamentamos."*

**Dr. Jesús Rodilla**  
Universidade de Beira Interior, Portugal.

*"Penosa noticia para comenzar el año 2006. No lo conocí pero aprecié sus textos de CYTED y CAB."*

**Dr. Francisco Morón**  
Universidad Médica de La Habana, Cuba.



Comentario

## La columna de Michael Heinrich

### La Etnofarmacología - 'quo vadis?'

En los últimos 12 meses he tenido el placer y el honor de escribir una columna en el Boletín. El Dr. José Prieto me ofreció esta tarea y así el pensamiento en **BLACPMA** fue un acompañante durante todo el año. Muchas veces lo escribí en el tren o – durante reuniones y congresos en la noche en el hotel y me ha animado a reflexionar sobre la visión general y la dirección del estudio de las plantas aromáticas y medicinales en más detalle.

Esta es mi última columna en esta forma. Habrá que ver cambio y nuevas ideas pero como última columna quiero poner una pregunta al los lectores del Boletín: Etnofarmacología 'quo vadis? Como algunos de Uds. saben soy (entre otras responsabilidades) el editor de Reseñas y Comentarios de la revista 'Journal of Ethnopharmacology' y la idea para esta pregunta nació de mi involucramiento en el campo. La etnofarmacología tiene una breve historia de aproximadamente 40 años. Nació más que nada de un interés en sustancias psicoactivas. En estos cuarenta décadas la diversidad y la cantidad de investigación aumentó en una manera que nadie había previsto. En 1979 Rivier y Bruhn definieron la Etnofarmacología como "a multidisciplinary area of research concerned with the observation, description, and experimental investigation of indigenous drugs and their biological activity". Obviamente el marco teórico y las visiones sobre la disciplina han cambiado durante los últimos veinte años y en 2001 se publicó una declaración revisada que ahora sirve para definir las metas generales del diario y la sociedad (Heinrich 2001, cf. Etkin y Elisabetsky 2005).

Pienso que hoy-en-día necesitamos una discusión acerca de las metas específicas y el marco de referencia de investigación etnofarmacológicas. **¿Es simplemente el estudio fitoquímico o farmacológico de plantas medicinales y tóxicas? ¿Y que conexión tiene que existir entre estos estudios de laboratorio y el uso local o tradicional?** Como investigador que ha hecho personalmente estudios de campo y de laboratorio, a mi me importa también el aspecto de los trabajos de campo y de la divulgación local de los resultados etnofarmacológicos. ¿Que nos importa en este campo de

investigación? ¿Cuales son las prioridades? No es una pregunta académica pero tiene implicaciones muy importantes, ya que solamente con una visión común (que tiene que representar la diversidad cultural e intelectual), lograremos más ayudas económicas de los organismos pertinentes y la atención del público en general. Es un privilegio académico el avanzar discusiones teóricas con el último fin de contribuir a un mejor mundo. **BLACPMA** y otros boletines son el lugar ideal para una discusión sobre eso. Lo que espero con esta columna es simplemente incitarles a que me respondan con sus ideas así que deseo que me manden sus visiones al **BLACPMA**.

Para finalizar, el título de esta columna está basado en la leyenda de San Pedro, quien – escapando de la cárcel de Nerón en Roma – vio la imagen de Jesús al que pregunto 'Quo vadis?' Bueno pues, obviamente no estamos saliendo de la cárcel, pero para muchos científicos ajenos a la Etnofarmacología esta sigue siendo un campo de investigación exótica o, para ponerlo en palabras más simples, un bicho raro. Para que estos reflexionen a su vez la Etnofarmacología es al mismo tiempo un campo que se está desarrollando con una rapidez enorme y que tiene un futuro muy cautivador. Pero llegamos a un punto donde hay que pensar cuales son los conceptos básicos y así espero de recibir muchas respuestas a esta pregunta 'quo vadis?'

**Prof. Michael Heinrich**

Centre for Pharmacognosy and Phytotherapy  
The School of Pharmacy, University of London,  
Email: [phyto@ulsop.ac.uk](mailto:phyto@ulsop.ac.uk)

#### Referencias

- Etkin, N.L. and E. Elisabetsky (2005). Seeking a transdisciplinary and culturally germane science: The future of ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 23 – 26.
- Heinrich, M., (2001) Editorial: *Journal of Ethnopharmacology*: an interdisciplinary journal devoted to indigenous drugs. *Journal of Ethnopharmacology* 76 (2), 137–138.
- Heinrich, M., Gibbons, S. (2001) Ethnopharmacology in drug discovery: an analysis of its role and potential contribution. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 53, 425–432.
- Jaeger, Anna (2005) Is traditional medicine better off 25 years later? *Journal of Ethnopharmacology* 100: 3-4.
- Rivier, L, and J. G. Bruhn (1979) Editorial. *Journal of Ethnopharmacology* 1(1): 1
- Verpoorte, R. Y.H. Choi, H.K. Kim (2005) Ethnopharmacology and systems biology: A perfect holistic match. *Journal of Ethnopharmacology* 100: 53 – 56.



Comentario

## Respuestas seleccionadas

Hemos invitado a la comunidad científica a que comenten la última Columna de Michael Heinrich. He aquí algunas de las primeras respuestas llegadas a nuestra redacción. A todos muchísimas gracias por su colaboración y seguimos esperando sus reacciones para así establecer un foro de discusión vivo.

### La Etnofarmacología - 'quo vadis'?



#### Desde Venezuela:

En relación a la Etnofarmacología, sin dudas, la definición de 1979, conserva aun algo de vigente, y es el caso de: "...un área multidisciplinaria de investigación...". Sucede que eso puede ser un problema, en nuestra América Latina, en donde el **caciquismo**, no nos permite interactuar adecuadamente para lograr un fin común. Son muy pocos los grupos de investigación, hablando siempre de Latinoamérica, en donde existe la disposición de sacrificar espacios de figuración individual para sumar al colectivo. Esto trae como consecuencia que la etnofarmacología sea vista por muchos profesionales científicos, como cosa de "brujos" y "poco seria". Si a esto sumamos la gran proliferación de productos que ofrecen sustituir los fármacos sintéticos por sustancias naturales (sin las correspondientes certificaciones) el panorama no resulta alentador.

Me confieso creyente de que sólo el trabajo en equipo con el aporte de diferentes áreas del conocimiento puede producir el efecto que buscamos. La investigación participativa de farmacólogos, médicos, químicos, botánicos, antropólogos, biomédicos, y cualquier otra área afín, junto con el conocimiento ancestral de las diferentes comunidades, hará de la Etnofarmacología una ciencia de vanguardia.

**Jeannette Blanco de Méndez**

Química, PhD,

Profesora titular Universidad Central de Venezuela



#### Desde Reino Unido:

Son muchos los temas que la columna de M. Heinrich nos plantea bajo la sugestiva cuestión de Etnofarmacología "quo vadis?" Entre otras, se plantea cuáles son las prioridades de nuestra investigación. Esto, sin duda, es extremadamente relevante y el modo de abordar estas cuestiones influye mucho en el papel que la disciplina juegue en el ámbito científico y la relevancia social que pueda tomar. En este sentido, no debemos olvidar que los estudios etnofarmacológicos, tienen el requisito ético de que estos estudios tengan alguna utilidad para quienes aportaron su conocimiento. Ayudar a que este valioso patrimonio no se pierda y a su divulgación es un primer paso, pero también como etnofarmacólogos debemos plantearnos que nuestros estudios deben ayudar a que las plantas medicinales pueden seguir utilizándose con eficacia y seguridad de un modo sostenible. No hay que olvidar que si bien el uso de plantas medicinales es un tema de elección en determinados países, éstas siguen siendo vitales para muchísimas personas. Como científicos estamos además obligados a transmitir nuestro conocimiento a través de revistas especializadas y otras vías y muchas veces estas tareas son celosas y no nos permiten repartir nuestro tiempo con las tareas que permiten que la devolución de los conocimientos se lleve a cabo. La etnofarmacología, sin duda obtendrá una gran relevancia social si lograr hacer compatibles estas dos tareas.

**Manuel Pardo de Santayana,**

Ldo. En Filosofía, Dr. en Biología

Research Fellow,

Centre for Pharmacognosy and Phytotherapy, School of Pharmacy, Universidad de Londres





Desde Chile:

El Dr. Michael Heinrich se/nos pregunta “a dónde va la etnofarmacología”, definida en el Journal of Ethnopharmacology como “la observación e investigación experimental de las actividades biológicas de sustancias vegetales y animales empleadas en la medicina tradicional de culturas del pasado y del presente”. En una vena más restrictiva, leemos la recomendación de que los artículos enviados a esta revista se concentren en actividades biológicas que guarden relación con los usos y modos de administración tradicionales. Este y otros aspectos han sido tratados ampliamente en el primer número del volumen 100 del *J. Ethnopharmacol.*, algunos de cuyos artículos son citados por Heinrich pero que merece ser leído en su totalidad. Sin embargo, muchos profesionales de la disciplina todavía parecen sentirse cómodos con la definición más amplia de Rivier y Bruhn.

A su pregunta de si la etnofarmacología “es simplemente el estudio fitoquímico o farmacológico de plantas medicinales y tóxicas” creo que hay que responder con un rotundo “no”. Sigue “¿Y que conexión tiene que existir entre estos estudios de laboratorio y el uso local o tradicional?” Consciente del riesgo de entregar una visión demasiado estrecha, me parece que la práctica de lo que llamamos etnofarmacología ha pecado de todo lo contrario, dejando de lado aspectos etnográficos y culturales y concentrándose en el análisis de materiales vegetales (y a veces animales) aislando componentes mayoritarios o fáciles de obtener con poca consideración de su posible actividad, efectuando estudios farmacológicos alejados de las aplicaciones de las drogas naturales y más alejados aún de las formas de uso tradicional. Sin negar el enorme interés de estudios farmacológicos de compuestos puros in vitro o más excepcionalmente in vivo, aunque administrándolos en forma aguda y por vía parenteral, trabajos como estos dan pocas luces acerca de la eficacia y los peligros de la administración de mezclas complejas por vía oral, rectal o tópica y muchas veces en forma crónica, que son algunas de las características más marcadas de los remedios “populares”.

En resumen, la comprensión y la validación científicas de las farmacoterapias tradicionales exigen mucho más trabajo in vivo alcanzando en lo posible a fases clínicas, prestando atención cuidadosa al entorno cultural en el que han surgido. Sólo después tiene sentido “etnofarmacológico” estudiar a fondo la farmacología y la toxicología de los componentes puros y sus interacciones, tanto entre sí como con los alimentos y los productos utilizados en la medicina que llamamos moderna.

#### *Ethnopharmacology - ‘quo vadis’?*

*Dr. Michael Heinrich asks himself/us “whither ethnopharmacology”, defined in the Journal of Ethnopharmacology as “the observation and experimental investigation of the biological activities of plant and animal substances used in the traditional medicine of past and present cultures”. In a more restrictive vein, we read the recommendation that the articles submitted to this journal should concentrate on biological activities germane to traditional uses and modes of administration. This and other aspects have been extensively dealt with in the first number of volume 100 of the J. Ethnopharmacol., some of whose papers are cited by Heinrich but deserve to be read in their entirety. However, many practitioners of the discipline still seem to be comfortable with the broader, Rivier-Bruhn definition.*

*I believe that his question whether ethnopharmacology “is simply the phytochemical and pharmacological study of medicinal and toxic plants” should be answered with a rotund “no”. Then follows “What connexion ought to exist between these laboratory studies and local or traditional uses?” Aware of the risk of conveying an overly narrow view, I think that the practice of what we call ethnopharmacology has sinned in the opposite direction, leaving aside ethnographic and cultural aspects and concentrating on the analysis of plant (and sometimes animal) materials, isolating major components or those that are easier to obtain, with little consideration to their possible activity, performing pharmacological studies that are far from the applications of the natural drugs and even further removed from their traditional modes of use. Without denying the enormous interest of in vitro, and more exceptionally in vivo pharmacological studies of pure compounds which are then administered acutely and parenterally, such work sheds little light upon the efficacy and the dangers of the administration of complex mixtures by oral, rectal or topical routes and often in a chronic regime, which are some of the highlights of “folk” remedies.*

*In summary, the understanding and the scientific validation of traditional pharmacotherapies require much more in vivo work, reaching clinical phases whenever possible, giving careful attention to the cultural milieu in which they have arisen. It is only at a later stage that it makes “ethnopharmacologic” sense to study in depth the pharmacology and toxicology of pure components and their interactions, among themselves and with foods and so-called “modern” drugs.*

**Bruce K. Cassels**

Departamento de Química, Facultad de Ciencias y  
Programa de Farmacología Molecular y Clínica, I.C.B.M.. Universidad de Chile.



## Desde Argentina:

Pienso que la etnofarmacología tiene una deuda con la sociedad: **devolverle todas las validaciones que supo conseguir a quienes la nutrieron de materia:** las culturas tradicionales.

Debe crecer en ambos sentidos: hacia el conocimiento científico de la calidad, eficacia y seguridad de cada medicamento, como lo viene haciendo hasta ahora. Pero también hacia la percepción cultural de la tradición, aportándole el criterio y el rigor científico y contribuyendo a sinergizar y orientar los beneficios de su aplicación.

Debe **revisar la transculturización y debe ser muy cuidadosa al globalizar sus resultados**, a sabiendas de que cada grupo humano es indisoluble de su cultura y su entorno biológico, geográfico y físico.

En el intrincado mecanismo que da origen a una tradición hay tres dimensiones que dan cuerpo a su existencia.

a) La primera es una dimensión de *factibilidad*, que le da la fuerza de lo creíble. En nuestra región el tomar mate es una tradición porque consumiéndolo nos sentimos bien.

b) Hay también una dimensión *temporal*, que acentúa el sentido de pertenencia y por lo tanto el de diversidad, siendo éste su mayor valor. Cuando nosotros tomamos mate, solemos hacerlo en grupo, y lo hacemos porque inconscientemente reconocemos que estamos repitiendo algo que es atávico en nosotros, que nos identifica como grupo.

c) Pero hay una tercera dimensión, de *incertidumbre*, vinculada con la explicación parcializada de la realidad, y que mantiene a la tradición como tal, sin transformarse en dogma o en la escrupulosidad de una norma o de una ley. **La tradición se mantiene por una creencia, no por un proceso cognitivo e irrefutable, y por beneficiar de alguna manera cierta forma de vida.** No tenemos ni necesitamos tener un criterio claro de por qué, cuándo y cómo tomamos mate, y nos cuesta encontrar circunstancias parecidas en otras culturas para darle un sentido a su consumo.

El estudio etnofarmacológico del consumo del mate puede aportar valores que ayuden a encontrar las causas que justifican este consumo en nuestra cultura: contenido de cafeína, efecto hipocolesterolemizante, características organolépticas singulares, similitud con otras bebidas energizantes, pretexto de motivación comunicacional, complementariedad con una dieta rica en carne, etc.

Una visión amplia del concepto de medicamento tradicional debe contemplar todos los condicionantes de su existencia. Para ello **la etnofarmacología debe solaparse con la antropología, la sociología y hasta con la etología, para abarcar la concepción cultural del uso de cada medicamento y cada estado patológico.** Tiene la posibilidad o la fortaleza de poder acreditar una costumbre, también de desmitificarla.

Los logros de la etnofarmacología normalmente se miden sumando aquellos medicamentos que se originaron en un hábito social y hoy forman parte del arsenal terapéutico internacional. Pero también debiera insistirse en la convalidación reglamentaria de tradiciones, como son las legislaciones sobre fitoterápicos que han surgido en muchos países y regiones del orbe. Y en la correcta comprensión de la relación beneficios/riesgos que vincula una circunstancia cultural con la tradición de uso de un medicamento.

**Arnaldo Bandoni**

Profesor de Farmacognosia, Universidad de Buenos Aires, Argentina

La etnofarmacología, como todas las áreas científicas, se ve permanentemente expuesta a nuevos marcos teóricos y paradigmas a lo largo del tiempo. Esto implica no sólo un gran desafío, sino también, demanda a los investigadores una gran flexibilidad hacia nuevos puntos de vista.

Creo que la etnofarmacología actual debería encaminarse a una apertura de enfoques que integre más dimensiones de esa relación que se establece entre las plantas medicinales y los seres humanos. Por ejemplo, la farmacodinamia ya no puede ser vista como una relación simple entre compuesto activo y efecto, y este es nuestro gran desafío para el futuro, entre tantos otros. Y nuestro principal interés debería ser mostrar científicamente esa **complejidad**. En mi opinión, solo así podremos generar un mayor entendimiento en la sociedad y en los organismos de salud sobre el uso de plantas medicinales, que derive en un mejoramiento efectivo de la salud de nuestros pueblos. Una prioridad que no debemos olvidar.

Dr. Heinrich, lo vamos a extrañar.

**Ana H. Ladio**

Investigadora CONICET-UNCo, Bariloche, Argentina.



Ghana

## Artículo Original

### ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Hymenostegia afzelii* AND *Napoleanea vogelii*

Actividad Antimicrobiana de *Hymenostegia afzelii* y *Napoleanea vogelii*.

Christian AGYARE<sup>1\*</sup>, Abraham Yeboah MENSAH<sup>2</sup>, Kwame SARPONG<sup>2</sup>, Gustav KOMLAGA<sup>2</sup>

The referees of this article were: Dr. Guillermo Schinella, Universidad de La Plata (Argentina) and Dr. Leonora Mendoza, Universidad de Santiago de Chile.

Received July 26, 2005. Accepted September 1, 2005.

1. Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi, Ghana.
2. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi, Ghana.

\*Corresponding Author. Tel. 233-51-60374

E-mail: [chrisagyare@yahoo.com](mailto:chrisagyare@yahoo.com).

#### Resumen

La presente Investigación pretende establecer las bases científicas del uso en medicina popular de dos plantas (*Hymenostegia afzelii* and *Napoleanea vogelii*) en el tratamiento de heridas, úlceras, infecciones pulmonares y también como masticatorios. Los extractos metanólico y etéreo de las dos plantas mostraron cierta actividad antimicrobial, sugiriendo que su uso en medicina tradicional esta basado en esta propiedad.

**Palabras clave:** *Hymenostegia afzelii*, *Napoleanea vogelii*, Actividad Antimicrobiana.

#### Abstract

Investigation was carried out on two plants (*Hymenostegia afzelii* and *Napoleanea vogelii*) used in traditional medicine to establish the scientific basis of their use for treating wounds, sores, chest infections and as chewing sticks. The methanol and petroleum ether extracts of the two plants showed some levels of antimicrobial activity. The antimicrobial activity suggests that the folkloric use of these plants may be based on the antimicrobial activity.

**Key words** *Hymenostegia afzelii*, *Napoleanea vogelii*, Antimicrobial Activity.

## INTRODUCTION

Medicinal plants are those which have one or more organs containing substances that can be used for therapeutic purposes, or organs which contain substances that can be used as precursors for the synthesis of drugs. The therapeutic function of many of these plants has been at present recognized for a long time. The history of the use of these medicinal plants for therapeutic purposes probably dates back from the origin of man. The value of quinine from cinchona bark in the treatment of malaria was discovered by the Indian of Peru and the drug was first used in Europe in the early seventeenth century (1).

In Ghana, there is growing awareness of the importance of medicinal plants in healthcare delivery. According to a World Health Organization's survey, about 70% of the patients in Ghana are treated by traditional practitioners (2).

*Hymenostegia afzelii* belongs to the family Caesalpinaceae. The local 'twi' name is 'takorowa'. It can be found in deciduous and secondary forests. It is a small tree up to 60 feet high, but generally much smaller. It has a dark grey bark, which is thin and slightly hard. The tree is distinctly ornamental and may be used for decorative purposes. In Ghana, the twigs are used as chewing sticks. The root decoration is used as cough and whooping cough remedy. The roots and leaves are used in the management of wounds and sores (3).

*Napoleanea vegellii* belongs to the family Lecythidaceae and is locally known in 'Twi' as 'obua'. It is found in the forest under growth of closed and fringing forest. It is a shrub or a small spreading tree up to 50 feet high with fibrous and alternate leaves. The roots are used as febrifuges and as chewing sticks. The bark is used for treatment of skin diseases by the local folks (3).

## MATERIALS AND METHODS

### Preparation of plant extracts

The leaves and stem barks of *Hymenostegia afzelii* and *Napoleanea vogelii* were collected in May, 2004 from Bobiri Forest Reserve of Forest Research Institute of Ghana (FORIG) and were authenticated by Mr. Alfred Boakye of Forest Research Institute of Ghana. Voucher specimens of the *H. afzelii* and *N. vogelii* labelled HAS1 and NVO2 respectively are deposited at the Faculty of Pharmacy, KNUST in Kumasi, Ghana. The plant materials were dried in the sun light and powdered. 120g and 100g of the powdered materials of *H. afzelii* and *N. vogelii* respectively were continuously extracted with petroleum ether (AnalaR grade) and methanol (96%) (AnalaR grade) with a soxhlet apparatus for eight hours.

The percentage yields for the various extracts are shown in Table 1.

### Phytochemical Screening

Part of the dried powdered materials was subjected to preliminary phytochemical testing for the major chemical groups (Table 1). Below is the brief description of the methods used for the detection of the various chemical groups

#### Alkaloids

Being bases, the alkaloids were extracted from the extracts into a weak acid (10% acetic acid in ethanol) alcoholic solvent and then precipitated with concentrated ammonia.

Also, Dragendorff's reagent was added to 2ml of acidic portions of extracts into a test tube. An orange precipitate indicated the presence of alkaloids.

#### Tannins

A few drops of ferric chloride were added to a diluted extract in a tube and shaken. The solution turned blue in presence of hydrolysable tannins.

Also, 2ml both of the methanol and petroleum extracts were diluted with water to 10ml, and a few drops of lead acetate solution were added. A white precipitate showed the presence of tannins.

### Saponins

The extract was shaken with a few millilitres of water and shaken in a test tube. The formation of persistent foams indicated the presence of saponins.

### Sterols

A thin layer chromatography plate of the extracts sprayed with Carr-Price reagent (20% antimony chloride in chloroform). A range of colours are produced in both daylight and UV on heating sprayed plates for 10 minutes at 100° C. Different colours show different triterpenoids or sterols (4).

### Used Microorganisms

*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, and *Aspergillus niger* were obtained from the Microbiology Laboratory, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, all the necessary confirmatory tests were performed on all the test organisms to ascertain their authenticity.

### Evaluation of Antimicrobial Activity

The agar diffusion method was used in this determination. Three of 20ml of nutrient agar were melted in water bath at 100°C for 30 minutes after which they were stabilized at 45°C for 15 minutes. Each molten agar inoculated with 0.2ml of a 24-hour culture of the test organism. The seeded agar was poured into separate sterile Petri dishes and allowed to set. Using a sterile cork borer number 6, four cups were bored in the set agar and cups were labelled appropriately. Each cup was filled with 0.05ml of 1%w/v of extracts from each plant part (*H. afzelii* and *N. vogelii*) and 1%w/v of chloramphenicol was used as reference drug for the bacteria . Sabouraud dextrose agar was used as the culture medium for the fungi and the above mentioned procedure was repeated. The extracts from each plant part were tested against two fungi and 1%w/v ketoconazole used as the reference drug for the fungi. The plates were allowed to stand for one hour to allow adequate diffusion of the extracts and reference drugs. The plates seeded with bacteria were then incubated at 37°C for 24 hours and other plates seeded with the fungi incubated at 28°C for 7days. The zones of inhibition (mm) were measured and recorded (5).

## RESULTS

### Phytochemical screening of the extracts

Reported in Table 1

### Antimicrobial Activity of Extracts

Reported in Tables 2 and 3 (antibacterial and antifungal activities).

## DISCUSSION

The methanol and petroleum ether extracts of the stem barks and leaves of *H. afzelii* and *N. vogelii* exhibited activity against all the test organisms. The methanol extracts of both plants showed higher activity against the test organisms compared to the petroleum ether extracts.

Both extracts from the two plants contain tannins, alkaloids and saponins. Polyphenols occur frequently in plants mostly in the bark, but can also be found in the roots, leaves and fruits. They usually occur in the form of tannins. These phenolic compounds are known to promote healing of wounds, burns and ulcers (6). They do this by forming an impervious protecting coating when they are in contact with damaged tissue. And as shown in this study the extracts inhibited the growth of the test bacteria and fungi.

The antimicrobial principle(s) / constituent(s) seems to be more pronounced in the methanol extracts compared to that of the petroleum ether extracts of the two plants. The extracts were less active against *Ps. aeruginosa* which is naturally resistant to orthodox antibacterial agents (7).

**Table 1:** Phytochemical screening of the extracts

| Botanical Name<br>Extract/Part Used | Extract<br>(% Yield) | Phytochemic<br>al Screening |
|-------------------------------------|----------------------|-----------------------------|
| <b><i>H. afzelii</i></b>            |                      |                             |
| Methanol                            |                      |                             |
| leaf                                | 19.8                 | A, S, T                     |
| stem bark                           | 21.6                 | A, S, SA, T                 |
| Petroleum ether                     |                      |                             |
| leaf                                | 3.2                  | A,SA, T                     |
| stem bark                           | 4.1                  | A, S, T                     |
| <b><i>N. vogelii</i></b>            |                      |                             |
| Methanol                            |                      |                             |
| leaf                                | 15.3                 | A, SA, T                    |
| stem bark                           | 9.5                  | A, T                        |
| Petroleum ether                     |                      |                             |
| leaf                                | 4.5                  | A, S, T, SA                 |
| stem bark                           | 1.8                  | A, S, T                     |

A = Alkaloids, S = Sterols, SA = Saponins,  
T = Tannins

**Table 2:** Antimicrobial activity of the extracts of *H. afzelii*

| Extract<br>(1% w/v) | Organisms      |                      |                    |                  |                    |                 |
|---------------------|----------------|----------------------|--------------------|------------------|--------------------|-----------------|
|                     | <i>E. coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>C. albicans</i> | <i>A. niger</i> |
| Methanol stem bark  | 13.0           | 12.0                 | 15.0               | 13.5             | 14.0               | 12.5            |
| Methanol leaf       | 16.0           | 11.0                 | 14.0               | 15.5             | 13.0               | 14.0            |
| Pet ether Stem bark | 12.0           | 10.5                 | 12.0               | 12.0             | 13.0               | 12.0            |
| Pet ether leaf      | 13.0           | 11.0                 | 15.0               | 13.0             | 14.0               | 13.5            |
| Chloramphenicol     | 22.0           | 13.0                 | 18.5               | 20.0             | -                  | -               |
| Ketoconazole        | -              | -                    | -                  | -                | 21.0               | 17.0            |

Values are inhibition (mm) and an average of triplicate

**Table 3:** Antimicrobial activity of the extracts of *N. vogelii*

| Extract<br>(1% w/v) | Organisms      |                      |                    |                  |                    |                 |
|---------------------|----------------|----------------------|--------------------|------------------|--------------------|-----------------|
|                     | <i>E. coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>C. albicans</i> | <i>A. niger</i> |
| Methanol stem bark  | 12.0           | 10.5                 | 13.0               | 12.0             | 15.0               | 11.5            |
| Methanol leaf       | 13.0           | 12.0                 | 15.0               | 17.0             | 15.0               | 12.0            |
| Pet ether Stem bark | 12.0           | 10.5                 | 12.0               | 12.0             | 13.0               | 12.0            |
| Pet ether leaf      | 15.0           | 11.5                 | 15.0               | 16.0             | 16.0               | 14.0            |
| Chloramphenicol     | 22.0           | 13.0                 | 18.5               | 20.0             | -                  | -               |
| Ketoconazole        | -              | -                    | -                  | -                | 21.0               | 17.0            |

Values are inhibition (mm) and an average of triplicate

## CONCLUSIONS

The methanol and petroleum ether extracts of the plants were significantly active against the bacteria (both Gram positive and Gram negative) and the two fungi studied. Further studies will be needed to identify the compounds responsible for this activity.

## Acknowledgements

The authors want to thank Mr. Alfred Boakye, botanist of Forest Research Institute of Ghana for the identification of the plants.

## REFERENCES

1. Torti F. (1993). Early History of Cinchona, , Johns Hopkins University Press, Baltimore, pag 354
2. Ayitey-Smith E. (1986). The Prospects and Scope of Plant Medicine in Health Care, Ghana University Press, Accra, 1-10.
3. Irvine FR. (1961). Woody plants of Ghana with special reference to their uses, Oxford University Press, London, 107-108, 310-311.
4. Harborne JB. (1991). Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis, Chapman and Hall, London, 58, 74, 84-88, 120, 124-126, 196-201.
5. Collins CH and Lyne PN. (1970). Collins and Lyne's Microbiological Methods, 3<sup>rd</sup> Edition, London, University Park Press, Butler-Sworts, 120-137
6. Mensah, AY, Sampson, J., Houghton PJ, Hylands PJ, Westbrook, J, Dunn, M, Hughes MA and Cherry GW (2001). Effects of *Buddleja globosa*

leaf and its constituents relevant to wound healing. J. of Ethnopharm. 77:219-226.

7. Bryan E. (1982). Bacterial Resistance and Susceptibility to chemotherapeutic agents, Cambridge University Press, Cambridge, 2-6.

Este artículo puede ser libremente distribuido y(o) copiado para uso personal siempre que lo sea en su integridad. No se permite su modificación ni su uso parcial o total para fines comerciales. Si por cualquier razón Vd. desea redistribuirlo en gran cantidad le agradeceremos que nos lo informe. Todo trabajo basado en este artículo o derivado de su uso debe citar convenientemente la fuente.



<http://www.blacpma.cl>



Mexico

## Original Article

### ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ANTIBACTERIAL COMPOUNDS FROM *Oedogonium capillare* LEAVES

Aislamiento e identificación de compuestos antibacterianos de hojas *Oedogonium capillare*.

Rosa Martha PÉREZ-GUTIÉRREZ

The referees of this article were: Dr. Mario Silva, Universidad de Concepción, Chile y el Dr. Aurelio San Martín, de la Universidad de Chile.

Received May 22, 2005. Accepted August 12, 2005.

Laboratorio de Investigación de Productos Naturales. Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas IPN. Punto fijo 16, col. Torres Lindavista cp 07708, México D.F. México. Telephone: 57296000 ext. 55142.

E-mail: [rmpg@prodigy.net.mx](mailto:rmpg@prodigy.net.mx)

#### Resumen

Dos diterpenos Labdánicos fueron aislados del alga *Oedogonium capillare* usando una fraccionamiento bio-guiado. La estructura de los se caracterizaron mediante analisis espectroscópico compuestos resultaron ser Labdan  $8\alpha,13\alpha$  diol y labdan  $8\alpha$ -ol-15-acetoxi. Estos compuestos resultaron activos contra bacterias gram positivas y gram negativas.

**Palabras clave:** *Oedogonium capillare*, diterpenos Labdánicos, *Actividad Antimicrobiana*.

#### Abstract

Labdane diterpenes were isolated from the algae *Oedogonium capillare* using bio-guided fractionation. The compounds were determined to be Labdan  $8\alpha,13\alpha$  diol and labdan  $8\alpha$ -ol-15-acetoxy, their structures were characterized by analysis of spectroscopic data. Isolated compounds elicited activity against gram positive and gram negative bacteria.

**Key words** *Oedogonium capillare*, Labdane diterpenes, Antimicrobial Activity.

## INTRODUCTION

*Oedogonium capillare* (Linn) commonly known as “alga verde”, “lama” or “masas flotantes” is used as feed for frogs in their first stages of development and for other aquatic organisms of commercial interest. All parts of these algae are used in the traditional medicine for the treatment of various human ailments such as dysentery, diarrhea to cure thrush on tongues of babies, wound healing and have been used as an antiseptic on various skin diseases. This alga is very common in México during March and July. Previous experiments carried in our laboratory revealed that the leaves possessed high antispasmodic activity produced by one novel  $\delta$ -lactone named oedogonolide (1). *Oedogonium capillare* leaves were studied further by bioassay-guided fractionation in order to isolate and characterize the major compounds responsible for its antibacterial properties. The compounds identified are labdane diterpenes.

## MATERIAL AND METHODS

### Plant material

Specimens of *Oedogonium capillare* (L.) Kutzing belongs to the *Oedogoniaceae* (Chlorophycophyta) were collected at Centro de Investigaciones Biológicas Acuícolas (CIBAC) in Xochimilco, Mexico, where frog breeders develop massively in excellent conditions. For its collection a special net was used. The most vigorous and clean algae were selected, as dead leaves and organic residues from different origins fall on the surface of water. They were finest cleaned under clean running water, removal of visible foreign particles. Thereafter, 3 washings using a centrifuge at 1500 rpm were made for 5 min duration each, to eliminate possible microorganisms. The material was then observed in a microscope to determine the purity. The algae were taxonomically identified at the Departamento de Ficología de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, from earlier description and a voucher specimen of the plant was retained.

### Preparation of extract

Cleaned of *O. capillare* were dried at room temperature and ground into a fine powder. Three hundred g were heated to reflux temperature (Soxhlet) with 1 l of hexane, chloroform, and methanol separately for 5 h. The solvents were removed under reduced pressure using a rota-evaporator to constant weight. The

yields of the hexane, chloroform, and methanol extracts were of 1.1, 2.1, and 3.6%, respectively. The antimicrobial activity of hexane, chloroform, and methanol and compounds 1 and 2 were determined against *Bacillus subtilis* (NCTC 8542), *Bacillus cereus* (ATCC 17689), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 14786), *Salmonella typhi* (ATCC 13310), and *Staphylococcus aureus* (NCTC 8531).

The extracts were dissolved in dimethyl sulphoxide (DMSO). Dilutions of 100 and 200  $\mu\text{g/ml}$  were added to a fixed volume of Plate Count Agar (PCA). They were then superficially inoculated with a single line of an overnight culture of the different microorganisms and incubated at 37 °C for 24 h. Results were recorded as growth or growth inhibition at each extract concentration (2). Bacterial cultures were developed in Nutrient Broth (Oxoid). Inoculations were prepared by diluting overnight cultures with the medium ( $10^5$  u.v./ml).

The MIC (minimal inhibitory concentration) was determined for the active compounds 1 and 2, which showed antibacterial activity in the plate assay. The turbidimetric method was used with serial dilutions of the extract in 4 ml of the Plate Count Broth or Tryptic Soy Broth. Both media were used to assay the MIC of the active compounds against bacteria (3). Each MIC of the different compounds dissolved in DMSO was determined three times for all the strain tested. Gentamicine and kanamycin were used as positive control and DMSO as negative control.

### Isolation of diterpenes from the leaves

The dried leaves of *O. capillare* were ground to a powder and 1000 g were extracted in a Soxhlet apparatus with chloroform. The extract was evaporated in vacuum. The residue was fractionated by column chromatography on a silica gel column, eluted with chloroform. At this stage, column fractions were assayed according to bioassay method described. Similar active fractions were combined from each chromatography column and in this way two of the most active fractions (A, B) were re-chromatographed. Fraction A (1.2 g) was eluted with 10:1:0.5 ( $\text{CHCl}_3$ : ethyl acetate: hexane), fraction B (2.2 g) was eluted with 1:1:2 (ethyl acetate: ethylic ether: hexane). Fractions obtained with antibacterial activity from fractions A and B were re-chromatographed on a Sephadex LH-20 column with cyclohexane: dichloromethane: methanol (7:4:1) to remove any chlorophyll present and further purify the



samples. Preparative TLC plates were used for final purification (CHCl<sub>3</sub>: acetone, 85:15). The following compounds were obtained: **1** (41 mg), **2** (62 mg).

### Identification of diterpenes

Compounds were identified using spectral data such as <sup>1</sup>HNMR, <sup>13</sup>CNMR, the spectra were recorded in CDC1<sub>3</sub> using a Varian Inova 400MHz NMR spectrometer at 400 MHz and 100 MHz, respectively. Additional 2D spectra were needed, as well as EI-MS spectra, and by direct comparison with published spectra and structures (4). Carbon substitution degrees were established by DEPT experiments. EIMS were recorded a 5985-B Hewlett Packard spectrometer.

Labdan 8 $\alpha$ ,13 $\alpha$  diol (**1**): Colourless oil; C<sub>20</sub>H<sub>38</sub>O<sub>2</sub>; IR  $\nu^{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3560 (OH), 3090, 1240, 995; EIMS 70 eV *m/z* (rel. Int.) 310 [M]<sup>+</sup> (4), 295 (M-Me) (4), 209 (35), 192 (16), 177 (14), 137 (20), 109 (100), 43 (60). <sup>1</sup>HNMR  $\delta$  1.52 (m, H-1), 1.32 (m, H-2), 1.35 (m, H-3), 1.93 (s, br, J = 2.4 Hz, H-5), 0.78 (dd, J = 4.4, 2.5 Hz, H-9), 2.23 (dddd, J = 15.1, 10.1, 5.1, 1.1 Hz, H-12), 1.19 (s, H-16), 1.15 (s, Me-17), 1.0 (s, Me-18), 0.96 (s, Me-19), 1.18 (s, Me-20); <sup>13</sup>CNMR  $\delta$  39.7 (C-1), 18.2 (C-2), 42.6 (C-3), 33.6 (C-4), 56.4 (C-5), 21.0 (C-6), 38.9 (C-7), 72.8 (C-8), 58.4 (C-9),

36.6 (C-10), 23.1 (C-11), 36.9(C-12), 75.5 (C-13), 33.3 (C-14), 15.0 (C-15), 19.8 (C-16), 23.7 (C-17), 33.9 (C-18), 22.1 (C-19), 14.9 (C-20).

Labdan 8 $\alpha$ -ol-15-acetoxy (**2**): spectral data were according the literature (4, 5, 6).

## RESULTS AND DISCUSSION

According with Table 1 hexane extract showed antimicrobial activity in the paper-diffusion test against *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* and *Staphylococcus aureus* at 200  $\mu$ g/ml (inhibitory zone 23, 22, 19, 27, 24 and 21 mm, respectively). Based on the screening results and because of the lack of knowledge of the active antibacterial principle present in *O. capillare* this plant was selected for further investigation.

Hexane extract from the leaves of *O. capillare* were analyzed using bio-guided fractionation, monitoring the bioactivity by means of antimicrobial assay. Compounds **1** and **2** were isolated as the active constituents from the fractions that displayed bioactivities.

**Table 1:** Antimicrobial activity of *O. capillare* hexane extract

| Microorganisms                                 | Hexane extract<br>(400 $\mu$ g/mL) | Gentamicine<br>(30 $\mu$ g/disc) | Kanamycin<br>(30 $\mu$ g/disc) |
|--|------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| <i>Bacillus subtilis</i><br>(A) NCTC 8542      | 13 $\pm$ 2.01                      | 28 $\pm$ 1.01                    | 14 $\pm$ 0.57                  |
| <i>Bacillus cereus</i><br>(B) ATCC 17689       | 11 $\pm$ 1.16                      | 26 $\pm$ 2.51                    | 14 $\pm$ 1.78                  |
| <i>Escherichia coli</i><br>(B) ATCC 25922      | 14 $\pm$ 2.85                      | 22 $\pm$ 1.15                    | 18 $\pm$ 2.16                  |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i><br>(A) ATCC 14786 | 10 $\pm$ 3.87                      | 19 $\pm$ 0.98                    | 16 $\pm$ 1.08                  |
| <i>Salmonella typhi</i><br>(B) ATCC 13310      | 17 $\pm$ 2.51                      | 24 $\pm$ 3.01                    | 20 $\pm$ 3.64                  |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>(B) NCTC 8531  | 16 $\pm$ 2.02                      | 21 $\pm$ 0.71                    | 24 $\pm$ 4.10                  |

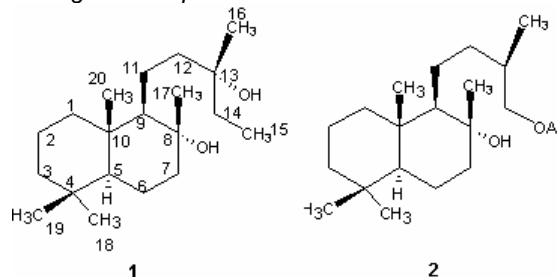
Zone of inhibition (mm); (A), Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco collection; (B), Department of Microbiology of Escuela Superior de Ciencias Biológicas collection. Positive controls (gentamicine and kanamycin) were within literature values (7).

Compound **1** has IR spectrum with a band indicative of an alcoholic function ( $3560\text{ cm}^{-1}$ ). The  $^{13}\text{CDEPT}$  NMR spectrum revealed the presence of 6 methyls, 8 methylenes, 2 methynes and 4 quaternary carbon atoms. In the  $^1\text{HNMR}$  spectrum signals of five tertiary methyl groups were observed ( $\delta$  1.19, 1.15, 1.0, 0.96 and 1.18), the two molecule oxygens must form part of two alcoholic groups. In addition to the previously mentioned the  $^{13}\text{CNMR}$  spectrum showed signals for the quaternary carbinol at  $\delta$  72.8 (C-8) and  $\delta$  75.5 (C-13) and three tertiary methyls  $\delta$  33.9, 22.1 and 14.9 for C-18, 19 and 20, respectively. This is characteristic of the labdane diterpene series (8). The compound **1** mass spectrum exhibits the molecular ion at  $m/z$  310 ( $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2$ ) corresponding to a bicyclic diterpene with two hydroxyl groups. The ion of  $m/z$  209 is formed by loss of a side chain. It corresponds to a decalin containing four methyls and a hydroxyl groups. The mass spectrum shows the fragmentation pattern characteristic of the labdane diterpene series. A peak at  $m/z$  191 corresponds to the fragment  $[\text{a}_3]-\text{H}_2\text{O}$ . The base peak at  $m/z$  109 is typical of compounds with this skeleton un-functionalized at ring A (4). The connectivities in the HMBC studies are shown in Figure 1 in accordance with these considerations the diterpene ( $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2$ ) to which was assigned structure labdan  $8\alpha,13\alpha$  diol.

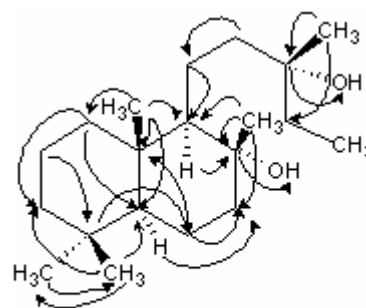
Compound **2** has been characterized as labdan  $8\alpha$ -ol-15-acetoxy by spectral data (4, 5, 6 and 9) and the structures were confirmed by confirmed by HMBC experiments. The cross peaks observed as shown in Figs. 2 and 3

Table 2 shows the MIC results for two purified diterpenoid compounds against six bacteria. The antimicrobial studies showed that compounds **1** and **2** were active against all strains, with exception of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. Interestingly, compound **1** was more effective than **2**. Similar antibacterial activity of some other seems diterpenoids labdane type as (5R,8R,9R,10R)-labdan-13(E)-ene-8a,15-diol and (5R,8R,9R,10R)-labdan-13(E)-ene-8a-ol-15-yl acetate have been reported (10). This antimicrobial activity lends some justification to leaves of *O. capillare* use in wound healing.

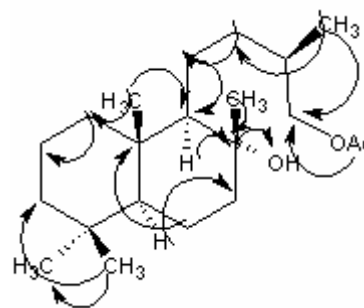
**Figure 1.** Labdane diterpenes isolated from *Oedogonium capillare* leaves



**Figure 2.** Correlation observed in the HBM spectrum compound **1**. The arrows indicated correlations between carbon and hydrogen.



**Figure 3.** Correlation observed in the HBM spectrum compound **2**. The arrows indicated correlations between carbon and hydrogen.



**Table 2.** Minimal inhibitory concentration ( $\mu\text{g/mL}$ ) of labdan  $8\alpha,13\alpha$  diol (**1**) and labdan  $8\alpha$ -hydroxy-15-acetate (**2**) isolated from *O. capillare*

| Microorganism                | Compound |      |
|------------------------------|----------|------|
|                              | 1        | 2    |
| <i>Bacillus subtilis</i>     | >25      | 25   |
| <i>Bacillus cereus</i>       | >50      | 50   |
| <i>Escherichia coli</i>      | -        | -    |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | >12.5    | 12.5 |
| <i>Salmonella typhi</i>      | -        | -    |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | >12.5    | 12.5 |

**Acknowledgements**

The authors would like to express their gratitude to Dra. Virginia Graue for her technical assistance in the collection of the algae.

**REFERENCES**

- Perez RM, Vargas SR, Martínez, MF, Efrén GB, (2005).  $\delta$ -Lactone from *Oedogonium capillare* and their effects on rat ileum. Nat. Prod. Lett. In Press.
- Erazo S, González V, Zaldívar M, Negrete R. (1997). Antimicrobial activity of *Psoralea glandulosa* L. Int. J. Pharm. 35, 1-3.
- Balows A, Hausler Jr WJ, Herrmann KL, Isenberg HO, Shadomy HJ (1991) editors. Manual of Clinical Microbiology 5th ed. Wahington OC: American Society for Microbiology. 1105-12.
- Budzikiewicz H, Djerassi C, Williams DH. (1964). Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry. 12, pp. 155-164, Holden-Day, San Francisco.
- Singh M, Pal M, Sharma RP. (1999). Biological activity of the labdane diterpenes. Planta Med. 65, 2-8.
- Hernrick CA, Jefferies PR, Rosich RS. (1964). Enantiomers of labdanolic acid and 13-epi-labdanolic acid. Tet. Lett. 3475-3480.
- Zgoda-Pols JR, Freyer AJ, Killmer LB, Porter JR. (2002). Antimicrobial diterpenes from the stem bark of *Mitrephora celebica*. Fitoterapia. 73, 434-438.
- Barrero AF and Altarejos, J. (1993).  $^{13}\text{C}$ NMR data for labdane diterpenoids. Mag. Res. Chem. 31, 299-308.
- Calabuig MT, Cortes M, Francisco CG, Hernandez, R, Suarez E. (1981). Labdane diterpenes from *Cistus symphytifolius*. Phytochemistry. 20, 2255-2258.
- Chinou I, Demetzos C, Harvala C, Roussakis C, Verbist JF. (1994). Cytotoxic and antibacterial labdane-type diterpenes from the aerial parts of *Cistus incanus* subsp. creticus. Planta Med. 60, 34-36.

Este artículo puede ser libremente distribuido y(o) copiado para uso personal siempre que lo sea en su integridad. No se permite su modificación ni su uso parcial o total para fines comerciales. Si por cualquier razón Vd. desea redistribuirlo en gran cantidad le agradeceremos que nos lo informe. Todo trabajo basado en este artículo o derivado de su uso debe citar convenientemente la fuente.



<http://www.blacpma.cl>



## V Congreso de la SLF

### Carta remitida por los organizadores al Editor Jefe de BLACPMA

Estimado amigo,

Habiendo finalizado la reunión de la Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica en Montevideo, es justo compartir contigo la alegría que nos ha producido haber recibido un gran número de comentarios de participantes que nos manifestaron su satisfacción por el desarrollo de la reunión y sus resultados. Es justo compartir contigo esta alegría a la que el Boletín, que editas con tanta dedicación, tanto ha colaborado en la difusión y comunicación de los intereses de nuestra Sociedad y sus reuniones. Gracias en nombre de la organización de esta reunión y de todos los que tuvimos la oportunidad de compartir momentos tan agradables con nuestros visitantes.  
Muchas gracias.

Te saluda desde Uruguay,

Eduardo Dellacassa

## Frases y citas

*La política depende de los políticos como el tiempo de los astrónomos*

*Edmond de Goucourt*

*Sobre la humildad se fundan todas las demás virtudes y quien carece de humildad no puede vivir cristianamente*

*Luis Rosales*

*La prudencia es la fuerza de los débiles*

*Joseph Joubert*

*La política es el departamento de "espectáculos" de la industria*

*Frank Zappa*

*La política es una guerra sin derramamiento de sangre; la guerra, una política con derramamiento de sangre*

*Mao Tse Tung*

*Habrá amigos que nos declaren sin reservas nuestras faltas y, sin embargo, no se decidirán a hacernos mención de nuestras locuras.*

*Lord Chesterfield*

*Es mejor consultar las cosas con la almohada a tiempo que perder el sueño por su causa después.*

*Baltasar Gracián*

*Democracia significa gobierno por los sin educación, y aristocracia significa gobierno por los mal educados.*

*G. K. Chesterton*

*¿Cuál es el mejor gobierno? El que nos enseña a gobernarnos a nosotros mismos.*

*Johann W. Goethe*

*La mejor forma de hacer carrera es transmitir a los demás la impresión de que ayudarte sería para ellos de gran provecho.*

*La Bruyere*

*No te afanes en las cosas en que el mundo se afana. Afanate en las cosas en que el mundo no se afana.*

*Confucio*

*Como el camino terreno está sembrado de espinas, Dios ha dado al hombre tres dones: la sonrisa, el sueño y la esperanza.*

*Immanuel Kant*

*A mi juicio, el mejor gobierno es el que deja a la gente más tiempo en paz.*

*Walt Whitman*

*Divide y reinaras*

*Filipo de Macedonia*

*El amor es un punto de acuerdo entre un hombre y una mujer que están en desacuerdo en todo lo demás.*

*Enrique Jardiel Poncela*

*No es la forma de gobierno lo que constituye la felicidad de una nación, sino las virtudes de los jefes y de los magistrados.*

*Aristóteles*

*En política siempre debemos optar entre dos males.*

*Christopher Morley*

*El beso es al amor lo que el rayo al trueno*

*Proverbio español*

BLACPMA