

BOLETÍN LATINOAMERICANO Y DEL CARIBE DE PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS

Publicación Electrónica Bimestral Registrada en **LATINDEX**

Indexada en **COPERNICUS**

ISSN 0717 7917

Mayo 2006 Volumen 5 Número 3



"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)
María 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)
Claudio Laurido (Chile)
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 Ramirez (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

Editorial.....	43
Nota Editorial.....	44
Reseña.....	45
La Columna de: Damaris Silveira.....	46
Respuestas.....	47

Original Articles

γ -Lactone isolated from methanol extract of the leaves of *Eryngium carlinae* and their antispasmodic effect on rat ileum
PÉREZ GUTIÉRREZ R.M., VARGAS SOLÍS R...51

Anti-inflammatory activity of β -sitosterol in a model of oxazolone-induced contact-delayed-type hypersensitivity
PRIETO J. M., RECIO M. C., GINER R. M.....57

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 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



V^{ta} Reunion de la Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica Montevideo, 28/11-3/12 del 2005

A fines del año pasado en Montevideo se realizó la V Reunión de la Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica y I Congreso de Fitoterápicos del MERCOSUR. Ésta sirvió además para homenajear a quien fue uno de los fundadores y ferviente impulsor de la SLF, el Prof. Dr. Patrick Moyna, tal como se homenajeó al Prof. Otto Gottlieb en 1996. La idea de una sociedad latinoamericana de fitoquímica, gestada *a duo* junto con el Prof. Luis Corcuera de Chile, encontró en el Prof. Moyna el empuje y la inteligencia necesaria para llevarla a cabo. En los tempranos ochenta, cuando el correo latinoamericano no era ni eficiente ni seguro, cuando sólo se conocía el telex, el fax estaba por inventarse e internet se describía en algunos cuentos de Ray Bradbury, el Prof. Moyna consiguió unir la comunidad Fitoquímica del sur de América a través de un boletín de cuatro páginas, pobremente impreso pero que cargaba un mensaje de unión y solidaridad para nuestra comunidad científica. Este proceso cristalizó en la I Reunión de la SLF realizada en Montevideo en Noviembre de 1987. Siguió otras 3 reuniones (Montevideo, Gramado, Buenos Aires) y al cumplir su mayoría de edad, la reunión de la SLF volvió a Montevideo.

En esta reunión se intentó conjugar los distintos aportes que hacen a los productos naturales y la Fitoquímica. A través de 32 charlas de renombrados especialistas europeos, norteamericanos y de la región se ofreció un pantallazo rápido y profundo de las distintas posibilidades y avances en el estudio y enfoque que confluyen en el tema, los que forman la tupida red interdisciplinaria que involucra el conocimiento de los productos naturales. H. Wagner, A. Vlietnick, R. Verpoorte, E. Röhmer, K. Matsuda, Ch. Franz, por nombrar algunos de los conferencistas invitados, cubrieron aspectos sobre productos naturales que van desde fitoterápicos hasta sus aplicaciones e importancia a nivel molecular y biosintético. Al mismo tiempo se abordó su aplicación en terapéutica con los diversos aportes, de reglamentarios (S. Cañigual) a industriales (E. Bombardelli, INDENA) que deben considerarse al hablar de plantas medicinales y Fitoterápicos. Más de 170 posters con investigaciones originales de la región iberoamericana fueron presentados, mostrando la vitalidad que tiene el estudio químico de nuestra biodiversidad latinoamericana. Finalmente se propuso realizar la VI reunión en Belho Horizonte, MG, Brasil, bajo la organización de la Prof. Maria das Graças Lins Brandao en mayo del 2008.

La Prof. Virginia Martino, presidió con mucho éxito la SLF desde la realización de la Reunión en Buenos Aires y ahora ha traspasado su cargo

a quien esto escribe, luego de una corta elección entre los asistentes a la asamblea de la SLF. Es para mí un honor y un deber continuar con el trabajo de quienes me precedieron. En ese sentido, es nuestra intención continuar con la integración de todos los científicos de productos naturales de América Latina. Trabajaremos para que ésta se convierta en algo que vaya más allá de la realización periódica de encuentros científicos y se materialice creando un ámbito donde debatir, proponer, hacer llegar inquietudes que lleven a un avance en el conocimiento de la Fitoquímica en nuestra región, a través de su página web y la colaboración de publicaciones amigas como BLACPMA y otros instrumentos que esperamos generar. Estamos abiertos a todas las iniciativas que contribuyan a este fin.

Nos convocan asuntos tan importantes como la salud (cuando en el primer mundo se habla de "Medicinas Alternativas" donde se incluyen Fitoterápicos y plantas medicinales, el 80% de la población de América Latina no tiene otra alternativa como medicina), la conservación de la biodiversidad, de la propiedad de nuestros recursos genéticos, soluciones tecnológicas útiles, compatibles con el medio ambiente, etc., etc. Nuestro papel y respuesta como científicos responsables de nuestro mundo y su porvenir a ese desafío, consistirá en hacer más y mejor ciencia, en crear el conocimiento químico, biológico, farmacológico, genético que ayude a recuperar y salvar especies vegetales irrepitibles en el planeta, que intente colaborar en la mejora de las condiciones sanitarias de la población y que logre finalmente, de alguna forma, devolver a nuestras sociedades el esfuerzo que significó financiar nuestros estudios, formación y trabajo, contribuyendo a su progreso y bienestar.

Horacio Heinzen

Profesor de Farmacognosia y Productos Naturales
Facultad de Química, UDELAR
Montevideo, Uruguay
Presidente de la Sociedad Latinoamericana de
Fitoquímica



Nota Editorial

Estimados amigos: nuevamente nos re-encontramos con ustedes en un nuevo trabajo conjunto realizado para sacar adelante **BLACPMA**. En este número la editorial invitada está a cargo del Dr. Horacio Heinzein, de la Universidad La República de Uruguay quien ha asumido desde Noviembre de 2005 como nuevo Presidente de la Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica, además de dos interesantes artículos.

La mayor novedad es que desde este número estamos **INDEXADOS** en **Copernicus** por lo cual a fin de año tendremos índice de impacto, lo cual nos comienza a dar una mayor proyección (ver información al final de este N° de BLACPMA).

Las fechas se van acercando día a día, cada vez está más cerca Noviembre para la realización de FAPRONATURA y con ello el Primer Simposio de **BLACPMA**. Esto ha sido gracias al constante apoyo de amigos que tratan de elevar a lo más alto el nivel de este Boletín, entre ellos debemos mencionar a José María Prieto en Londres, Gabino Garrido en La Habana y Patricia Arenas en La Plata.

Estamos trabajando también para, en un futuro no lejano poder tener publicidad pagada en nuestro Boletín. Recientemente he recibido una carta de Leonardo Blanco Rodríguez, desde Pinar del Río, quien me indica: *“No todo el mundo tiene acceso a internet sobre todos en vías de desarrollo y su labor es muy importante. LE SUGIERO que vea la posibilidad de enviar la información de su revista en formato adjunto o como lo hacía anteriormente. Ello permitiría tener mayor visibilidad internacional sus labor”*. Estimado Leonardo, te contesto de inmediato que tomamos esta iniciativa debido a que los archivos eran muy grandes y alrededor de un 45% de quienes reciben nuestro Boletín, por ese motivo no lo recibían o como una persona de Coyhaique (Chile), que como era tan grande, le demoraba más de una hora de conexión que entrará en su correo. No podemos dar en el gusto a todos, con esta otra forma llegamos a más gente. En el caso de Leonardo se lo enviaremos adjuntado cada vez que salga un nuevo **BLACPMA**.

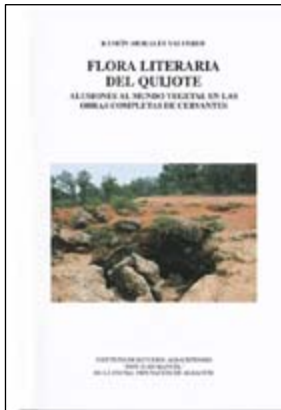
También a través de estas líneas quiero agradecer al Dr. Xavier Lozoya de México por su invitación a formar parte del **Comité Científico del Primer Congreso Iberoamericano de Fitoterapia**, evento al cual le daremos una amplia cobertura en el número de Julio. También debo agradecer a las autoridades de **BIOCARIBE 2006** por haberme designado asesor de dicho evento.. Esperamos también estar presentes como **BLACPMA en el Congreso Italo-latinoamericano de Etnomedicina** a realizarse en **Perugia, Italia** al cual a nombre de **BLACPMA** asistirían, Gabino Garrido (Cuba) además de quien escribe estas líneas. **BLACPMA** se comienza a mostrar al mundo y el mundo entero deberá conocer a **BLACPMA**.

Finalmente debo agradecer a quienes nos han prometido escribir una columna, previamente lo han hecho Michael Heinrich (Inglaterra) y Ana Ladio (Argentina); en este número lo hace Damaris Silveira (Brasil). Para el futuro nos han prometido Roberto Parada (Chile), Clement Adewunmi (Nigeria), Sergio Martinic (Chile), entre otros.

Espero que en el próximo número de Julio podamos tener importantes noticias para todos Uds.

Les saluda

José Luis Martínez
Editor Jefe – BLACPMA



Ramón Morales Valverde

Flora Literaria de Quijote. Alusiones al mundo vegetal en las obras completas de Cervantes

Albacete-Instituto de Estudios Albacetenses "Don Juan Manuel" de la Excm. Diputación de Albacete

ISBN 84-95394-83-9

2005

200p

Un tributo, desde la botánica, a Cervantes en el 400 aniversario de su genial D. Quijote es la sencilla razón de ser de este libro. Hay antecedentes de ensayos más o menos exhaustivos sobre la mención de plantas en el Quijote pero este, por primera vez en la historia, repasa la percepción que del mundo

vegetal se da en las obras completas (39 en total) de Cervantes.

El trabajo es arduo tanto por la extensión de la obra cervantina, como por la a veces difícil asignación del nombre científico a la planta mencionada. El autor ha encontrado 835 citas que se han dividido en flora mayor y paisajística, plantas silvestres, cultivos, plantas medicinales, de uso tecnológico, ornamentales y simbolismos principalmente. El análisis numérico final de los datos es muy interesante. Una extensa introducción, seguida de exhaustivas tablas y un listado de citas planta por planta facilitan la navegación del lector por la información. Se completa con fotografías a color de todas las especies nombradas.

Desde luego, y a menos que se descubra alguna novela más del genial Cervantes, este trabajo se convierte en la obra definitiva en cuanto a la etnobotánica Cervantina y por tanto será una extraordinaria ayuda para aquellos eruditos que deseen estudiar la percepción literaria del mundo vegetal en los s. XVI y XVII. Pero basta ser un simple amante de la naturaleza y de la literatura para encontrar entre sus páginas tantísimos datos interesantes que nos harán aprender y sobre todo disfrutar más conscientemente de la próxima vez que leamos a Cervantes o cualquiera de sus contemporáneos.

J.M. Prieto

Editor ejecutivo BLACPMA

Si Vd. Quiere realizar una reseña de alguna obra de interés para los lectores de BLACPMA estaremos encantados de recibirla.



La Columna de: Damaris Silveira

O ensino da Farmacognosia: temos motivos para preocupação?

Ao ser solicitada a escrever essa coluna, pensei em fazer uma reflexão sobre algo que, penso, ao menos uma vez, já povoou o pensamento de quem atua em Farmacognosia: estamos preparando bem as novas gerações de pesquisadores e profissionais da área?

Para relembrar, o termo “Farmacognosia” foi usado pela primeira vez por J. A Schmidt, em 1811 e pode ser definido como o estudo de fármacos de origem natural, no que se refere às propriedades físicas, químicas, bioquímicas e biológicas. Sendo tão abrangente, a Farmacognosia é uma ciência altamente multi- e interdisciplinar, envolvendo a história, seleção, preparação, preservação, identificação, controle, comercialização e uso de matéria-prima e fármacos de origem natural. No Brasil, até poucos anos, a Farmacognosia era uma das atribuições exclusivas do profissional farmacêutico. Apesar de ainda ser considerada uma das cinco grandes áreas da Farmácia, muitas vezes é considerada uma ciência “ultrapassada”, de pouca importância na formação do profissional da Saúde.

Esse fato não se restringe ao Brasil. Em 2004, em um evento que reuniu cerca de 400 pesquisadores, a preocupação quanto ao desaparecimento da Farmacognosia dos currículos foi discutida, bem como a sua importância (1). Ela está presente nos currículos, mas não é raro que o conteúdo ministrado se restrinja exclusivamente à Fitofarmacognosia, deixando de lado os outros aspectos.

Considerando a multidisciplinaridade da Farmacognosia e a grande quantidade de informação que ela representa, essa restrição se justifica. Entretanto, o conteúdo ministrado, muitas vezes, abrange tão somente a identificação das classes químicas, sem a preocupação com a quantificação, e sem fornecer ao estudante ferramentas e informações para que possa realizar, ao menos preliminarmente, como exemplos, uma análise química mais sofisticada ou a velha, mas eficiente, análise farmacobotânica. Alguns colegas argumentam que não compete ao farmacognosista realizar

essas análises e sim ao fitoquímico e ao botânico, respectivamente. Será?

A tendência mundial é que, a cada ano, a utilização de fitomedicamentos esteja mais e mais disseminada (2). E, em alguns casos, esses produtos tem se tornado um problema de saúde pública. Casos de contaminação durante a produção, identificação incorreta do material botânico (3), adulteração com fármacos sintéticos (4), etc. são bem documentados na literatura e apontam para a necessidade de maior conhecimento e controle. Assim, tanto o mercado quanto as agências governamentais têm exigido, cada vez mais, especialistas na área. Esses profissionais devem ser aptos para atuar no desenvolvimento, no controle de qualidade desses produtos e nos órgãos reguladores. E, cada vez mais, será exigido um conhecimento que permita a utilização das técnicas mais sofisticadas, sem deixar de lado as antigas técnicas de identificação botânica e química.

Dessa forma, mais que a valorização do estudo da Farmacognosia, se faz necessária a reversão da tendência de “enxugar” a disciplina. O conteúdo deverá ser reavaliado para que forneça uma visão da Farmacognosia clássica atualizada com as novas tecnologias disponíveis.

Referencias

- 1 – Houghton P & Barnes J. (2004) Pharmacognosy in the curriculum: a critical need that still needs to be met. *The Pharmaceutical Journal* 273: 325-326.
- 2 – Dellacassa E. (2005) Editorial. *BLACPMA* 4 (3): 44-45
- 3 – Harnack L J; De Rosier K L; Rydell S A. (2003) Results of a population-based survey of adults' attitudes and beliefs about herbal products. *J Am Pharm Assoc* 43 (5): 596-601.
- 4 – Ernst E. (2002) Adulteration of Chinese herbal medicines with synthetic drugs: a systematic review. *J Intern Medicine* 252 (2): 107-113.

Profa. Dâmaris Silveira

Departamento de Ciências Farmacêuticas
Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade de Brasília
e-mail: damaris@unb.br



Comentario

Comentarios a la Columna

Hemos invitado a diversos exponentes de la comunidad científica a que comenten la última Columna de la Profa. Damaris Silveira. He aquí las respuestas llegadas a nuestra redacción.

A todos muchísimas gracias por su colaboración. Si Vd. Desea contribuir con su opinión, háganosla llegar para así establecer un foro de discusión vivo.



Desde España

Respecto al futuro de la farmacognosia, mi opinión se podría resumir en las siguientes tres reflexiones:

- a) la faceta docente que tenemos la inmensa mayoría de los profesionales que investigamos en la materia nos debe servir para ahuyentar fantasmas de disgregación o disolución. Es un disparate enseñar una entelequia. La "asignatura" puede guiarnos hacia la "materia".
- b) Después de bastantes años he caído en la cuenta que la farmacognosia es una ciencia perfectamente definida que carece de tecnología propia. Otras ciencias sí que la poseen. Típicamente sería el caso, en mi opinión, de la microbiología. Tampoco esto debe disuadirnos. Hay ciencias que se definen por su finalidad y otras por sus métodos.
- c) Ni la farmacología ni la fitoquímica, ni tampoco la llamada "farmacología de productos naturales" pueden subsumir el contenido de la farmacognosia, que va mucho más allá. ¿A dónde?. Evidentemente no en una sola dirección, sino en forma radial a partir de un centro: la materia prima farmacológica natural.

Salvador Máñez Aliño

Profesor de Farmacología
Departament de Farmacología
Universitat de València
46100 Burjassot

Correo electrónico: salvador.manez@uv.es



Desde Cuba

El tema que trata la Profesora Dâmaris Silveira tiene mucha actualidad y relevancia; nos conduce a reflexionar, no sólo de manera particular, sobre la Farmacognosia como ciencia, si no sobre la necesidad de usar racionalmente las plantas medicinales y los productos naturales para solucionar problemas de salud.

Ella destaca el carácter multidisciplinario e integrador de la Farmacognosia; sin embargo, el desarrollo científico tecnológico nos empuja penosamente a "fragmentar", como el ejemplo de pensar que es solo el químico el "encargado" de los estudios fitoquímicos. Los proyectos de investigaciones sobre productos naturales tienen que ser multidisciplinarios para que sus resultados puedan ser introducidos en la terapéutica.

La Prof. Silveira destaca como cada vez hay mayor uso de productos naturales y que en ocasiones devienen un problema de salud. En este punto, considero que nuestra colega es conservadora; el uso creciente de recursos naturales tradicionales o no suele hacerse frecuentemente sin una validación experimental que respalde la actividad, la seguridad y la calidad. No pocos productos tienen registro como "suplementos dietéticos", con lo cual se da luz verde a la comercialización.

¿Es eso lo que nuestros pacientes necesitan y les gustaría tener? Sin duda alguna, considero que no, y el uso de productos naturales que no esté basado en una validación científica lo considero en general un problema de salud y como tal debe encararse.

Prof. Dr. Francisco J. Morón

Laboratorio Central de Farmacología
Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Salvador Allende"
Ciudad de La Habana



Desde México

En un número anterior (Blacpma Vol. 5, No. 1) el Dr M. Heinrich nos planteó la pregunta de hacia donde va la Etnofarmacología, columna a la cual siguió un excelente comentario del Dr. B. Cassels; Bruce nos dice allí que:..."**solo después de estudiar a fondo la farmacología y la toxicología de los compuestos puros y sus interacciones**"... tiene sentido el uso del termino "etnofarmacológico". Traigo aquí esta cita con el fin de comentar lo que nos comunica la Profesora Damaris Silveira en su columna.

En cuanto a las tendencias actuales de la farmacognosia éstas se dan principalmente por los nuevos antecedentes surgidos sobre la investigación de los sitios y modos de acción de fitofármacos y la composición casi completa de los metabolitos presentes en una muestra que puede ser un fitofármaco o un compuesto, tanto de origen natural como sintético, donde los farmacognosistas y fitoquímicos deben necesariamente confluir junto a biólogos moleculares, bioquímicos, fisiólogos, entre muchos otros (Verpoorte, 2000; Brueggemeier, 1998; Cortéz-Gallardo *et al.*, 2004).

El análisis de rutina de la calidad y composición de fitofármacos, es una acción necesaria en cuanto se trata de validar el "status" del producto, esta acción si bien puede ser realizada por un analista, debe necesariamente ser supervisada por un farmacognosista o por un fitoquímico.

Ahora, en cuanto a la preparación y formación de los nuevos cuadros de recursos humanos especialistas en esta área de la ciencia, es preponderante la enseñanza de las nuevas técnicas de análisis químicos, lo que incluye una fuerte preparación en el conocimiento de la determinación estructural con la utilización de espectroscopías (IR, UV, RMN), espectrometría de masas, el analisis por cromatografía (CC, CCF, "HPLC" y Cromatografía gaseosa acoplada a la Espectroscopía de Masas), sumado con una fuerte preparación en las nuevas técnicas de la Biología Molecular. De lo anterior ha surgido la "Metabolómica" nueva área de la ciencia dedicada a maximizar el uso de estas técnicas para determinar la composición química de una muestra vegetal (Dixon, 2003; Schwab, 2003; Verpoorte *et al.*, 2005).

Por lo anterior es que es evidente que un farmacognosista o un fitoquímico, deben poseer esos conocimientos, y para la supervisión de los analisis, estos profesionales deben estar bien preparados dentro de las nuevas y avanzadas técnicas de hoy día (Rochfort, 2005).

Dentro de lo planteado por la Profesora Silveira, tanto farmacognosistas como fitoquímicos pueden opinar dentro de su propio campo de interés. Pero, creo que esta disciplina es un punto de encuentro entre varias áreas del conocimiento y por tanto la enseñanza debe compartirse, dentro de un conjunto formado por botánicos, fitoquímicos, farmacólogos, fisiólogos vegetales, biólogos moleculares, bioquímicos, entre otros, eso le daría mas fuerza y sentido de vanguardia a la farmacognosia de hoy en nuestros países Latinoamericanos (Alarcón, 2006; Siegler, 2006; Kubo, 2006).

El Dr. Verpoorte (2000), decía: "afrontamos tiempos interesantes. Hay muchas opciones para el farmacognosta, pero hacer una elección es necesario no podemos hacer todo. Finalmente, y a pesar del enorme potencial de las nuevas tecnologías, uno puede equivocarse intentando sacar un biólogo molecular de un farmacéutico. Esto puede ser tan mortal para la disciplina como la microscopía lo fue para la Farmacognosia. El futuro es la colaboración entre expertos equipos multidisciplinares resolviendo problemas científicos juntos, en vez de aproximaciones monodisciplinares, desarrollando fármacos del futuro mediante biotecnología, o encontrando nuevos mediante la bioprospección. En esta aproximación los farmacognostas contribuyen con sus puntos fuertes: el aislamiento de productos naturales, separación e identificación, desde pequeñas moléculas a macromoléculas, incluyendo su experiencia en biosíntesis de los mismos."

Referencias

- Cortéz-Gallardo V., Macedo-Ceja J.P., Hernández-Arroyo M., Arteaga-Aureoles G., Espinosa-Galván D., Rodríguez-Landa J.F. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias medicas. Rev. Biomed. (2004); 15, 123-136.
- Brueggemeier R.W. Perspectives on the future of graduate education in medicinal chemistry and pharmacognosy. Am. J. Pharm. Education (1998); 62, 463-467.
- Verpoorte R. Pharmacognosy in the new millenium: leadfinding and biotechnology. J. Pharm. Pharmacol. (2000), 52, 253-262.
- Verpoorte R., Choi Y.H., Kim H.K. Ethnopharmacology and systems biology: a perfect holistic match. J. Ethnopharmacol. (2005), 100, 53-56.
- Dixon, R. Phytochemistry meets genome analysis, and beyond.....Phytochemistry (2003), 62, 815-816. (and all papers into this volume)
- Alarcón, J., 2006; (comunicacion personal).
- Siegler, D.S., 2006; (comunicacion personal).
- Kubo, I., 2006, (comunicacion personal).
- Schwab W. Metabolome diversity: too few genes, too many metabolites?. Phytochemistry, (2003), 62, 837-849.
- Rochfort S. Metabolomics reviewed: a new "omics" plataform technology for systems biology and implications for natural products research. J. Nat. Prod. (2005), 68, 1813-1820.

Prof. Carlos Leonardo A. Céspedes A., Ph. D.

Titular Researcher A, Full time. Chemistry Institute, UNAM.

E-mail: cespedes_leonardo@yahoo.com, cespedes.leonardo@gmail.com

URL <http://www.iquimica.unam.mx/cespedes.html>



Desde Reino Unido

Es verdad que la Farmacognosia no podía seguir siendo aquello que fue durante siglos, pero tengo la sensación de que en la huida hacia adelante se ha producido una desbandada, más bien un “sálvese quien pueda” en el que se ha dejado atrás una identidad “corporativa” secular. El efecto es patente en la cantidad de departamentos de Farmacognosia que desaparecieron como departamentos *per se* para pasar a ser (en el mejor de los casos) “unidades” o “centros” subordinados a Departamentos de Farmacología, Química farmacéutica o Biología. Esto comporta el que la disciplina junto con sus profesionales haya quedado, en muchos casos y al menos administrativamente, sin “voz propia” y dependiendo de gente que no es “farmacognosta”.

Encontrar la razón de ser de la Farmacognosia en los objetivos careciendo de técnicas propias es de utilidad para nuestra autoafirmación, pero ¿como nos afirmamos de cara al resto de la Comunidad científica? Si la respuesta es “trámite medios de comunicación y organizaciones” entonces mal pintan las cosas, y si no: ¿Cuántas revistas nacionales o internacionales de Farmacognosia se editan con tal nombre? ¿Cuántas sociedades nacionales o internacionales de Farmacognosia existen con tal nombre? ¿Es la Farmacognosia un área de conocimiento con índice de impacto propio?

Quizás estemos en una fase de redefinición de la que saldrá una Farmacognosia más grande y mejor, pero la atomización actual de la disciplina en sus diferentes aspectos (etnofarmacología, fitoquímica, fitoterapia, etc.) dificulta enormemente el mantener una posición de igualdad frente a nuestras queridas hermanas la Química farmacéutica, la Galénica y la Farmacología.

Como apunta la Prof. Silveira el cambio de una Farmacognosia “clásica” a una Farmacognosia “fitoquímica” no ha hecho sino reducir la competencia de los farmacéuticos en el análisis de drogas vegetales. Recientemente una de las mayores productoras inglesas de extractos vegetales necesitaba reemplazar al encargado de la autenticación de las drogas. Solo los farmacéuticos salidos de las Facultades del Este de Europa y en particular los rusos, parecían seguir cultivando estas habilidades. Y de hecho no hubo ningún candidato procedente de la Unión Europea a la altura.

De Reina a Cenicienta, por voluntad propia o *laisse-faire*, este puede ser el triste final del cuento de la Farmacognosia, si no nos ponemos las pilas.

Dr. Jose M. Prieto

Centre for Pharmacognosy and Phytotherapy
The School of Pharmacy, University of London
E-mail: jose.prieto@pharmacy.ac.uk



Desde Argentina

La farmacognosia latinoamericana, al igual que otras áreas del conocimiento, no tiene otro camino que el de integrar nuevos enfoques y tecnologías en forma urgente. Los avances tecnológicos son cada vez más rápidos y más sofisticados, poniéndonos a prueba en cuanto a nuestra capacidad de asimilación. Esta capacidad de asimilación está muy relacionada (más bien, restringida en su totalidad) con la capacidad de financiamiento de los grupos de investigación y del apoyo que obtengamos de los organismos nacionales, provinciales o locales para los cuales trabajamos. Creo que este es el punto crucial, lograr un interés y un apoyo mayor en esta área para generar un salto diferencial en el estudio de las plantas medicinales usadas en nuestros países y así poder enfrentar los desafíos de una sociedad que demanda y necesita mayores respuestas y un mayor compromiso con su salud.

Dr. Ana Ladio

Investigador CONICET
Universidad Nacional del Comahue
Bariloche, Argentina



México

Artículo Original

γ -Lactone isolated from methanol extract of the leaves of *Eryngium carlinae* and their antispasmodic effect on rat ileum

γ -Lactona aislada del extracto metanólico de las hojas de *Eryngium carlinae* y sus efectos antiespasmódicos en el íleo de rata.

Rosa Martha PÉREZ GUTIÉRREZ¹, Rosario VARGAS SOLÍS²

The referees of this article were: Olga Lock de Ugaz (Universidad Católica de Perú) and Leonora Mendoza (Universidad de Santiago de Chile)

Received November 13th 2005. Accepted January 10th, 2006.

¹Laboratorio 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.

²Laboratorio de Investigación de Fitofarmacología. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco A.P. 48-231 México D.F.

*Corresponding Author. Dra. Rosa Martha Pérez Gutiérrez. E mail: rmpg@prodigy.net.mx

Resumen

La actividad antiespasmódica usada como guía en el fraccionamiento del extracto de metanol obtenido a partir del *Eryngium carlinae* en conjunto con el análisis químico condujeron al aislamiento de las γ -lactonas, 4-metil-tridecenilbutirolactona y 4,8R,13-trimetil,6(Z)ene-nonanebutirolactona. La identificación se llevó a cabo por métodos espectroscópicos. Las γ -lactonas aisladas producen un significativo efecto antiespasmódico sobre las contracciones en el íleo de rata inducido por acetilcolina, histamina y cloruro de bario. La 4-metil-tridecenilbutirolactona es menos activa que la 4,8R,13-trimetil,6(Z)ene-nonanebutirolactona.

Palabras clave: *Eryngium carlinae*. γ -lactonas, 4-metil-tridecenilbutirolactona, 4,8R,13-trimetil,6(Z)ene-nonanebutirolactona, actividad antiespasmódica.

Abstract

Antispasmodic activity-guided fractionation of methanol extract together with chemical analysis led to the isolation of the γ -lactones 4-methyl-tridecenylbutirolactone and 4,8R,13-trimethyl,6(Z)ene-nonanebutirolactone from *Eryngium carlinae*. Identification was based on spectroscopic methods. The γ -lactones isolated produce a significant antispasmodic effect on the contractions of the rat ileum induced by acetylcholine, histamine and barium chloride. 4-methyl-tridecenylbutirolactone is less active than 4,8R,13-trimethyl,6(Z)ene-nonanebutirolactone.

Key words *Eryngium carlinae*. γ -lactones, 4-methyl-tridecenylbutirolactone, 4,8R,13-trimethyl,6(Z)ene-nonanebutirolactone, antispasmodic activity

Introduction

Eryngium carlinae (Apiaceae) is commonly known as "hierba del sapo" and used in traditional medicine for various types of illnesses. It is a common herb that grows wild and abundantly in the fields of Mexico. This plant is used in the traditional medicine for the treatment of various human ailments as dysentery, to cure thrush on tongues of babies, antidiarrhoea and has been used as an antiseptic drug on various skin diseases (1). This plant is origin from México. There have been no published studies of chemistry; no studies have been made of evaluation of the possible action of extracts of *E. carlinae*. The present study reports the isolation and characterization of two γ -lactones from the methanol fraction of *E. carlinae* and the antispasmodic activity.

Material and Methods

General Experimental Procedure

IR spectra were run in KBr on a Perkin Elmer 1710 Spectrophotometer. All NMR experiments were performed on a Varian 300 Hz Spectrometer. MS was obtained on Jeol JMS AX 505 WA Spectrometer.

Plant material

Specimens of *Eryngium carlinae* Delaroché belongs to the Umbelliferae were collected in the México State. The plant was taxonomically identified in the Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, and a voucher specimens (6321) of the plant form part of the herbarium collection for reference.

Animals

Male Wistar rats (200-250 g) were used for all experiments. The animals were housed in a cage under conditions of standard light (light on from 7.0 a.m. to 7.0 p.m.), temperature (22 ± 1 °C) and room humidity ($60 \pm 10\%$) conditions for at 1 week before the experimental sessions. Food and water were available ad libitum.

Biological experimental procedures

The animals were sacrificed by CO₂ and bled. Rats ileum was prepared as described previously (2). Pieces of ileum, 2-3 cm long were set up in 10 ml organ bath containing Tyrode solution with 5% CO₂ in 95% oxygen: the solution was maintained at 37 °C, for recording the contractions using force transducers connected to a polygraph (Grass D) as previously described (3). After a stabilization time of 30 min the test

substances were added to the bath. The extracts, partially purified fractions and pure compound were dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO, Merck). In preliminary experiments, the administration of DMSO up to 100 μ l was added to the organ bath to determine whether this vehicle alone induced changes in the control contraction of the preparation. After these experiments were investigated the effect antispasmodic according to the following experimental schedule:

- (a) Hexane, chloroform and methanol extracts at concentrations of 400-200-100 μ g/ml organ bath: 15 min contact period;
- (b) Partially purified fractions at concentrations of 200-100-50 μ g/ml organ bath: 15 min contact period;
- (c) Pure compounds at concentrations of 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , 5×10^{-5} M; 15 min contact period.
- (d) When stable submaximal responses to standard agonist histamine 3×10^{-7} M, acetylcholine 10^{-8} M, and barium chloride 10^{-4} M were obtained the extracts, fractions and compounds **1** and **2** were added in the bath (4). Percentage inhibition of histamine, acetylcholine or barium chloride induced contraction, in the presence of extracts, fractions and compound **1** and **2** were calculated for each concentration (5).

Statistical analysis

The inhibition of ileal contractions by drugs was expressed as the percentage of basal value (mean \pm SEM). Regression methods used for statistical analysis and critical significance was set at $p < 0.05$. IC₅₀ values were calculated according to the method of Litchfield and Wilcoxon.

Extraction and isolation of compounds

The powdered, dried, aerial parts (2.5 Kg) were defatted with hexane and extracted successively with CHCl₃ and methanol. The most active MeOH extract (40 g) was chromatographed on a silica gel column with ethyl acetate-hexane-petroleum ether, 1:4:0.5 as eluent and collected 7 fractions. According to the pharmacological testing fractions F-2A and F-4A showed antispasmodic effect.

These fractions were combined and separated by column chromatography on silica gel eluting with ethanol-chloroform-petroleum ether 1:12:2, to yield seven secondary fractions. Further column chromatography on silica of active fraction F-7B, eluting with CHCl₃-MeOH-hexane 10:1.5:2 to yield five fractions. Fraction F-7B-4 was separated on silica gel column with ethanol-CH₂Cl₂ 1:10 to yield four tertiary fractions. The fractions F-7B4-3 and F-7B4-1 were combined

and were column chromatographed over Sephadex eluting with CHCl_3 to yield six fractions. Finally, fraction F-2C and F-4C was further purified by preparative TLC (300 mg) using CHCl_3 -MeOH-hexane 1:3:4. Bands were detected in UV at 254 nm, corresponding zones were scraped off the plate and eluted with CHCl_3 to yield 50 mg of compound **1** and 80 mg of compound **2**.

Compound **1** IR (KBr) ν_{max} : 2950, 2924, 1735 (lactone), 1460, 1386, 1285 (γ -lactone), 1122, 1075, 1032, 741 cm^{-1} ; high-resolution MS m/z 282.2021 ($\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$); EIMS 70eV, m/z : 282 [M^+] (38), 270(2), 264(2), 240(20), 226(8, $\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{O}$), 212(7), 196(8, $\text{C}_{14}\text{H}_{28}$), 184(22, $\text{C}_{13}\text{H}_{28}$), 170(11, $\text{C}_{11}\text{H}_{24}$), 156(6), 142(6, $\text{C}_{10}\text{H}_{22}$), 128(41, C_9H_{20}), 114(15, C_8H_{18}), 110(24), 100(9, C_7H_{16}), 99(1), 96(41), 85(40, $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_2$), 83(49), 72(74), 71(59), 70(58), 56(100, $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}$), 54(73), 42(87, $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$), 43(32); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1.25 (s, CH_3), 0.88 (br, t, 3H), 2.1-2.4 (m, chain 24H), 2.1-2.4(m, 2H), 3.4-3.6 (m, 2H); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 75.5 MHz): δ 170 (C-1), 32.15 (C-2), 22.93 (C-3), 29.61 (C-4), 31.17 (C-5), 25.58(C-6), 29.14-29.43 (C7-C14, chain), 23.95 (C-16), 17.12 (C-17), 14.37 (C-18).

Compound **2** IR (KBr) ν_{max} : 2955, 2928, 1732 (lactone), 1464, 1374, 1273 (γ -lactone), 1122, 1067, 1044, 951, 737, 706 cm^{-1} ; high-resolution MS m/z 252.3133 ($\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_2$); EIMS 70eV, m/z : 252(4), 237(2, $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{O}_2$), 220(3), 206(3), 196(4, $\text{C}_{13}\text{H}_{24}$), 183(5), 180(2, $\text{C}_{13}\text{H}_{24}$), 165(2), 166(3, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$), 150(5), 139(5, $\text{C}_{10}\text{H}_{19}$), 125(16, C_9H_{17}), 114(16), 111(16, C_8H_{15}), 98(100, C_7H_{14}), 99(4), 85(13), 69 (29, C_5H_9), 56 (33, $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}$), 54(24), 42(30); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 0.784 (d, $J = 6.8$ Hz, CH_3 -16) 0.80 (s, CH_3 -18), 5.17 (d, $J = 9.7$ Hz, H-7), 4.8 (d, $J = 9.7$ Hz, H-6), 1.90 (H-11), 1.46 (H-12), 0.90 (dd, $J = 6.6$ Hz, H-13), 0.85 (dd, $J = 6.5$ Hz, H-14), 2.1-2.4 (m, 2H), 3.4-3.6(m, 2H); ^{13}C NMR (75.5 MHz, CDCl_3): δ 170 (C-1), 32.15 (C-2), 21.5 (C-3), 29.5 (C-4), 22.52 (C-5), 131.79 (C-6), 112.32 (C-7), 38.86(C-8), 38.21 (C-9), 35.46 (C-10), 39.4 (C-11), 36.21 C-12), 22.94 (C-13), 21.56 (C-14), 14.39 (C-15), 15.41 (C-16),

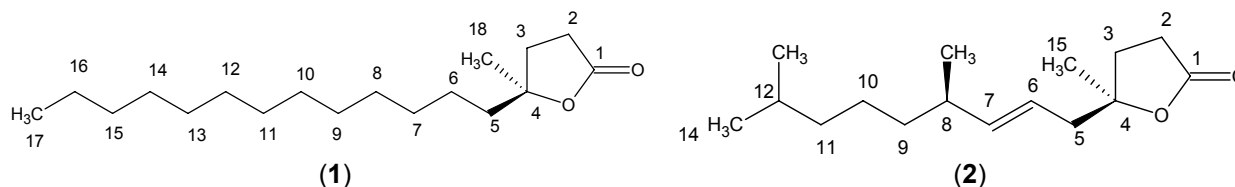


Fig 1. Structures of γ -lactones 4-Methyl-tridecenylbutirolactone (1), 4,8R,13-trimethyl,6(Z)-nonenebutirolactone (2) isolated from *E. carlinae*

Results and Discussion

Structural elucidation

Compound **1** was obtained as oil yellow substance. Mass spectrometry indicated a mass of 282 agreeing with the formula $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$. The IR spectrum showed absorption bands corresponding to carbonylic (1735 cm^{-1}) group. The band in IR due to C-O stretching vibration of lactones occurs in the region 1370 - 1160 cm^{-1} , usually being 1290 - 1220 cm^{-1} for γ -lactone (6).

The ^1H NMR spectrum revealed the lactone oxygen was therefore attached to the quaternary carbon contained one methyl group (singulet at δ 1.25) and the alkyl chain. The absence of any further methyl signals in the ^1H NMR spectrum of (**1**) confirmed linear nature of the aliphatic chain.

The ^{13}C NMR spectrum indicated the presence of 18 carbon atoms, including signals due to a carbonyl group linked to an oxygen atom (δ 170), two methyl groups one primary methyl (δ 17.12) and quaternary methyl (δ 14.37). The remaining 14 carbons were all methylenes.

For distinguishing the γ (five membered) and δ (six membered) lactones the fragment at m/z 42 occurs in very low intensity in the spectra of γ -lactones. The fragment [$\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$, m/z 42] which is formed by the rupture of two bonds of the ring contains the carbonyl oxygen. The peak at m/z 70 and 71 are formed possibly from the fragment at m/z 100 by the expulsion of HCO yielding perhaps a tetrahydrofuryl ion (7). The particular γ -lactone moiety formulated for (**1**) is consistent also with the mass spectral fragments generated in the series spaced 14 a.m.u. at m/z 240, 226, 212, 198, 184, 170, 156, 142, 128, 114 and 100. The mass spectrum shows that (**1**) contains 14 carbon atoms in addition to the five-membered ring. The relative intense molecular ion peak (38%) suggests that there is alkyl substituent at C-4. The ion at m/z 99 is a little peak indicating that lactone ring have not to be attached to C-2 and C-3, because substituents at C-4 has already been eliminated. Based on the spectral data, the structure of **1** was determined as 4-methyl-tridecenylbutirolactone.

Compound **2** was the major compound isolated from the crude extract. The IR spectrum showed absorption at ν_{\max} 1732 (C=O) and 1273 (γ -lactone). The ^{13}C NMR spectrum exhibited the signals of one carbonyl carbon at δ 170, a pair of olefinic carbons at δ 131.79 (C-6), and 112.32 (C-7), four methyls at δ 14.39, 15.41, 21.56 and 22.94.

The ^1H NMR spectral data of **2** suggested that the double bond was not conjugated to the carbonyl group and had the Z geometry [δ 5.17 and 4.8, $J = 9.7$ Hz]. One methine proton at δ 5.17 was coupled to allylic proton at δ 4.8 and other methylene protons of the side chain portion. The doublet signals of the methyl protons at δ 0.90 and 0.85 with $J = 6.6$ and $J = 6.5$ Hz was coupled to a methine proton at δ 1.46 (H-12) of the terminal isopropyl group. The presence of an NOE between H-8 and 5 revealed the *cis* configuration of the C-6-C-7 double bond.

The remainder of the spectrum suggested the presence of a branch lipid side chain. At δ 0.784 (d, $J = 6.8$ Hz) for C-16 methyl protons located the methylene group at the C-8 position has been compared of the ^1H chemical shifts of the (3R,2Z)-2-(hexadec-15-enylidene)-3-hydroxy-4-methylenebutanolide, (3R,2E)-2-(hexadec-15-enylidene)-3-hydroxy-4-methylenebutanolide, (3R,4Z,2Z)-2-(hexadec-15-enylidene)-3-hydroxy-4-methylene butanolide, (3R,2Z)-2-(hexadec-15-enylidene)-3-hydroxy-4-methylene butanolide, (3S,4S,2E)-2-(hexadec-15-enylidene)-3-hydroxy-4-methylenebutanolide (**2**) clearly demonstrated that **2** possess 8S and 6Z stereochemistry.

Hence isomeric γ and δ lactones of this type can readily be differentiated from their mass spectra (8). The mode of decomposition, attributed to the loss of carbon dioxide, is insignificant for lactones of more than 8 carbons atoms. For γ lactones from C6 to C18 the most important feature of the mass spectra is the amount of ion current due to the lactone ring (m/z 85), loss of the side chain (m/z 139), this breakdown gives the base peak and readily characterizes the number of carbons within, or at, the ring (10). In compound **2** was observed an ion due the cleavage adjacent oxygen at m/z 180. This compound have a alkyl substituent at C-4, since such substituent would be lost very easily that C-3 or C-2 (9).

The mass spectrum showed the ion at m/z 209 $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7]^+$ formed most probably by the loss of the terminal isopropyl group (C13/C14). Occurrence of further fragments at m/z 166 formed by the $[\text{M}-\text{C}_6\text{H}_{13}$ (part of side chain)-H] $^+$ due to McLafferty rearrangement involving cleavage of the C8/C9 bond with one hydrogen

transfer from C-10 localized the side chain double bond at C-7. The ^{13}C - and ^1H NMR assignments were confirmed by the ^1H - ^1H COSY spectrum. Consequently the structure of **2** was determined as 4,8R,13-trimethyl,6(Z)-nonanebutirolactone.

According to mass spectral evidence both **1** and **2** are compounds with varying methylene chain lengths. While derivatives with $n = 11$ (side chain) are major constituent derivatives, with $n = 13$ (side chain) appear only in little amounts.

The following other components of *E. carlinae* were identified by mass spectrometry [M] 186, $\text{C}_{11}\text{H}_{27}\text{O}_2$, (methylnonanoate) and [M] 268, $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}$ (2-en-octadecanol). These compounds have not antispasmodic activity.

Pharmacological activity

The MeOH extract of the *E. carlinae* showed a concentration-dependent inhibition of the tone and the amplitude of the spontaneous contraction of the rat ileum with a $\text{IC}_{50} = 48.0$ $\mu\text{g}/\text{ml}$. The hexane and CHCl_3 extracts did not show any effects. In order to identify the phytochemicals responsible for the activity displayed by the crude extract, it was fractionated by column chromatography over silica gel to yield seven primary fractions (F-1A to F7A). F-2A and F-6A decreased the spontaneous contractions of isolated rat ileum when tested at the IC_{50} original extract. The results of this testing are shown in Table 1. Repeated chromatography of active fractions F-7B, F-7B-4, F-7B-1, F-2C and F-4C allowed the isolation of compounds **1** and **2**. **Table 1.** Effect of the chromatographic fractions from the methanol extract of *Eryngium carlinae* on the spontaneous contraction of the rat ileum.

Fractions	% of inhibition*
MeOH extract	28.2 \pm 3.3
F-2A	19.3 \pm 2.6
F-6A	19.7 \pm 2.9
F-7B	31.4 \pm 3.8
F-7B-4	39.7 \pm 4.1
F-7B-1	50.2 \pm 4.9
F-2C	69.6 \pm 6.0
F-4C	80.8 \pm 6.6

Values are expressed as the percentage of inhibition of contractile response obtained at the IC_{50} of the original extract calculated as the mean from six date \pm S.E.

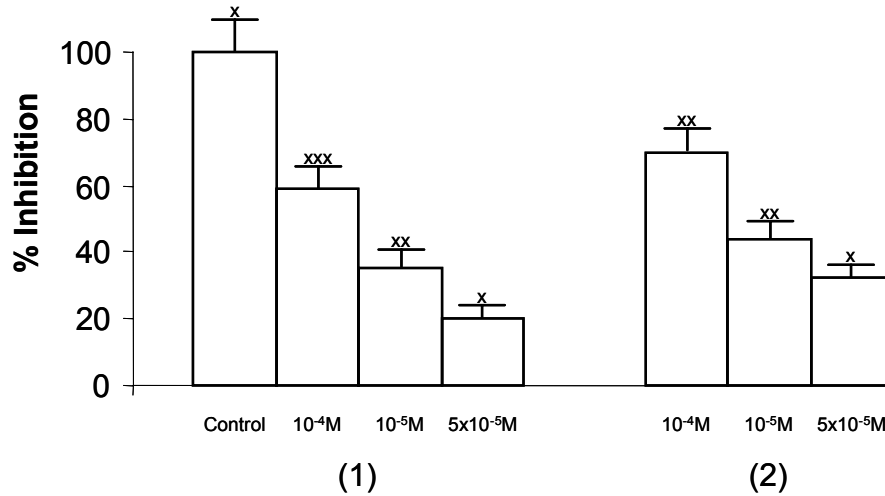


Fig 2. The effects of 4-methyl-tridecenylbutirolactone (1) from *E. carlinae* and 4,8R,13-trimethyl,6(Z)ene-nonanebutirolactone (2), (10^{-4} , 10^{-5} , $5 \times 10^{-5}M$) on acetylcholine-induced contraction in rat-ileum. Results are expressed as mean \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (n = 6).

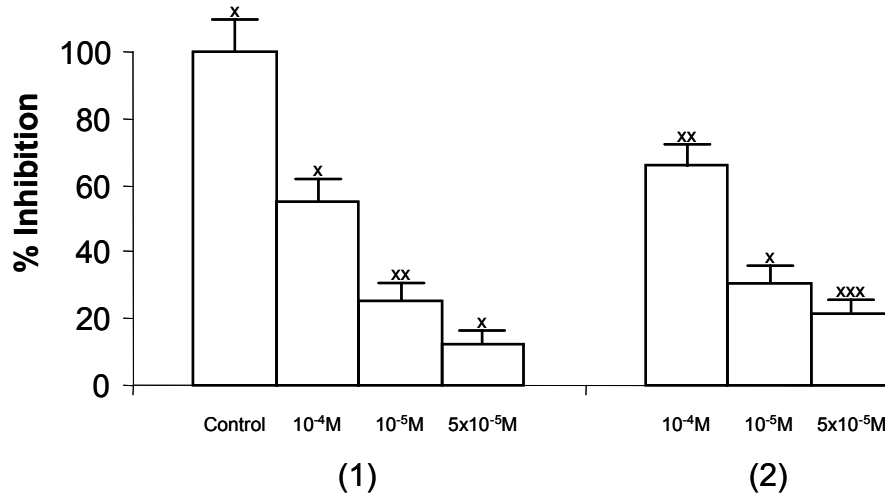


Fig. 3. The effects of increasing concentrations of 4-methyl-tridecenylbutirolactone (1) from *E. carlinae* and 4,8R,13-trimethyl,6(Z)ene-nonanebutirolactone (2), (10^{-4} , 10^{-5} , $5 \times 10^{-5}M$) on the contraction induced by barium chloride (10^{-4}) in the rat-ileum. The contractions are expressed in % of the maximal contraction obtained in the same tissue before the administration of antispasmodic. Results are expressed as mean \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ (n = 6).

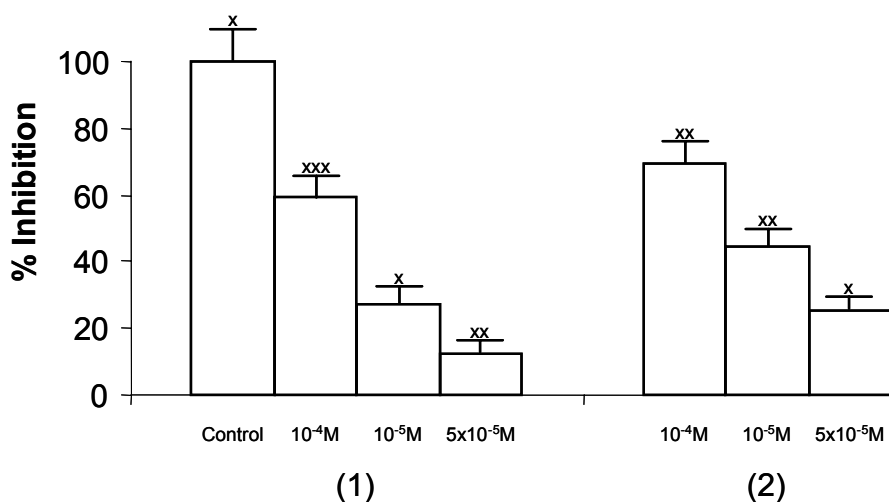


Fig. 4. The effects of 4-methyl-tridecenylbutirolactone (1) from *E. carlinae* and 4,8R,13-trimethyl,6(Z)ene-nonanebutirolactone (2), (10^{-4} , 10^{-5} , 5×10^{-5} M) on contractions induced by histamine in isolated rat-ileum. Contractions (%) is expressed as a percentage against control contraction induced by histamine in the absence of samples. Each value shows the mean \pm S.E.M. of six animals. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ significantly different from the histamine-stimulated group.

In a preliminary screening the histamine induced contraction in the rat ileum with $IC_{50} = 21 \mu\text{g/ml}$ (c.l.: 12-28 $\mu\text{g/ml}$, $n = 6$), the acetylcholine with $IC_{50} = 26 \mu\text{g/ml}$ (c.l.: 15-30 $\mu\text{g/ml}$, $n = 6$), and barium chloride with $IC_{50} = 49 \mu\text{g/ml}$ (c.l.: 25-52 $\mu\text{g/ml}$, $n = 8$). The two γ -lactone were found to antagonize in a concentration-dependent way the contractions of the rat ileum induced by acetylcholine, histamine and barium chloride. The antispasmodic effect is shown in the Figures 2, 3 and 4. In all test 4-methyl-tridecenylbutirolactone is less active than 4,8R,13-trimethyl,6(Z)ene-nonanebutirolactone. Both compounds possessing both anticholinergic and antihistaminic properties.

References

- Argueta AV, Cano LMA, Rodarte ME. (1994). Atlas de las plantas de la medicina tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista. México D.F. II: pp. 781-782.
- Martinez JC, Massayoshi Y, Gottlieb O.R. (1981). ω -Ethyl, ω -Ethenyl and ω -ethynyl- α -alkylidene- δ -lactones from *Clinostemon mahuba*. Phytochemistry. 20: 549-464.
- Moura NF, Morel AF, Dessoy EC, Zanatta N, Burger MM, Ahlert N, Porto GP, Baldisserotto B. (2002). Alkaloids, amides and antispasmodic activity of *Zanthoxylum hyemale*. *Planta Med.* 68: 534-538.
- Van Den Broucke C.O. and Lemli JA. (1980). Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. *Planta Med.* 38: 317-331.
- Begum S, Sultana I, Siddiqui BS, Shaheen F, Gilani AH, (2000). Spasmolytic constituents from *Eucalyptus*

camaldulensis var. obtuse leaves. *J. Nat. Prod.* 63: 1265-1268.

6. Socrates G. (1980). Infrared characteristic group frequencies. John Wiley & Sons, London. UK pp. 73-74.

7. Honkanen E, Moisio T, Karvonen P. (1995). The mass spectra of some aliphatic lactones. *Acta Chem. Scand.* 19: 370-374.

8. MacLafferty Fred W. (1963). Mass spectral correlation. American Chemical Society, Washington D.C. vol. 40: 29-32.

9. Bierman Klaus. (1992). Mass spectrometry organic chemical applications. American Chemical Society, Washington D.C. pp. 98-103.

10. McFadden W.H, Day EA, Diamond M.J. (1995). Correlations and anomalies in mass spectra. *Analytical Chem.* 37: 89-92.

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>



Spain

Original Article

Anti-inflammatory activity of β -sitosterol in a model of oxazolone-induced contact-delayed-type hypersensitivity

Actividad antiinflamatoria del β -sitosterol en un modelo de hipersensibilidad retardada inducida por oxazolona.

José M. PRIETO*, María C. RECIO, Rosa M. GINER.

The referees of this article were: Damaris Silveira, Universidad de Brasilia, Brasil and Jorge Alonso, Sociedad Argentina de Fitomedicina, Buenos Aires, Argentina.

Received September 22nd, 2005. Accepted December 19th, 2005.

Departament de Farmacologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de València, Avda. Vicent Andrés Estellés, s/n. 46100 Burjassot, Valencia, Spain

* Corresponding author: Fax: +0044 (0)2077535841; E.mail: jose.prieto@pharmacy.ac.uk

Resumen

Hemos comprobado el efecto *in vivo* del β -sitosterol en un modelo de dermatitis de contacto por hipersensibilidad retardada (DTH). Este compuesto fue igualmente ensayado en modelos de liberación de eicosanoides en leucocitos polimorfonucleares de rata y plaquetas humanas estimuladas con ionóforo A23817 en incubaciones de 15 min. El compuesto reduce de manera significativa el edema inducido por oxazolona a las 24 horas, sin mostrar efecto alguno sobre las enzimas de la cascada del ácido araquidónico implicadas en la iniciación del fenómeno inflamatorio, en las condiciones descritas. Los resultados indican que este compuesto puede modular el edema mediado por respuesta celular sin ningún efecto a corto plazo en la cascada del ácido araquidónico. La ubicuidad del β -sitosterol puede explicar, y predecir, el efecto de muchos extractos vegetales en este modelo *in vivo*, y por tanto este dato puede ser de ayuda en procesos de "de-replicación".

Palabras clave: β -Sitosterol; hipersensibilidad retardada; dermatitis de contacto; eicosanoides

Abstract

The *in vivo* effect of β -sitosterol in a model of delayed-type hypersensitivity (DTH) contact dermatitis was tested. The compound was also tested in intact, A23817 stimulated rat-peritoneal polymorphonuclear leukocytes and human platelets for the inhibition of eicosanoids release in 15 min incubations. The compound reduced in a significant manner the oedema induced by oxazolone only at 24 h, without any effect on the enzymes of the arachidonate pathway involved in the onset of the inflammatory process in the conditions above described. The results indicate that this compound can modulate a cell-mediated oedema without any short term *in vitro* effect on the arachidonate pathway of intact cells. The ubiquity of this compound can explain, and predict, the effect of many plant extracts in this *in vivo* model, and so this data could be of help in dereplication processes.

Key words β -Sitosterol; delayed-type hypersensitivity; contact dermatitis; eicosanoids.

Introduction

β -Sitosterol is one of the most ubiquitous substances in plant extracts. In the last 10 years the biological role of phytosterols in human and animal health has been established, with an emphasis in their *in vitro* and *in vivo* immune modulatory activity (1, 2). There are references of the immunomodulatory properties of β -sitosterol and its glucosides (3, 4). It also has been reported that it has *in vivo* topical anti-inflammatory properties in the acute TPA-induced ear oedema in mice but not in the chronic one (5). However it inhibits leukocyte infiltration in both models. Little more is known about the biochemical mechanism of this anti-inflammatory activity. Mat Ali and Houghton (6) showed that this compound inhibits soy 5-lipoxygenase *in vitro*. Keratinocytes also respond to skin irritation and injury by means of a rapid, but transient activation of arachidonic acid (AA) metabolism through the lipoxygenase (LOX) and cyclooxygenase (COX) pathways (7). Topical inflammation involves some chemotactic and chemokinetic agents produced from arachidonic acid by LOX activity, like 12-hydroxy-6,8,11,14-eicosatetraenoic acid (12(S)-HETE) (8) from platelets and 5-hydroxy-6,8,11,14-eicosatetraenoic acid (5(S)-HETE) and leukotriene B₄ (LTB₄) from polymorphonuclear leukocytes (PMNL). They contribute, together with the prostaglandins (PGs) and thromboxanes (TXs) produced by the COX activity, to the inflammatory response of the skin. After this initial phase, LTB₄ is the responsible for the long-term maintenance of the inflammation, and for this reason, in the last years there was an increasing interest on the LTB₄ role and now it seems that it surpass the idea of a chemotactic agent (9). Therefore, an understanding of the effect of this compound on the enzymatic pathways involved in the eicosanoids biosynthesis is important. Thus we decided to explore its anti-inflammatory effects on *in vitro* models of LTB₄ (from 5-lipoxygenase), 12-HHTrE (from cyclooxygenase-1), and 12-HETE (from 12-lipoxygenase) release by mammalian intact cells, as well as on an *in vivo* model of contact delayed hypersensitivity to check its ability to modulate immune mediated topical inflammatory processes.

Material and Methods

Animals

Female Wistar rats (180-200 g) and female Swiss mice (25-30 g) were provided by the animal facility of the Faculty of Pharmacy (University of Valencia). They were housed in

standard environmental conditions. The institutional Ethical Committee of the Faculty of Pharmacy, University of Valencia (Spain) approved all *in vivo* experiments, which were performed according to the guidelines established by the European Union on Animal Care (CEE Council 86/609).

Cells

Human platelets were obtained by diluting human buffy-coats (obtained at the Centre de Transfusions de la Generalitat Valenciana, València, Spain) with PBS (1:3) and centrifuging twice (300 × g, 10 min), discarding the pellets and keeping the platelet rich supernatants. After centrifugation, the resulting pellet was washed twice (1000 × g, 10 min) and finally resuspended in Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) with Ca²⁺ (1 mM) and Mg²⁺ (0.5 mM). The differential counting was done by Coulter Counter (Sysmex D-800). Semi-quantitative estimation of the platelets' viability was performed before each experiment by fluorescence microscopy (Nikon®, Japan) staining with acridine orange/ethidium bromide solution.

Rat peritoneal polymorphonuclear leukocytes (PMNLs) were harvested by intraperitoneal injection of glycogen (1 mg/g body weight in 10 mL of PBS, 37 °C) and washed by centrifugation (10 min, 300 × g, room temperature, twice).

The cell viability of the elicited rat peritoneal PMNLs and human leukocytes was assessed before each experiment using the Trypan blue exclusion test. Only harvested cells with viability greater than 95% were used.

Chemicals

Boswellia serrata standardised resin was obtained from H15 tablets (Gufic Chemicals®, India). β -sitosterol, isolated from *Ranunculus sceleratus* L. as described previously (10). Dexamethasone and oxazolone were purchased from Sigma® (St. Louis, USA). All other chemicals were of the highest available analytical grade and purchased from Sigma® (St. Louis, USA) and Merck® (Darmstadt, Germany). Solvents (HPLC grade) were provided by JT Baker® (Deventer, Holland).

Analytical high-performance liquid chromatography (HPLC)-diode array detector (DAD)

HPLC-DAD analysis was performed on a Merck-Hitachi® system equipped with a Pump L-6200, L-7455 Diode Array Detector and Auto Sampler L-7200, injection valve (Reodyne®), loop of 100 μ L, precolumn Lichrospher® C18 (4 × 4 mm, 5 μ m, Merck®), and column Lichrospher® C18

(250 × 4 mm, 5 μ m, Merck). The data were collected and processed with the software HSM-7000 (Merck-Hitachi®).

HPLC-DAD for eicosanoids analysis was carried out using an isocratic elution program with methanol/H₂O (74:26) + trifluoroacetic acid (0.007%) as eluent at a flow rate 1 mL/min (11).

3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay

The assay described by Mosmann (12) was used as a criterion of cytotoxicity for human leukocytes. Briefly, 10⁶ cells were preincubated at 37 °C for 30 min with Dulbeccos' PBS, pH 7.4, containing the extracts at concentrations up to 200 μ g/mL. Controls received vehicle and correspond to 100% viability. The yellow water-soluble substrate MTT is converted by living cells into a dark blue formazan product that is insoluble in water. The coloured metabolite was dissolved in DMSO in an ultrasonic bath and measured using a Labsystem Multiskan MCC/340 plate reader, at 490 nm.

Determination of 5-lipoxygenase (5-LOX) activity

We followed the protocol established by Safayhi et al. (11). Rat peritoneal PMNLs (5 × 10⁶) were resuspended in 1 ml PBS (with glucose, 1 g/l) and pre-incubated for 5 min with the extracts or reference compounds at 37 °C. Then, the reaction was started by addition of ionophore A23187 and Ca²⁺ (1.9 μ M and 1.8 mM final concentrations, respectively). After 5 min at 37 °C, the reaction was stopped with 1 mL of cold methanol / 1N-HCl (97:3), and 500 pmol of prostaglandin B₂ (PGB₂) were added as an internal standard. After centrifugation (10000 × g, 5 min, 0 °C), the samples were applied to C18 SPE columns (100 mg), pre-conditioned with 1 mL of methanol and 1 mL of water. The columns were washed with 1 mL of water and 1 mL of 25% methanol. The 5-LOX metabolites 5(S)-HETE, LTB₄, 6-*trans*-leukotriene B₄ and 6-*trans*-12-epi-leukotriene B₄ (LTB₄ all-*trans*-isomers) were extracted with 300 μ L of methanol and analysed by high performance liquid chromatography (HPLC-DAD).

Determination of cyclooxygenase-1/12-lipoxygenase (COX-1/12-LOX) activity

The assay is based on the protocol proposed by Safayhi et al. (13). Aliquots of 80 × 10⁶ human platelets were pre-incubated for 5 min with extracts or reference compounds at 37°C. Then the reaction was started by addition of ionophore A23187 (1.9 μ M final concentration). After 1 min the reaction was stopped with 1 mL of cold methanol/1N HCl (97:3), and 500 pmol of PGB₂

were added as internal standard. After centrifugation (10000 × g for 10 min) the supernatants were pooled, subjected to SPE above and analysed by HPLC-DAD as described in the previous assay. The measured metabolites were 12(S)-hydroxyheptadeca-5Z,8E,10E-trienoic acid (12(S)-HHTrE) from the COX-1 pathway, and 12(S)-HETE from the 12-LOX pathway.

Oxazolone-induced contact-delayed hypersensitivity (DTH) mouse ear edema

The oxazolone-induced DTH test was performed according to Recio et al. (14). Briefly, female mice were sensitised by topical application on the shaven ventral abdomen of 50 μ L of a 2% (w/v) solution of oxazolone in acetone on two consecutive days (days 1 and 2). Challenge was performed on day 6 by application of 30 μ L of 2% oxazolone to both ears. β -sitosterol and dexamethasone were applied (20 μ L) to right ears 6 h after challenge (single application) and 24, 48, 72 and 96 h after challenge (repeated dosage). Ear thickness measurements of treated and control groups were done with a micrometer (Mitutoyo series 293) 24 and 102 h after challenge and just before drug application. The 102 h measurement was performed immediately before sacrifice. Swelling was assessed in terms of mean thickness increase of each ear.

Myeloperoxidase assay

It was performed according to Young and De Young (15). Each biopsy, placed in an Eppendorf tube containing 0.75 mL of 0.5% HTAB in 80 mM sodium phosphate buffer (pH=5.4), was homogenised (45 s). The homogenate was centrifuged and the supernatant (30 μ L) was assayed by mixing it with 20 μ L of TMB 18.4 mM and 15 μ L of H₂O₂ 0.017 % in a 96-well microtiter plate. The mixture was incubated for 3 min at 37 °C. Enzyme activity was determined colorimetrically using a Labsystem Multiskan MCC/340 plate reader set to measure absorbance at 620 nm.

Statistics

Oedemas are expressed as mean \pm S.E.M. and inhibition percentages arise from differences between treated and non-treated tissues, and are referred to the control treated only with the inflammatory agent. Percentages of inhibition of eicosanoids production are shown as mean \pm S.E.M. of three or more independent experiments, and every experiment was performed in duplicate. The inhibition of 5-LOX activity is expressed as percentages with respect

to the control, which includes LTB₄ and 5(S)-HETE. Inhibition of COX-1 and 12-LOX activities is expressed as percentages with respect to the control of 12(S)-HHTrE and 12(S)-HETE)

respectively. Statistical evaluation was performed by ANOVA followed by Dunnett's *t*-test for multiple comparisons using Graph-Pad InStat software.

Table 1. Effects of β -sitosterol at 100 μ g/mL on the activity of different enzymes of the AA pathway. 5-LOX activity measured by the release of LTB₄; COX-1 activity measured as 12(S)-HHTrE release; 12-LOX activity measured as 12(S)-HETE release. Values are mean \pm S.E.M. (n = 3); ** *P* < 0.01. (Dunnett's *t*-test). As references we used ethanol extract of gum of *Boswellia serrata* (Bs) (20 μ g/mL) for the 5-LOX activity, Piroxicam (15 μ M) for COX-1 activity and *nor*-dihydroguayaretic acid (NDGA) (10 μ M) for 12-LOX activity.

Compound	LTB ₄	12-HHTrE	12-HETE	N
β -sitosterol	87 \pm 26	134 \pm 36	125 \pm 2	3
<i>B. serrata</i>	44 \pm 9**	N.T.	N.T.	3
Piroxicam	N.T.	39 \pm 2**	204 \pm 18	3
NDGA	N.T.	54 \pm 3**	41 \pm 8**	3

Table 2: Effects of β -sitosterol (0.5 mg/ear) and dexamethasone (0.05 mg/ear) on induced DTH in mice. Values are mean \pm S.E.M. (n = 6); ** *P* < 0.01. (Dunnett's *t*-test) compared with control.

Compound	$\Delta T \pm E$				
	24 h	48 h	72 h	96 h	102 h
Control	232,5 \pm 9,2	176,6 \pm 12,8	227,3 \pm 14,2	228,8 \pm 13,8	226,1 \pm 24,5
β -sitosterol	162,9 \pm 10,9**	164,6 \pm 12,9	187,6 \pm 8,0	214,3 \pm 16,9	250,2 \pm 13,9
Dexamethasone	80,5 \pm 8,2**	58,5 \pm 9,8**	37,7 \pm 26,9**	57,2 \pm 15,1**	83,7 \pm 15,2**

(ΔT) Thickness variation (mm \times 10⁻³); ** *P* < 0,01 (Dunett's *t* Test)

Compound	% Inhibition				
	24 h	48 h	72 h	96 h	102 h
β -sitosterol	30	7	17	6	-11
Dexamethasone	65	67	77	75	63

Table 3. Effects of β -sitosterol I and dexamethasone on the activity of MPO in ear biopsies.

Compound	Absorbance	% Activity MPO
Control	1,537 \pm 0,114	100
β -sitosterol	1,376 \pm 0,096	90
Dexamethasone	0,837 \pm 0,167**	46

** *p* < 0,01 (Dunett's *t* Test)

Results and Discussion

β -sitosterol did not show any cytotoxicity in human PMN at a dose of 200 μ g/mL in the MTT assay (data not shown). The results of the models of eicosanoid release are summarised in Table 1. β -sitosterol did not inhibit LTB₄ production neither the production of 5(S)-HETE. It also failed to inhibit 12(S)-HHTrE release, a valid marker of the COX-1 activity (16). The obtained results in the oxazolone-induced contact dermatitis are showed in Table 2. The extract inhibited the oedema at 24 hours but this effect was not maintained until the end of the assay. It did not inhibit the leukocyte infiltration measured as myeloperoxidase activity in biopsies (Table 3).

In the *in vivo* model of DTH, β -sitosterol has been shown to inhibit the oedema in the oxazolone-induced DTH model in the 24 first hours. The inhibition is of pharmacological significance in accordance with Young and De Young (15), which established that in this model NSAIDs only inhibit in a extend of 30-40% at 24 h. The subjacent mechanisms of DTH models are based on the modification of endogenous proteins by covalent binding of haptens. Oxazolone acts as a hapten that reacts covalently with proteins to lead to an antigen-protein complex that is target of T-lymphocytes. The Langerhan' cells recognize this complex and migrate from epidermis to lymph nodes, thus initiating a specific immune response. After a second contact with the hapten, an inflammatory reaction appears by inducing macrophage cytokine release and PGE₂ synthesis during the respective early vascular and late cellular phases of inflammation (17). It is possible, however, that the response to oxazolone may partly evolve on a different pathway independent of interleukin-4 (18). The results indicate that this compound can participate in the inhibition of a cell-mediated oedema during its earlier stage. If β -sitosterol does not inhibit the COX pathway responsible for PGE₂ synthesis other mechanisms must be considered.

As conclusion, we here establish for first time the *in vivo* anti-inflammatory activity of the β -sitosterol in a model of delayed contact dermatitis. The results indicate that this compound can modulate a cell-mediated oedema without any short term *in vitro* effect in the arachidonate pathway of intact cells. The ubiquity of this compound can explain, and predict, the effect of many plant extracts in this model, and so this data could be of help in dereplication processes.

Acknowledgements

The authors wish to thank the Centre de Transfusions de la Comunitat Valenciana for the kind supply of buffy-coats.

References

1. Bouic PJ. (2001). The role of phytosterols and phytosterolins in immune modulation: a review of the past 10 years. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 4: 471-5.
2. Bouic PJ, Lamprecht JH. (1999). Plant sterols and sterolins: a review of their immunomodulating properties. *Altern. Med. Rev.* 4(3):170-7.
3. Bouic PJ, Clark A, Lamprecht J, Freestone M, Pool EJ, Liebenberg RW, Kotze D, van Jaarsveld PP. (1999). The effects of β -sitosterol (BSS) and β -sitosterol glucoside (BSSG) mixture on selected immune parameters of marathon runners: inhibition of post marathon immune suppression and inflammation. *Int J Sports Med.* 20(4):258-62.
4. Bouic PJ, Etsebeth S, Liebenberg RW, Albrecht CF, Pegel K, Van Jaarsveld PP. (1996) beta-Sitosterol and beta-sitosterol glucoside stimulate human peripheral blood lymphocyte proliferation: implications for their use as an immunomodulatory vitamin combination. *Int. J. Immunopharmacol.* 18(12):693-700.
5. Gomez MA, Scienz MT, Garcia MD y Fernandez MA (1999) Study of The Topical Anti-inflammatory Activity of Achillea ageratum on Chronic and Acute Inflammation Models. *Z. Naturforsch. C* 54: 937-941.
6. Mat Ali R.,Houghton P. (1999). A New Phenolic Fatty Acid Ester with Lipoxygenase Inhibitory Activity from Jacaranda filicifolia. *Planta Med.* 65: 455-457.
7. Iversen L, Kragballe K. (2000). Arachidonic acid metabolism in skin health and disease. *Prost. Lipid Med.* 63: 25-42.
8. Spector AA, Gordon JA, Moore SA. (1988). Hydroxyeicosatetraenoic acids (HETEs). *Prog. Lipid Res.* 27: 271-323.
9. Rao TS, Yu SS, Djuric SW, Isakson PC. (1994) Phorbol ester-induced dermal inflammation in mice: evaluation of inhibitors of 5-lipoxygenase and antagonists of leukotriene B4 receptor. *J. Lipid Med. Cell. Signal.* 10: 213-228.
10. Prieto JM, Recio MC, Giner RM, Máñez S, Ríos JL. (2003). Pharmacological approach to the pro- and anti-inflammatory effects of Ranunculus sceleratus L. *J. Ethnopharm.* 89: 131-137.
11. Safayhi H, Sailer ER, Ammon HP. (1995). Mechanism of 5-lipoxygenase inhibition by acetyl-11-keto-beta-boswellic acid. *Mol. Pharmacol.* 47: 1212-1216.
12. Mosmann, T.J. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* 65: 55-63.
13. Safayhi H, Mack T, Sabieraj J, Anazodo MI, Subramanian LR, Ammon, HP. (1992). Boswellic acids: novel, specific, nonredox inhibitors of 5-

- lipoxygenase. *J. Pharm. Exp. Ther.* 261: 1143-1146.
14. Recio MC, Giner RM, Uriburu L, Máñez S., Cerdá M, De la Fuente JR, Ríos JL. (2000). In vivo activity of pseudoguaianolide sesquiterpene lactones in acute and chronic inflammation. *Life Sci.* 66: 2509-2518.
 15. JM Young and LM De Young. (1989). Cutaneous models of inflammation for the evaluation of topical and systemic pharmacological agents, pp 215-231. In Chang J, Lewis AJ: *Pharmacological methods in inflammation*. Vol. 5, New York, EE.UU.
 16. Sweeney FJ, Pereira MJ, Eskra JD y Carty TJ (1987). The Use of 12-hydroxyheptadecatrienoic Acid (HHT) As an HPLC/spectrophotometric marker for cyclooxygenase pathway activity in resident rat peritoneal cells. *Prostag. Leukotr. Med.* 26: 171-177.
 17. Ferreri NR, Millet I, Paliwal V, Herzog W, Solomon D, Ramabhadran R, Askenase PW. (1991). Induction of macrophage TNF alpha, IL-1, IL-6, and PGE2 production by DTH-initiating factors. *Cell. Immunol.* 137: 389-405.
 18. Traidl C, Jugert F, Krieg T, Merk H, Hunzelmann N. (1999). Inhibition of allergic contact dermatitis to DNCB but not to oxazolone in interleukin-4-deficient mice. *J. Invest. Dermatol.* 112: 476-482.

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>



BLACPMA en Index Copernicus

Estimados Lectores,

Nos complace anunciarles que **Index Copernicus (IC) Internacional** (www.indexcopernicus.com) acoge desde hace un par de meses a nuestro boletín. Este es un gran paso para BLACPMA que así dispone de indexación en uno de los mas importantes “escaparates” de revistas científicas a nivel mundial.

La pagina web de **Index Copernicus** ofrece asimismo un servicio de visualización y búsqueda de artículos. Todos los artículos, editoriales y columnas publicados en el 2006 por **BLACPMA** ya estan incluidos y ofrecen los textos completos o en caso de los articulos científicos los abstracts con posibilidad de descarga del Boletín. Progresivamente incluiremos los numero anteriores.

Pueden consultar nuestros contenidos a través de **Index Copernicus** si navegan a su “IC Journals Master List” (Fig 1) y seleccionan la “B” en la pagina que aparece. Encontraran fácilmente **BLACPMA** entre los otros muchos “journals” indexados. Con un simple clic en “**SHOW >>**” (Fig 2) entran en la lista de boletines publicados. Nuevo clic en el boletín deseado (Fig 3) y entran en sus contenidos completos (Fig 4).



Figura 1. Acceso Principal de IC

INDEX COPERNICUS™
INTERNATIONAL JOURNAL MASTER LIST

May 31, 2006

IC Journals Master List

- Journal of the Week
- Journals Master List
- Journals from CC@list
- Recently Added Journals
- Top 100 Journals
- Publishers
- Top 20 Publishers
- Journal Search
- Info/FAQ


IC Journal Master List 2005

Advertisement purchase

Submission Menu

- Register Journal - Free Service
- IC™ Publisher Panel

IndexCopernicus™ Journal Information

<< Back 

Journal Title (Vernacular) BLACPMA

Journal Title (English) Latin American and Caribbean Bulletin of Aromatic and Medicinal Plants

e-ISSN 0717 7917

Website <http://www.blacpma.cl>

Language of publication : English, Spanish

Abstracts English, Spanish

Full texts English, Spanish

Frequency n/a

Abstracts available in IC Yes [Show >>](#)

IC Value - Current **Not indexed**

IC Value - Expected 2006 Evaluation pending

IC Value - History

Figura 2. Presentación de BLACPMA dentro de IC

INDEX COPERNICUS™
INTERNATIONAL JOURNAL MASTER LIST

May 31, 2006

IC Journals Master List

- Journal of the Week
- Journals Master List
- Journals from CC@list
- Recently Added Journals
- Top 100 Journals
- Publishers
- Top 20 Publishers
- Journal Search
- Info/FAQ

IC Journal Master List 2005

Advertisement purchase

Submission Menu

- Register Journal - Free Service
- IC™ Publisher Panel

IndexCopernicus™ Journal Abstract

Back

BLACPMA
[Latin American and Caribbean Bulletin of Aromatic and Medicinal Plants]

Available Volumes

Volume 5, 2006

- [BLACPMA, 2006; 5\(1\)](#)
- [BLACPMA, 2006; 5\(2\)](#)

Volume 4, 2005

- [BLACPMA, 2005; 4\(6\)](#)

Figura 3. Blog del boletín dentro de IC

INDEX COPERNICUS™
INTERNATIONAL JOURNAL MASTER LIST

May 31, 2006

IC Journals Master List
Journal of the Week
Journals Master List
Journals from CC© list
Recently Added Journals
Top 100 Journals
Publishers
Top 20 Publishers
Journal Search
Info/FAQ

IC Journal Master List 2005
Advertisement purchase

Submission Menu
Register Journal - Free Service
IC™ Publisher Panel

IndexCopernicus™ Journal Abstract
Back

Available Articles

Quince años de Sociedad Italo-Latinoamericana de Etnomedicina (SILAE)
Luca Rastrelli
BLACPMA 2006; 5(1):3-4
ICID: 449873
IC™ Value: 2.40
ICID: 449873
ABSTRACT | FULL TEXT

La Etnofarmacología - 'quo vadis?'
Michael Heinrich
BLACPMA 2006; 5(1):7-7
ICID: 449870
IC™ Value: 0.90
ICID: 449870
ABSTRACT | FULL TEXT

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF Hymenostegia afzelii AND Napoleanea vogelii
Christian AGYARE, Abraham MENSAH, Kwame SARPONG, Gustav KOMLAGA
BLACPMA 2006; 5(1):11-14

Figura 4. Vista parcial del Numero 1 Vol 5

Esperamos que este nuevo esfuerzo sea de su agrado y utilidad. La pagina WEB de BLACPMA www.blacpma.cl ha sido redireccionada para mostrar contenidos presentes en la versión "beta" mejorada aun alojada en la Universidad de Valencia. Pronto estaremos preparados para el salto de la versión beta a la definitiva, lo cual sera anunciado a su debido tiempo. Además ya estamos estudiando la instalación de un sistema de gestión electrónica de artículos que proveerá servicios de recepción de trabajos y revisión de los mismos totalmente "on-line".

Gracias por su interés y fidelidad. Ya saben que esperamos cualquier sugerencia sobre estas mejoras o los contenidos de la WEB.

Dr. Jose Maria Prieto
Editor Ejecutivo BLACPMA
Co-ordinador del Proyecto WEB BLACPMA
Jose.prieto@pharmacy.ac.uk

Frases y citas

La política es el arte de buscar problemas, encontrarlos, hacer un diagnóstico falso y aplicar después los remedios equivocados.

Groucho Marx

Para no fracasar en la vida hay una consigna que nunca falla: no esperar nada del amigo y esperarlo todo del enemigo.

C. de Villalobos

El mejor gobierno es el que no gobierna en absoluto.

Henry David Thoreau

La arquitectura de la pobreza en modo alguno puede justificar la pobreza de la arquitectura.

Mariano Arana

El hombre sabio no debe abstenerse de participar en el gobierno del Estado, pues es un delito renunciar a ser útil a sus compatriotas y una cobardía cederles el paso a los indignos.

Epicteto

Ayuda a tus semejantes a levantar su carga, pero no a llevarla.

Pitágoras

A grandes males, grandes remedios.

Hipócrates

Donde hay educación, no hay distinción de clases.

Confucio

La vida es una navegación difícil sin una buena brújula.

José Luis Sanpedro

La democracia es el peor sistema de gobierno diseñado por el hombre, con excepción de todos los demás.

Winston Churchill

Conservar algo que me ayude a recordarte sería admitir que te puedo olvidar.

William Shakespeare

El secreto de la felicidad no está en hacer siempre lo que se quiere, sino en querer siempre lo que se hace.

León Tolstói

La conciencia del hombre recto se ríe de los engaños de la fama.

Ovidio

La mucha luz es como la mucha sombra: no deja ver.

Octavio Paz

El dinero no nos proporciona amigos, sino enemigos de mejor calidad.

Noel Coward

Un hombre es tan joven como la mujer que él siente.

Groucho Marx

Nadie es jamás tan viejo que después de un día no espere otro.

Séneca

Procura instruirte mientras vives; no creas que la vejez trae consigo la razón.

Solón

Si amas, perdona; si no amas, olvida

Vicki Baum

BLACPMA