

rdf

Revista de Fitoterapia



ÓRGANO OFICIAL



Fito 2009
2º CONGRESSO IBEROAMERICANO
DE FITOTERAPIA
www.fito09.org 8-10 OUT 2009 HOTEL ALTIS PARK, LISBOA

1º Congresso da SPFITO
5º Congreso de la SEFIT

LIBRO DE RESÚMENES · LIVRO DE RESUMOS · BOOK OF ABSTRACTS

SUMARIO

3-4 Bienvenida

Boas vindas

Wellcome

7-13 lista de contribuciones científicas

Lista de contribuições científicas

List of scientific contributions

15-76 Conferencias plenarias

Conférencias plenárias

Plenary lectures

79-88 Comunicaciones orales

Comunicações orais

Short lectures

89-159 Pósters

Painéis

Posters

160-168 Índice de autores

Índice de autores

Autor index

169-172 Índice de especies botánicas

Índice de espécies botânicas

Index of botanical species

173 Sociedad Española de Fitoterapia

174 Asociación Mexicana de Fitoterapia

175 Sociedad Chilena de Fitoterapia

176 Sociedade Portuguesa de Fitoquímica e Fitoterapia

177 Associação Brasileira de Fitoterapia

179-180 Instrucciones para los autores



FIGURA 1. Rizoma de *S. domingensis*.
Foto: A. Cáceres.

PL07

Validación de la actividad biocida e inmunomoduladora del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Smilax domingensis* Willd. cultivado en Guatemala

Armando Cáceres ^a

Sully M. Cruz ^a

J. Vicente Martínez ^b

Martha A. Gattuso ^c

^a Facultad de CCQQ y Farmacia,
Universidad de San Carlos (USAC),
Ciudad Universitaria, Guatemala
01012, Guatemala
acaceres46@hotmail.com

^b Facultad de Agronomía. Universidad
de San Carlos (USAC), Ciudad
Universitaria, Guatemala 01012,
Guatemala

^c Facultad de Ciencias Bioquímicas
y Farmacéuticas, Universidad de
Rosario, Suipacha 531, Argentina
mgattuso@fbioyf.unr.edu.ar

Resumen

Smilax domingensis conocida como zarzaparrilla, es una liana tropical de Mesoamérica. El rizoma se ha usado históricamente como antiinflamatorio, antiséptico y tónico.

Estudios con material silvestre demostraron actividad antifúngica *in vitro*, que se confirmó con ensayos clínicos en candidiasis y tinea.

En el presente trabajo se presentan resultados usando rizomas cultivados, en cuyos extractos se confirmó la actividad frente a bacterias, levaduras y hongos, así como la actividad inhibidora de la linfoproliferación y de la vía clásica del complemento.

No se observó actividad analgésica ni antiinflamatoria, que fue evaluada por métodos convencionales.

Se describen también los parámetros para el control de la calidad de la droga vegetal y sus extractos.

Se concluye que el material cultivado se comporta en forma similar a los materiales silvestres investigados previamente.

Palabras clave

Smilax domingensis, zarzaparrilla.

Validação das actividades biocida e imunomoduladora do extracto hidroalcoólico do rizoma de *Smilax domingensis* Willd. cultivado na Guatemala

Resumo

Smilax domingensis conhecida como salsaparrilha, é uma trepadeira tropical da Mesoamérica. O rizoma foi utilizado historicamente como anti-inflamatório, anti-séptico e tônico.

Estudos realizados com material espontâneo demonstraram actividade antifúngica *in vitro*, o que foi confirmado por estudos clínicos em casos de candidíase e Tinea.

Neste trabalho, apresentamos resultados usando rizomas cultivados. Os estudos realizados com os extractos confirmaram várias das actividades já descritas, nomeadamente, actividade contra bactérias, leveduras e fungos, bem como revelaram actividade inibitória da proliferação de linfócitos e da via clássica do complemento.

Não houve demonstração de actividade analgésica nem anti-inflamatória, que foram avaliadas por métodos convencionais.

Neste trabalho descrevem-se também os parâmetros de controlo da qualidade da droga vegetal e dos seus extractos.

Demonstra-se, assim, que os extractos obtidos a partir de material cultivado se comportam de forma semelhante aos extractos preparados a partir de material espontâneo previamente investigados.

Palavras-chave

Smilax domingensis, salsaparrilha.

Introducción

Existen unas 250 especies de *Smilax*, cuyas raíces se usan desde hace siglos como antiséptico, antiinflamatorio y tónico, siendo las más conocidas *Smilax aristolochiaefolia* Mill., *S. ornata* Hook y *S. regelii* Killip et Morton, caracterizadas por raíces blancas y contenido de saponósidos esteroideos⁽¹⁾. En Mesoamérica se encuentran unas 26 especies⁽²⁾, *Smilax domingensis* Willd. tiene un rizoma leñoso rojo y particularidades que la diferencian de las otras especies de *Smilax*. Desde 1983 se realizan estudios con el material silvestre para validar su uso y caracterizar la droga vegetal. Se demostró actividad antifúngica⁽³⁾ *in vitro*, que se confirmó con ensayos clínicos en candidiasis vaginal y *Tinea pedis*, así como la presencia de flavonoides y escaso contenido de saponinas.

Validation of the biocide and immunomodulatory activity of the hydroalcoholic extract of the rhizome of *Smilax domingensis* Willd. grown in Guatemala

Abstract

Smilax domingensis known as sarsaparilla, is a tropical vine from Mesoamerica. The rhizome has been used historically as anti-inflammatory, antiseptic and tonic.

Studies with plant material collected from the wild, showed antifungal activity *in vitro*, which was confirmed in clinical trials for candidiasis and tinea.

In the present work, results obtained with cultivated plant material are presented. The extracts from rhizomes showed activity against bacteria, yeasts and fungi, as well as inhibitory activity on lympho-proliferation and on classical pathway of the complement system. The extracts did not show analgesic and anti-inflammatory activities, which were tested by conventional methods. Also, parameters for quality control of the herbal drug and their extracts are described.

It can be concluded that the cultivated plant material was similar to the wild plant material previously investigated.

Key words

Smilax domingensis, sarsaparilla.

El objetivo de este artículo es revisar la literatura sobre los estudios realizados en la especie silvestre y aportar datos sobre su validación, características farmacobotánicas y fitoquímicas para su control de calidad, así como los resultados de desarrollo agro tecnológico y fitoquímicos para la estandarización de esta droga vegetal.

Material y Métodos

Estudios botánicos

Se revisaron las principales referencias sobre las *Smilax* de Mesoamérica que indican la presencia de entre 13⁽⁴⁾ y 25 especies⁽²⁾. Se revisaron las principales fuentes históricas y etnobotánicas para determinar sus nombres y usos populares.

Estudios endomorfológicos

Se encontraron muy pocos estudios anatómicos de las *Smilax americanas*, particularmente de Argentina y Brasil. La evaluación microscópica se hizo en material fresco y seco de acuerdo con los procedimientos para el análisis de drogas vegetales.

Estudios agrotecnológicos

Se hicieron estudios de propagación vegetativa y sexual, se evaluaron las labores culturales y se desarrollaron tecnologías de cosecha y poscosecha^(5, 6).

Actividad antimicrobiana

Por un método de dilución en placas de agar se determinó la actividad contra bacterias, levaduras⁽⁷⁾ y hongos⁽⁸⁾; la concentración inhibitoria mínima (CIM) se determinó en cajas cuadriplate⁽⁹⁾. La actividad contra *Leishmania braziliensis*, *L. mexicana* y *Trypanosoma cruzi* *in vitro* se realizó por cultivo de epimastigotes en medio LIT y tripomastigotes por cultivo de tejidos, y reto de las suspensiones en microplacas⁽⁹⁾.

Actividad antiinflamatoria y analgésica

Se indujo edema plantar en rata con carragenina, se administró el extracto oralmente y se evaluó por pleismografía⁽¹⁰⁾. La actividad analgésica se midió por tres métodos: Determinación de la resistencia al peso en la pata de la rata en la que se induce inflamación por carragenina y se evalúa en analgesímetro⁽¹¹⁾; determinación del tiempo de reacción a la aplicación constante de calor en la cola, administración oral y medición en un aparato de Tail-Flick⁽¹²⁾; y determinación del tiempo de reacción en la placa caliente después de administración oral del extracto⁽¹³⁾.

Toxicidad

Se determinó la toxicidad aguda en ratón, evaluando a los animales durante 8 días y calculando la DL₅₀⁽¹⁰⁾.

Actividad inmunomoduladora

Se evaluó el efecto en la proliferación de linfocitos humanos comparado con ConA, midiendo colorimétricamente la concentración efectiva mínima (CEM) por reacción con XTT⁽¹⁴⁾; la actividad sobre las vías alternativa y clásica del complemento, evaluando la hemólisis colorimétricamente en microplaca⁽¹⁵⁾; y la producción de anticuerpos en ratones inmunizados con *Salmonella* y evaluando sus niveles por la prueba de Widal⁽¹⁶⁾.

Estudio fitoquímico

Se prepararon extractos hidroalcohólicos y particiones líquido-líquido con disolventes de diferente polaridad en las



FIGURA 1. *Smilax domingensis*. Foto: A. Cáceres.

que se realizaron ensayos fitoquímicos por cromatografía en capa fina, HPLC y CG-MS para determinar sus componentes que pudieran utilizarse como marcadores para el control de calidad.

Resultados y discusión

Se describen con detalle las características macro y microscópicas de la droga vegetal y se elaboran fichas micrográficas para su identificación y control de calidad.

De la literatura revisada se demuestra un amplio uso medicinal por la población local, atribuyéndole propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, depurativas, diaforéticas, diuréticas, estimulantes y para el control de enfermedades hematológicas y venéreas.

La propagación más efectiva se dio por repoblación natural y el manejo de poblaciones en un sistema agroforestal. Se ha descrito la forma de cosecha y manejo poscosecha que garantice una droga vegetal de calidad^(5, 6), y permita el desarrollo de productos fitoterápicos⁽¹⁷⁾.

Se confirmaron los resultados de actividad antimicrobiana obtenidos previamente con material silvestre, demostrándose actividad contra bacterias (*Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, 0,25 mg/mL), levaduras (*Sporo-*



thrix schenckii, 0,25 mg/mL y *C. neoformans*, 0,50 mg/mL), y dermatofitos (*Trichophyton rubrum*, 0,50 mg/mL).

Se demostró actividad inmunomoduladora por inhibición de la proliferación de linfocitos (CEM 62,35 µg/mL), siendo la más potente la fracción del extracto obtenida por partición con acetato de etilo. El extracto etanólico inhibió la vía clásica del complemento (Cl₅₀ 12,88 µg/ml), mientras que la fracción acetato de etilo inhibió la vía alternativa (Cl₅₀ 12,15 µg/ml). No se demostró actividad analgésica o antiinflamatoria por ninguno de los modelos usados.

S. glabra Roxb. ha demostrado actividad inmunomoduladora, por inhibición de la inflamación primaria y secundaria en la artritis inducida por adyuvante en ratas ⁽¹⁸⁾.

La química de *Smilax* ha sido descrita para las otras especies, que contiene saponósidos esteroideos, flavonoides, polifenoles y estigmasterol ⁽¹⁹⁾. Esta es la primera publicación de la química de esta especie que demostró que la tintura 50% contiene flavonoides, saponinas, cumarinas, lactonas sesquiterpénicas y taninos.

En colaboración con el Instituto Nacional de Ingeniería, Tecnología e Innovación (INETI) de Lisboa, se identificaron por HPLC los marcadores mayoritarios que podrían utilizarse para la estandarización de los extractos: ácido cafético, ramnósido de queritrina y rutenósido de queretrina, y en menor concentración cafeína, kempferol, teobromina, teofilina, catequina, epicatequina y galocatequina. Contrario a lo esperado, sarsapogenina, smilagenina y estigmasterol no fueron detectados por GC-MS.

Es evidente que las propiedades botánicas, químicas y farmacológicas de *S. domingensis* son diferentes a las otras especies. Es necesario establecer las moléculas responsables de la actividad inmunomoduladora y realizar ensayos clínicos para confirmar la actividad.

Agradecimiento: Se agradece el apoyo técnico de Maria do Céu Costa (INETI, Lisboa) y de Aylin Santizo, Edna García y Egly Alvarez (USAC, Guatemala); el apoyo financiero de la Organización de los Estados Americanos (OEA), del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT, proyecto FODECYT 42-2006), y la cooperación de la red RIBOFAR del CYTED.

Referencias bibliográficas

1. British Herbal Pharmacopoeia. Bournemouth: The British Herbal Medicine Association; 1983.
2. Huft MJ. Smilacaceae. In: Devidse G, Sousa M, Chater AO - Flora Mesoamericana. Universidad Nacional Autónoma de México, México: Missouri Botanical Garden and The National History Museum (London), 1994.
3. Cáceres A, López B, González S, Berger I, Tada I, Maki J. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. 1. Screening of activity to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 native plants. *J Ethnopharmacol* 1998; 62: 95-202.
4. Standley PC, Steyermark JA. Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 1952; 24 (3): 92-100.
5. Herrera M, Martínez JV, Cáceres A. Agrotecnología para el cultivo de bejuco de la vida o zarzaparrilla. En: Martínez JV, Bernal, HY, Cáceres A. Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello y Subprograma X CYTED; 2000.
6. Ocampo R, Martínez V, Cáceres A. Manual de Agrotecnología de Plantas Medicinales Nativas. Proyecto OEA/AICD/AE-089/05, San José, 2007.
7. Mitscher LA, Leu RP, Bathala MS, Wu WN, Beal JL, White R. Antimicrobial agents from higher plants. I. Introduction, rationale and methodology. *Lloydia* 1972; 35:157-66.
8. Brancato FP, Golding NS. The diameter of the mould colony as a reliable measure of growth. *Mycologia* 1953; 45: 848-64.
9. Cáceres A, López BR, Girón MA, Logemann H. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. *J Ethnopharmacol* 1991; 31: 263-76.
10. Saravia A. Manual de ensayos toxicológicos y farmacológicos experimentales in vivo e in vitro. Guatemala: Editorial Universitaria; 2005.
11. Randall IO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity in inflamed tissue. *Arch Intern Pharmacod Thér* 1957; 111: 406-19.
12. D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharma Exp Ther* 1941; 72: 74-79.
13. Woolfe G, Mac Donald AD. The evaluation of the analgesic activity of pentidine hydrochloride (Demerol). *J Pharmacol Exper Ther* 1944; 80: 300.
14. Scudeiro DA, Shoemaker RH, Paull KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens MJ, Seniff D, Boyd MR. Evaluation of soluble tetrazolium/ formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res* 1988; 48: 4827-833.
15. Klerx JPAM, Beukelman CJ, Van Dijk H, Willers JMN. Microscopy for colorimetric estimation of complement activity in guinea pig, human and mouse serum. *J Immunol Meth* 1983; 63: 215-20.
16. Godhwani S, Godhwani JL, Vyas DS. *Ocimum sanctum* - A preliminary study evaluating its immunoregulatory profile in albino rats. *J Ethnopharmacol* 1988; 24: 193-98.
17. Cáceres A, Gupta MP, Ocampo RA, Mendoza J, Herrera MR, Solis PN, Cruz SM, Martínez V. Multidisciplinary development of phytotherapeutic products from native Central American plants. *Acta Hort* 2006; 720: 149-55.
18. Jiang J, Xu Q. Immunomodulatory activity of the aqueous extract from rhizome of *Smilax glabra* in the later phase of adjuvant-induced arthritis in rats. *J Ethnopharmacol* 2003; 85: 53-59.
19. Bérdy J, Aszalo A, Bostian M, McKnight KL. CRC Handbook of Antibiotic Compounds. Vol. VII, Part 2. Boca Raton: CRC Press; 1982.