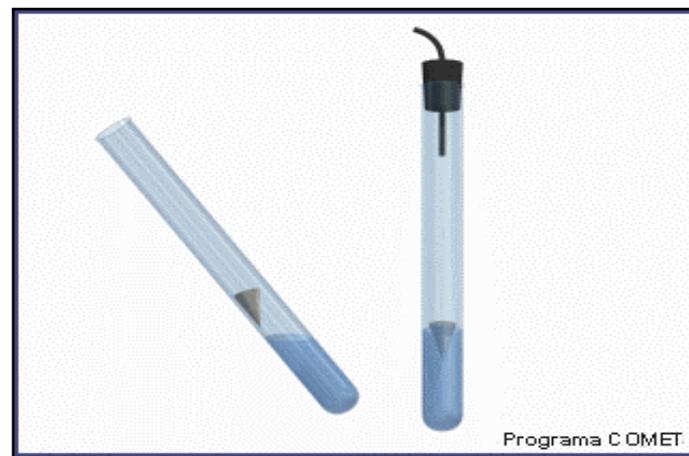
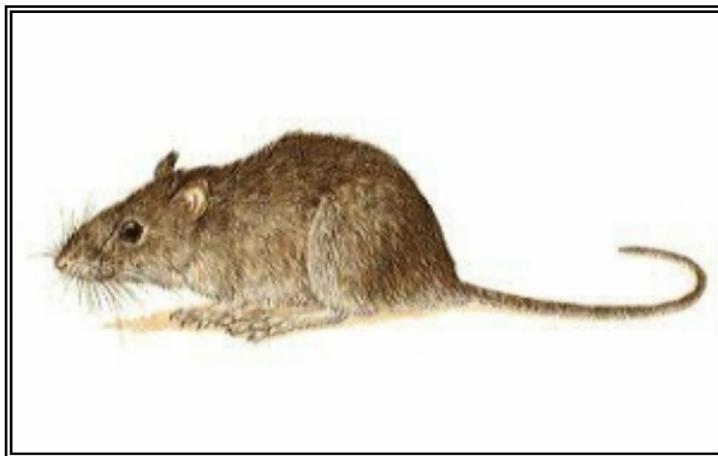




ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

Técnicas de Comprobación de Actividad Biológica





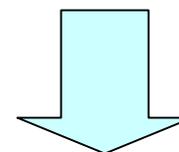
ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

Extracción para Tamizaje



→ Maceración

- diclorometano o hexano
- éter o etanol
- agua



Aislamiento y elucidación
estructural

Técnicas de filtración, partición,
intercambio iónico, cromatografía

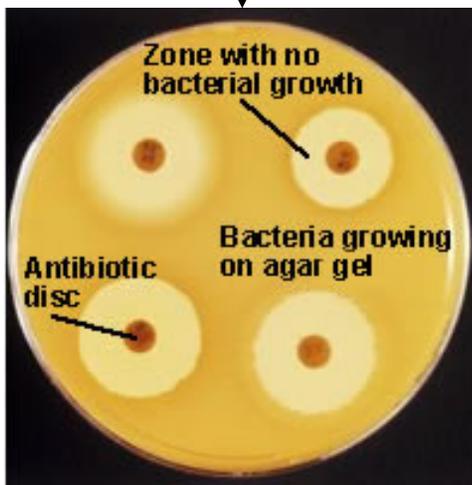


ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ENSAYOS DE ANTIMICROBIANOS

Método de difusión en placas o discos con agar

50 microlitros de extracto



- Incubación a 35°
- 24 horas
- halos (-) > 9 mm indica POSITIVO
- halos (-) entre 6-9 mm : moderado
- halos (-) < 6 mm : NEGATIVO



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ENSAYOS DE ANTIMICROBIANOS

- **Bacterias Gram (+) y (-)**

Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Streptococcus pneumoniae, E. coli, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Salmonella spp., Shigella sp.

- **Hongos y levaduras**

Candida albicans, Microsporium sp. Trichophytum sp, Epidermophyton floccosum, Neurospora crassa, Saccharomyces cerevisiae, etc

- **Protozoarios y parásitos**

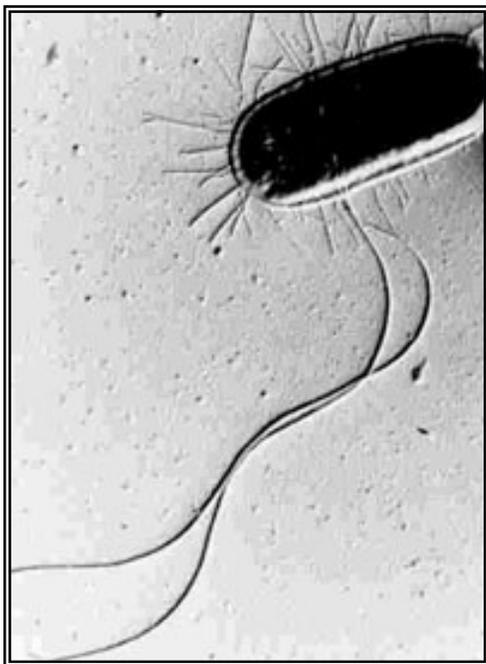
Ascaris lumbricoides, Entamoeba histolytica, Trichomonas vaginalis, Plasmodium berghei, Plasmodium falciparum, T. cruzi

- **Virus:** *Herpes, Estomatitis vesicular, coxsackie, polio, CMV*



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

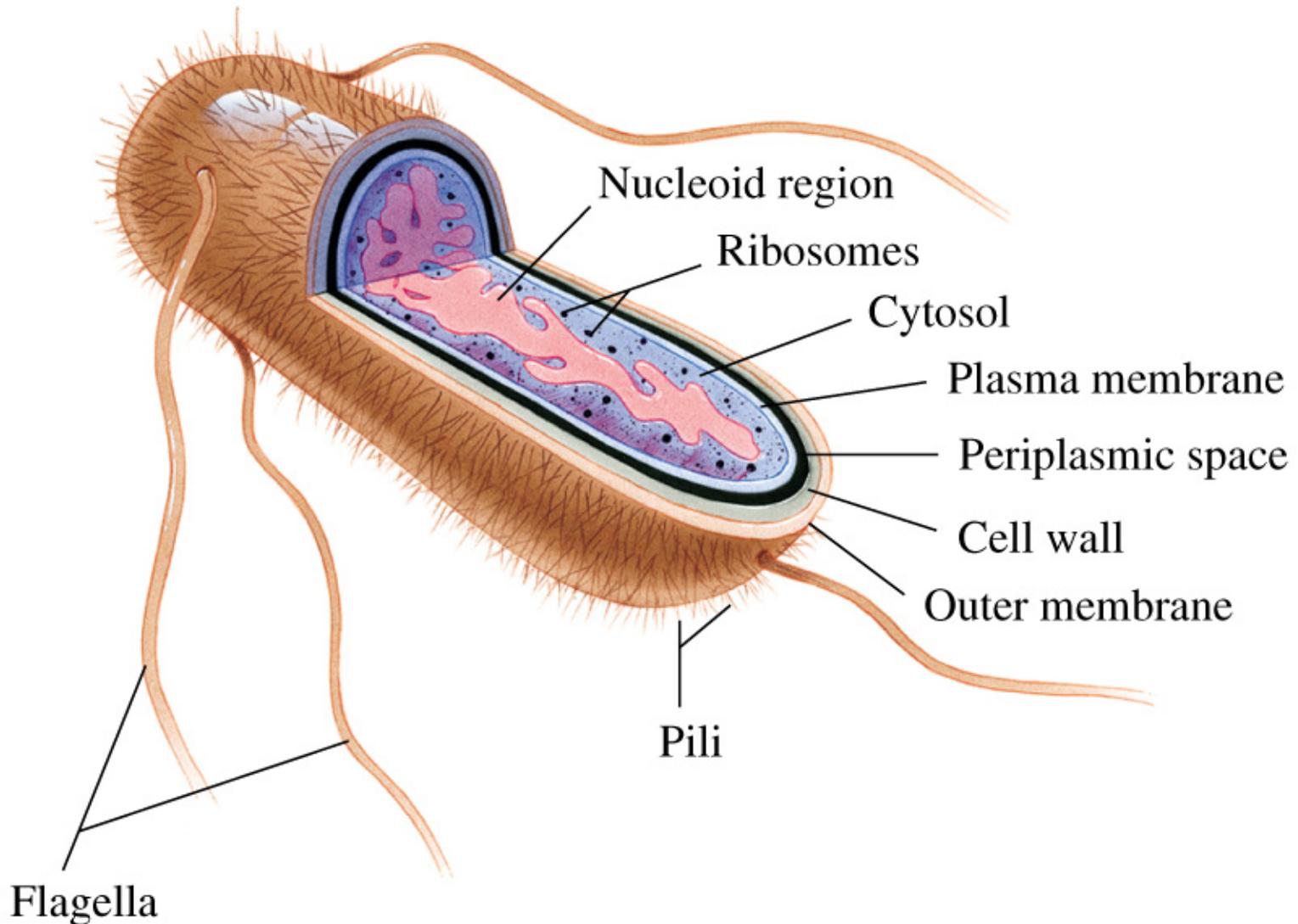
INHIBIDORES DE ESCHERICHIA COLI



E. coli

- *Achillea millefolium*
- *Allium sativum*
- *Aloysia triphylla*
- *Arctium lappa*
- *A. uva ursi*
- *Carica papaya*
- *Curcuma longa*
- *Echinacea sp* –
- *Hydrastis canadensis* – *Ensayos en humanos*
- *Vaccinum myrtillus*
- *Vaccinum macrocarpon*

ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA



Escherichia coli
VANCOMICINA
RESISTENTE

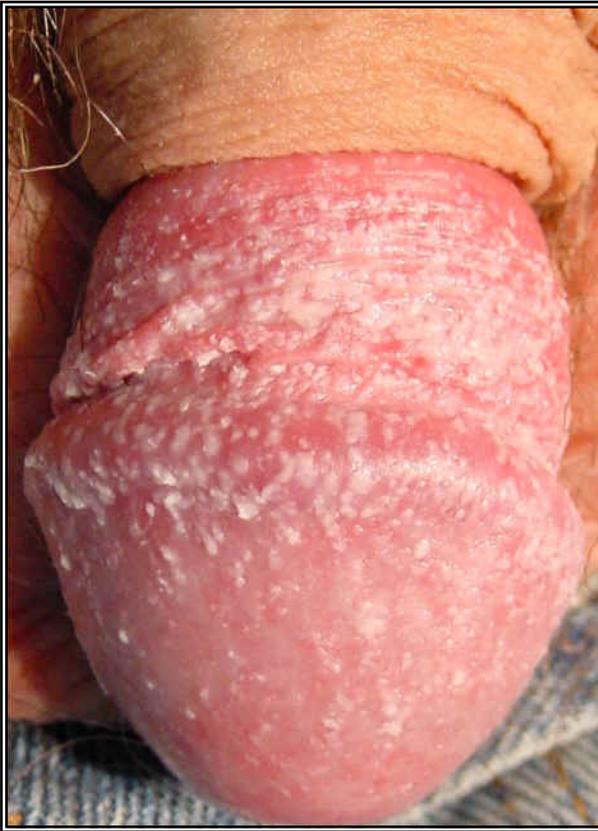


Tea tree (*Melaleuca
alternifolia*)



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

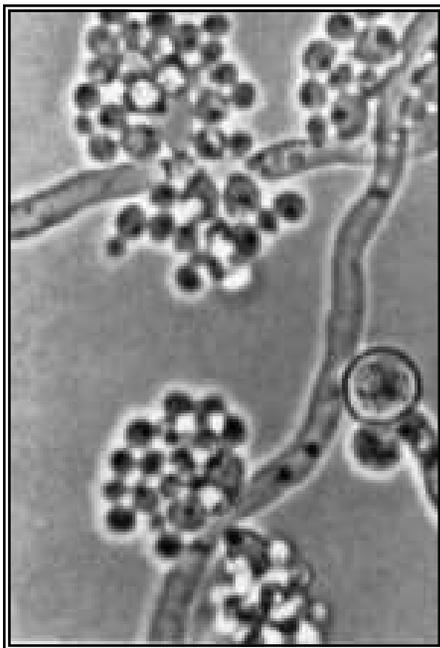
CANDIDIASIS





ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

INHIBIDORES IN VITRO DE CANDIDA ALBICANS



Candida albicans

Allium sativum

Arctium lappa

Conyza bonariensis –

Curcuma longa –

Echinacea sp –

Ocimum basilicum –

Rosmarinus officinalis

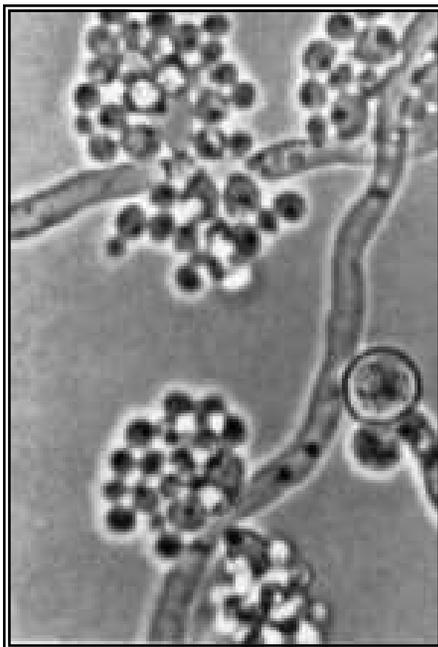
Tabebuia impetiginosa –

Thymus vulgaris -



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

INHIBIDORES IN VIVO DE CANDIDA ALBICANS



Candida albicans

Cinnamomum zeylanicum

Melaleuca alternifolia

Ruta graveolens

Smilax lundellii -

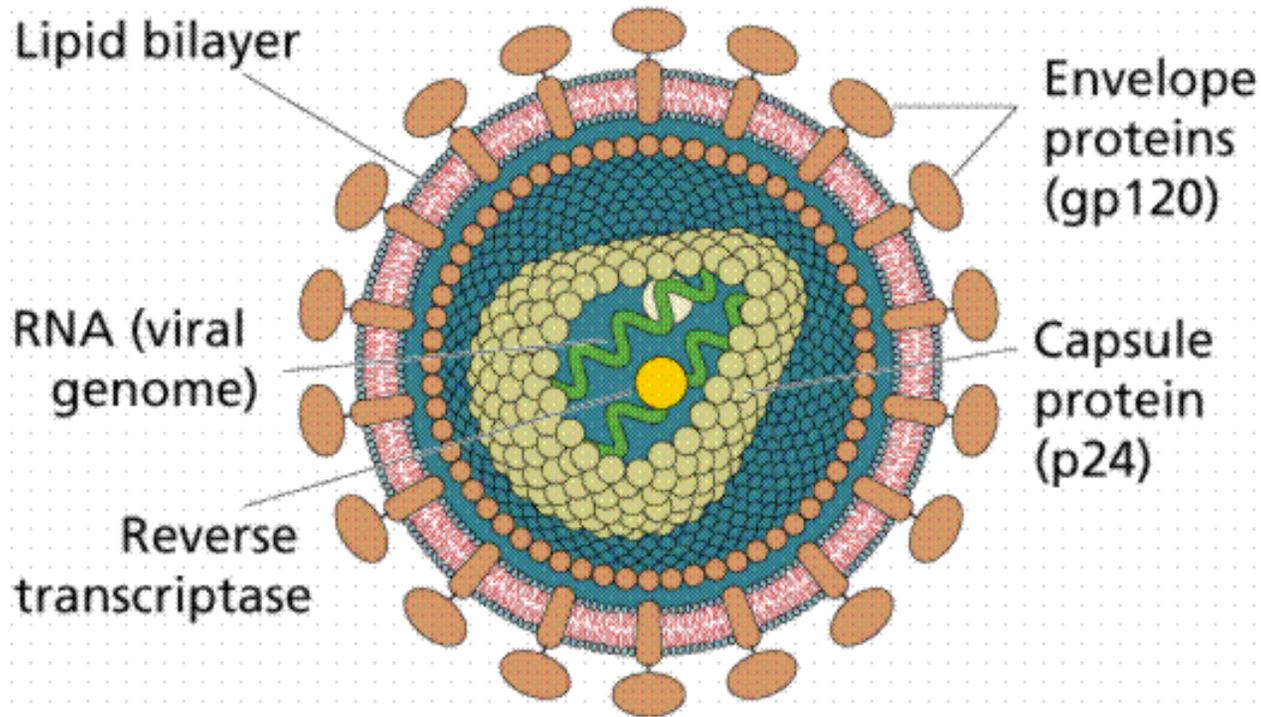
Candida albicans resistente a fluconazol:

Melaleuca alternifolia



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

INHIBIDORES IN VITRO DEL HIV



Virus HIV



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

INHIBIDORES IN VITRO DEL HIV

- *Achyrocline satureoides*
- *Aloe vera*
- *Arctium lappa*
- *Ganoderma lucidum*
- *Glycyrrhiza glabra*
- *Grifolia frondosa*
- *Hypericum perforatum*
- ***Lentinus edodes***
- *Tabebuia impetiginosa*
- *Thea sinensis*
- *Urtica dioica*
- *Viscum album*





ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

INHIBICIÓN TUMORAL

- Cultivos de tejidos tumorales
- Tumores trasplantados (Ehrlich)
- Tumores inducidos por carcinogénicos (Nitrosamina, DMBA)

Melanoma humano MEL-2

Carcinoma de pulmón de ratón (Lewis)

Carcinoma humano de mama (U-373)

Leucemia linfocítica de ratón P-388

- *Tr. en disco de papa (Agrobacterium tumefaciens)*
¡Ojo! antimicrobianos
- *Artemia salina*



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

INHIBICIÓN TUMORAL

MELANOMAS Y TR. PIEL

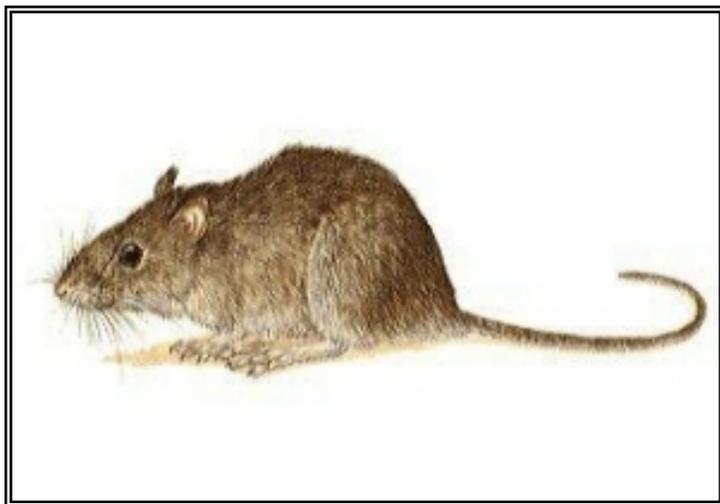
Allium sativum - *Betula alba* -
Combretum caffrum - *Curcuma longa*
- *Larrea tridentata* - *Maytenus*
ilicifolia - *Panax ginseng* -
Rosmarinus officinalis - *Silybum*
marianum - *Solanum sodomaeum* -
Taxus brevifolia - *Thea sinensis* -
Uncaria tomentosa - *Viscum album*





ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD DIURÉTICA



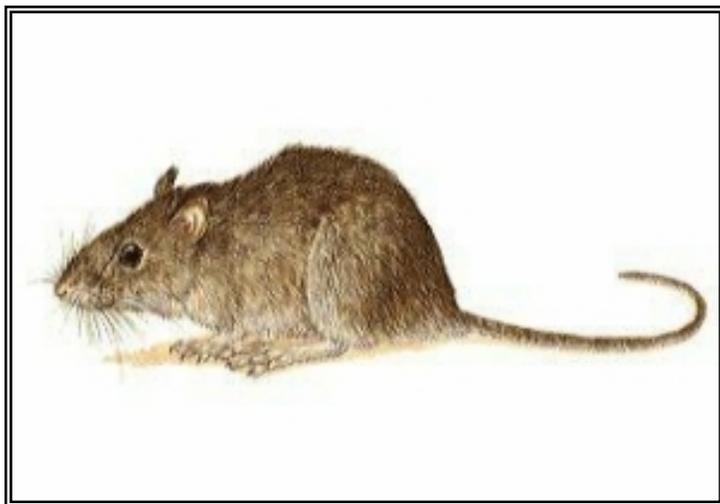
- Se mide volumen de orina eliminado en 24 hs.
- Compara con HCTZ.
- Mecanismo de acción de drogas vegetales: ACUARÉTICO

DIURÉTICOS PROBADOS: *Apium graveolens* - *Betula alba* - *Cynara scolymus* - *Zea mays* - *Equisetum spp.* - *Hibiscus sabdariffa* - *Juniperus communis* - *Mangifera indica* - *Ortosiphon stamineus* - *Phyllanthus niruri* - *Smilax spp.* -



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD ANTIESPASMÓDICA



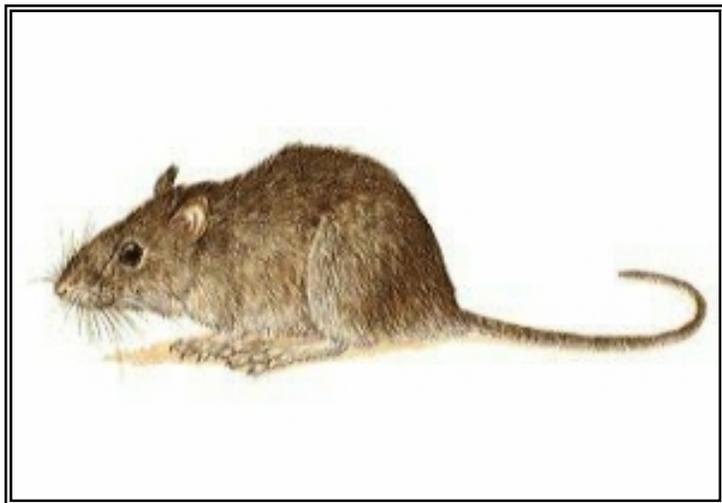
- Íleon de cobayo, duodeno de rata, yeyuno de conejo, útero de rata, tiras de tráquea, etc.
- Inducción con ACH
- Control: papaverina

ANTIESPASMÓDICOS PROBADOS: *Mentha x piperita*, *Atropa belladonna*, *Matricaria recutita*, *Psidium guajava*, *Salvia off.* *Rosmarinus off.*, *Tilia spp.* *Valeriana officinalis*, *Verbena spp.*



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA



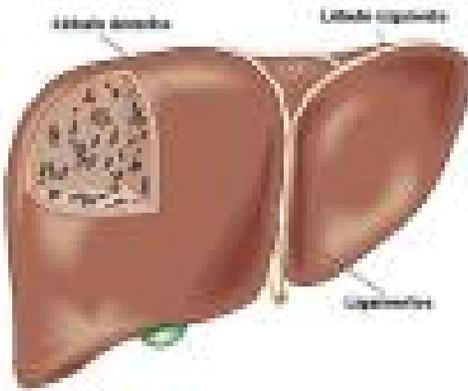
- Alimentar ratas con comida salada y agua con 6% de Cl Na. Al 10° día: HIPERT. ARTERIAL
- Músculo liso aislado (evitar VC inducida por adrenérgicos).
- Se mide actividad Angiotensina, óxido nítrico, bloq. canal Ca⁺⁺

ANTIHIPERTENSIVOS APROBADOS: *Allium sativum*,
Solanum sisymbriifolium, *Crataegus oxyacantha*, *Olea europaea*



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD HEPATOPROTECTORA



- Inducción hepatotoxicidad con alcohol, TCC4, paracetamol, faloidina
- Se miden transaminasas y sistema antioxidativo hepático.

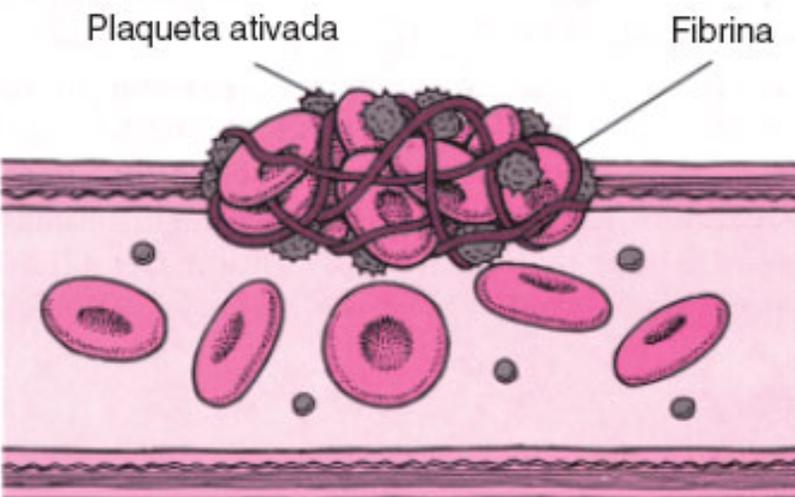
HEPATOPROTECTORES APROBADOS: *Allium sativum*, *Curcuma longa*, *Cynara scolymus*, *Ganoderma lucidum*, *Silybum marianum*, *Lentinus edodes*, *Schizandra sinensis*, *Picrorrhiza kurroa*, *Phyllanthus niruri*



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD ANTIAGREGANTE - ANTITROMBÓTICA

Formação do Coágulo



- Activación de plaquetas mediante: adrenalina, vasoprsina, ADP, FAP serotonina, trombina, elastina (generan 2dos. mensajeros que activan cascada Ác. Araquidónico → TROMBO y ADHES. PLAQ.

APROBADOS: *Allium sativum*, *Allium cepa*, *Ginkgo biloba*,
Tanacetum parthenium, *Salix alba*.



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD HIPOLIPEMIANTE



- Alimentar ratas x 3-6 meses con dieta hipergrasa (a los 6 meses puede ya medirse índice aterogénico).
- También por inyección i.p. de Tritón en dosis de 400 mg/kg.
- Medir malonil-aldehído (metabolito del Acido araquidónico aumentado en aterogénesis o adhesión plaquetaria)

APROBADOS: *Allium sativum*, *Commiphora mukul*, *Curcuma longa*, *Solanum melongena*, *Thea sinensis*, *Linum usitatissimum*



ASOCIACION ARGENTINA DE FITOMEDICINA

Test para Actividad Antiinflamatoria

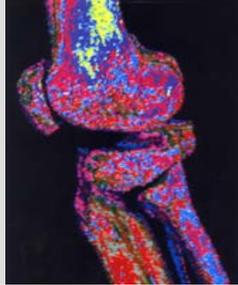
- Edema en pata de rata (carragenina – capsaicina – dextrán - caolín)
- Edema en oreja de rata o ratón (aceite de crotón – TPA = acetato de tridecanoil-forbol)



Ratas albinas



ASOCIACION ARGENTINA DE FITOMEDICINA



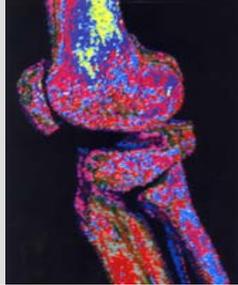
Test para Actividad Antiinflamatoria

- ARTRITIS inducida por inyección de cepas muertas de *Mycobacterium tuberculosis*.
- Al 0,5% en parafina líquida, vía intradérmica en la pata trasera de ratas (0,05 ml) ó ratones (0,025 ml).
- El extracto de la planta a estudiar (100 mg/kg) se da por vía oral ó i.p. en suspensión de goma arábiga u otro vehículo.





ASOCIACION ARGENTINA DE FITOMEDICINA



Test para Actividad Analgésica

• Test de contorsiones en ratones, por ácido acético (1-3%; vía i.p.) o benzoquinona (0,2 mg/ml, i.p.).

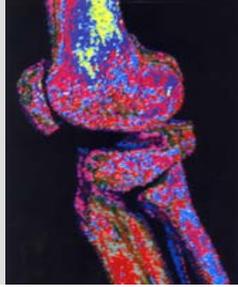
• Test de latigazos en cola de ratas adultas. Se coloca la cola en agua caliente (55-58°C) y luego se somete a radiación calórica reiterada

• Test del plato caliente (hot plate). Se coloca el ratón (adulto) en un plato caliente (50-58°C).

El uso de Naloxona (antagonista opiáceo) determina si la actividad analgésica es de tipo narcótica o no.



ASOCIACION ARGENTINA DE FITOMEDICINA



Pruebas adicionales

- **Actividad antioxidante** (los radicales libres incrementan el foco inflamatorio)
- **Inhibición del complemento** (relacionado con algunos procesos autoinmunes de tipo inflamatorio)



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

AINES APROBADOS: *Ananas sativus, Arnica montana, Curcuma longa, Harpagophytum procumbens, Boswellia serrata, Salix alba, Filipendula ulmaria, Oenothera biennis, Populus tremula, Persea americana, Tabebuia impetiginosa, Uncaria tomentosa, Urtica dioica.*

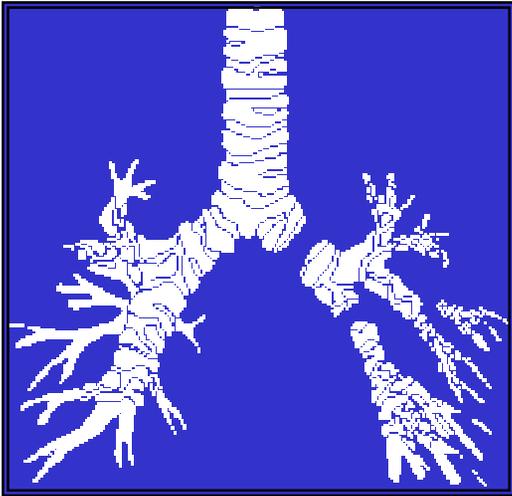
ANALGÉSICOS APROBADOS:

Arnica montana, Capsicum annuum, Boswellia serrata, Papaver somniferum, Salix alba, Syzgium aromaticum.



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD ANTIASMÁTICA



- Músculo liso bronquial aislado o tráquea aislada.
- Se busca actividad (-) frente a agonistas beta-adrenérgicos, PAF y leucotrienos.
- (-) 5-LOX = reduce formación de leucotrienos pro-inflamatorios (LTB-4) y espasmogénicos (LTC-4, LTD-4, LTE-4)
- Para evaluar un agonista Beta-2 se trabaja el extracto + beta-bloq (propranolol, timolol)



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD ANTIASMÁTICA

ANTIASMÁTICOS APROBADOS:

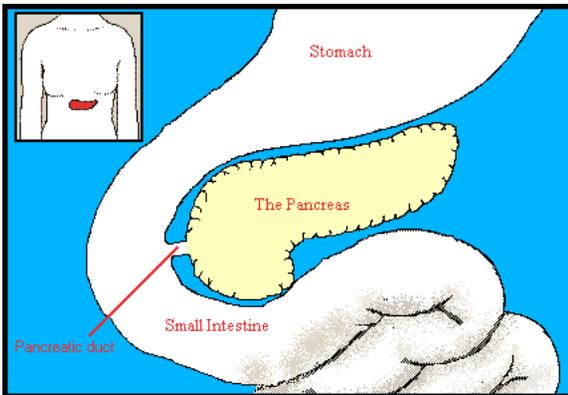
Ammi viznaga (Cromoglicato disódico),
Ephedra sinica, *Cecropia pachystachya*,
Adathoda vassica, *Lobelia inflata*.





ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE

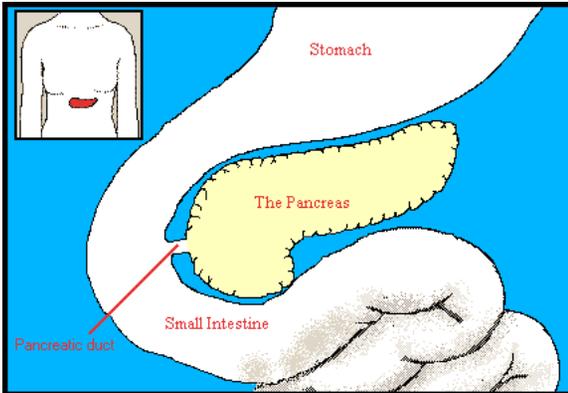


- Diabetes experimental (alloxano, estreptozotocina, vías i.p.).
- Ratas, ratones, conejos y perros.
- Con animales normo o hiperglucémicos
- Producen diabetes a los 4-7 días.
- Necrosis células beta.
- Control: tolbutamida y clorpropamida



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE



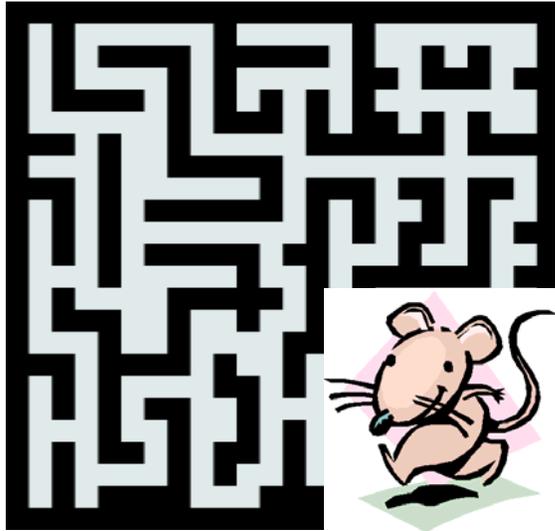
HIPOGLUCEMIANTES PROBADOS

Allium sativum, *Allium cepa*, *Baccharis genisteloides*, *Phyllanthus sellowianus*, *Bahuinia candicans*, *Ficus carica*, *Lagerstroemia spp*, *Cissus sycioides*, *Momordica charantia*, *Galega officinalis* (metformina), *Opuntia ficus indica*, *Trigonella foenum-graecum*, etc



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD HIPNOSEDANTE



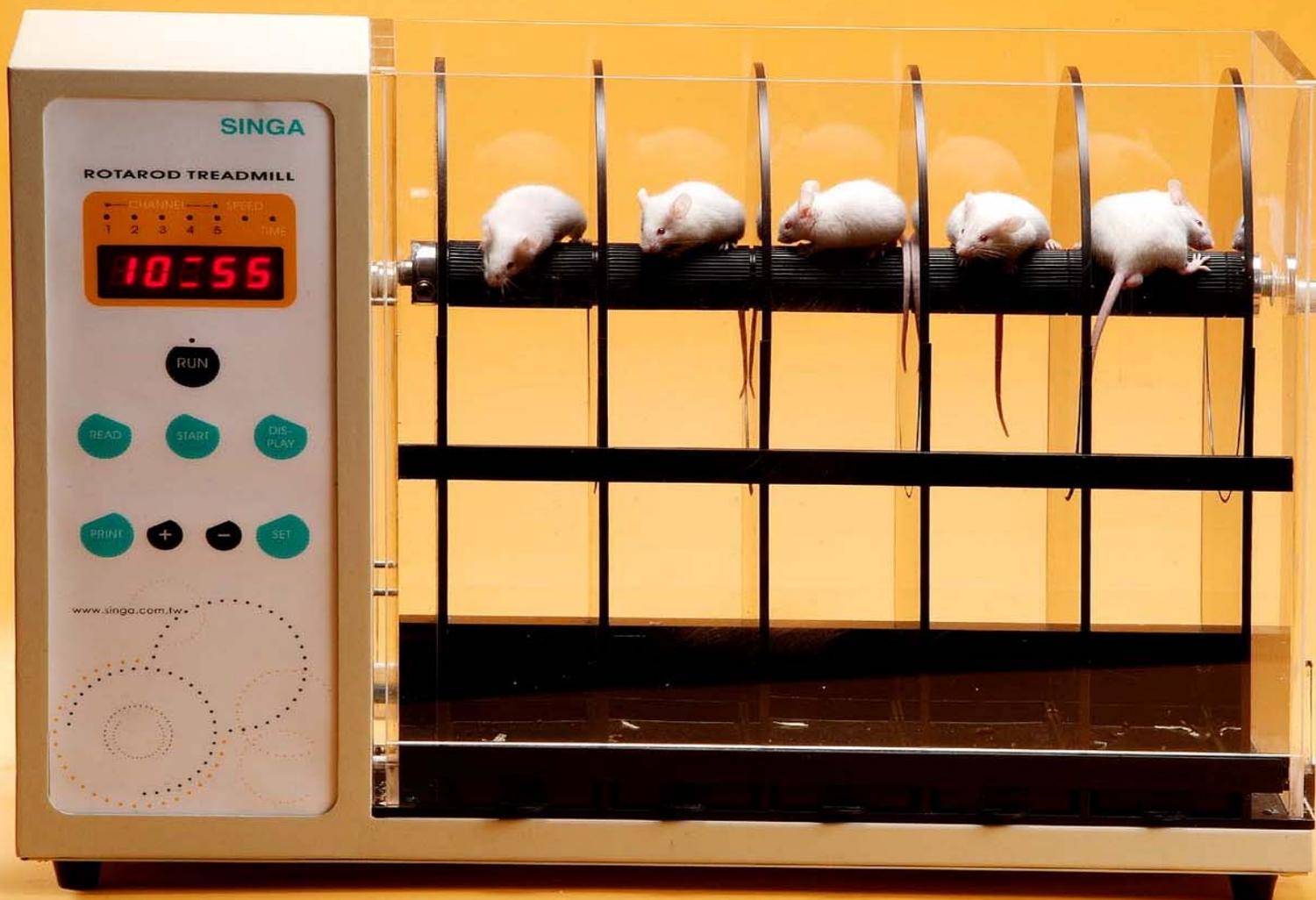
- Incremento del sueño barbitúrico (pentobarbital o hexobarbital a razón de 55 mg/kg y 35 mg/kg, respect).
- Pruebas de coordinación motora
- Pruebas de sumergimiento
- Prueba del laberinto

ACTIVIDAD ANTICONVULSIVANTE

- Inducción de convulsiones por administración de Pentetrazol (80-120 mg/kg) vía i.p.



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

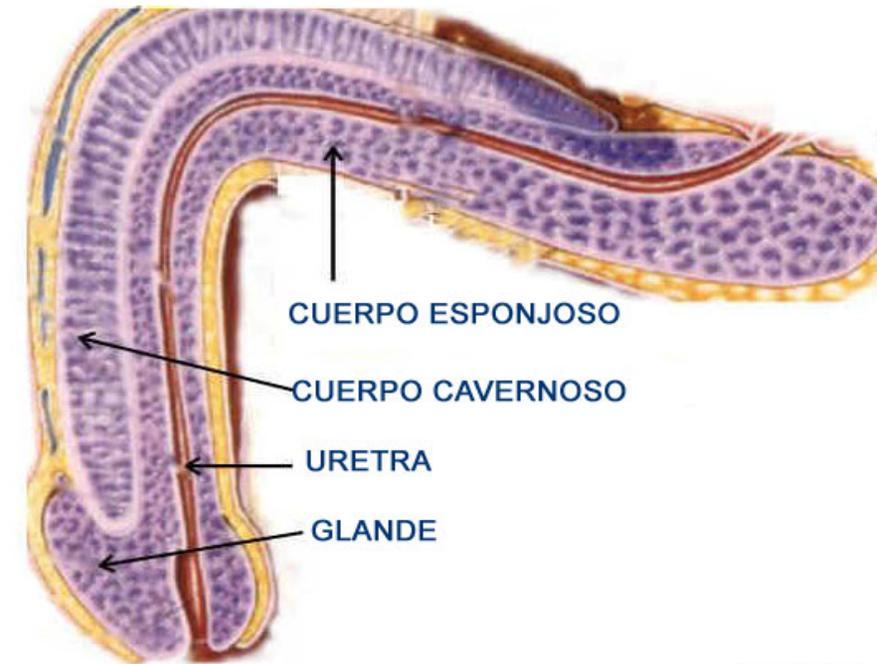




ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOMEDICINA

ACTIVIDAD AFRODISÍACA

- (+) Cuerpos cavernosos por liberación de O.N.
- > n° de cópulas en ratas macho



(c)Ionenet S.A.

