Museo de Farmacobotánica "Juan A. Domínguez" Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad de Buenos Aires



Urtica dioica L. -Urticaceae-

Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad de Buenos Aires Propietario Museo de Farmacobotánica "Juan Aníbal Domínguez"



Director Responsable:

Dr. Alberto Ángel Gurni

Comisión Redactora:

Farm. Carlos Agosto Dr. Arnaldo L. Bandoni Dr. Gustavo C. Giberti Dr. Alberto A. Gurni Dr. Marcelo L. Wagner

Comisión Científica Asesora:

Dr. Aníbal Amat (Universidad Nacional de Misiones, Argentina)

Dr. Pastor Arenas (Instituto de Botánica Darwinion, Argentina)

Dr. Néstor Caffini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

Dra. María T. Camargo (Universidad de San Pablo, Brasil)

Dr. Rodolfo Campos (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Di. Nodolio Campos (Oniversidad de Edenos Alies, Argentina)

Dr. Salvador Cañigueral Folcará (Universidad de Barcelona, España)

Dr. Ramón A. de Torres (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Dr. José Luis López (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Dr. Eloy Mandrile (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

Dra. Marta Nájera (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

Dr. Rafael A. Ricco (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Dr. Lionel G. Robineau (Universidad de las Antillas y de la Guyana)

Dr. Rubén V. Rondina (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Dr. Otmaro Rosés (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Dra. Etile Spegazzini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

Dr. Carlos Taira (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Dra. María L. Tomaro (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Dra. E. C. Villaamil (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Editor Científico:

Dr. Marcelo Luis Wagner

Editora Asociada:

María Cristina Ratto de Sala

Edición patrocinada por la Secretaría de Extensión Universitaria de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA) y financiada por la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires

Dominguezia se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines.

This publication is sent to individuals or institutions by exchange with similar ones, devoted to Pharmacobotany or related subjects.

Lámina de Tapa: Urtica dioica L. –Urticaceae–

Lámina extraída de *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz*, Otto Wilhelm Thomé (1885) Gera, Germany

Incluida en el Directorio de LATINDEX
por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT - CONICET)
con el número de Folio 2787 Dominguezia,
y en Electronic Sites of Leading Botany, Plant Biology and Science Journals.
Providing links to the world's electronic journals.

Registro de la Propiedad Intelectual N° 611947.

Se terminó de editar en julio de 2010.



Vol. 26(1) - 2010

Índice de contenido

sobre plagas de granos almacenados	5
El aceite esencial de <i>Hedeoma multiflora</i> Benth. (Lamiaceae) de poblaciones naturales en la provincia de San Luis, Argentina. Estudio comparativo	13
Actividad analgésica de dos especies de <i>Urtica</i> con usos etnomédicos en la República Argentina	21
Argentine Medicinal Plants with Potential Antifungal Activity (Plantas medicinales argentinas con potencial actividad antifúngica)	31
Preparación y envío de imágenes digitales a una publicación científica	41



Vol. 26(1) - 2010

Index

Picrasma crenata Vell.: Its action by contact, feed and as a regulator of growth on three stored grain pests	F
Silvia M. Rodríguez, Paola I. Carrizo, Marisa Regonat, Paulina Hendrich, Guillermo Heit, Adolfo M. Márquez, Marcelo L. Wagner and Alberto Gurni	
Essential oils of <i>Hedeoma multiflora</i> Benth. (Lamiaceae) from natural populations of San Luis province, Argentina. A comparative study	13
Analgesic activity of two <i>Urtica</i> species with ethnomedical uses in Argentina	21
Argentine medicinal plants with potential antifungal activity	31
Digital image preparation for submission to a scientific publication	41

Picrasma crenata Vell.: su acción por contacto, ingesta y como regulador de crecimiento sobre plagas de granos almacenados

Silvia M. Rodríguez^{1*}, Paola I. Carrizo¹, Marisa Regonat¹, Paulina Hendrich¹, Guillermo Heit¹, Adolfo M. Márquez², Marcelo L. Wagner² y Alberto A. Gurni²

- ¹ Cátedra de Zoología Agrícola. Departamento de Producción Vegetal. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453 (1417). Buenos Aires. República Argentina.
- ² Cátedra de Farmacobotánica. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 4º piso (1113). Buenos Aires. República Argentina.
- * Autor a quien dirigir la correspondencia: silro@agro.uba.ar

Resumen

En condiciones controladas de laboratorio se evaluó el efecto de los extractos de acetato de etilo, acetona y etanol de *Picrasma crenata* (palo amargo) en la mortalidad por contacto en adultos de *Sitophilus oryzae* (L.), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) y *Tribolium castaneum* (Herbst), mediante topicación en el abdomen. En *T. castaneum* se midió además, el efecto por alimentación producido por dos dosis diferentes, en la mortalidad de los adultos y en la duración de los estados inmaduros. Para estos últimos se consideró el efecto de los reguladores del crecimiento Linurón y Novalurón como base de comparación. Las observaciones para mortalidad se consideraron hasta los 30 días desde el tratamiento. Las pruebas por alimentación fueron realizadas mezclando los extractos en polvo con la dieta base. Los resultados fueron analizados mediante análisis de varianza. La mortalidad acumulada por contacto en adultos de *S. oryzae*, fue de 50% para los extractos de acetato de etilo y acetona, sin efecto significativo por ninguno de los extractos en las otras dos especies. La mortalidad acumulada por alimentación con dieta y extractos sobre adultos de *T. castaneum* fue de 90% para la dosis más alta del extracto de acetato de etilo. La duración de sus etapas inmaduras fue afectada de modo significativo por todos los extractos, y el efecto del de acetato de etilo fue el más eficaz y semejante al producido por los reguladores de crecimiento.

Picrasma crenata Vell.: Its action by contact, feed and as a regulator of growth on three stored grain pests

Summary

The mortality produced by contact of extracts of ethyl acetate, acetone and ethanol, obtained from *Picrasma crenata* (bitter stick), on *Sitophilus oryzae* (L.), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) adults, by means of topic apply on their abdominal sternum was evaluated in a controlled environment. For *T. castaneum*, was also measured the effect by feed of two different doses of the same extracts, considering mortality on adults and disturbing on immature development. We expected to compare them with those

Palabras clave: *Picrasma crenata - Sitophilus oryzae - Oryzaephilus surinamensis - Tribolium castaneum -* Lufenurón y Novalurón. **Key words:** *Picrasma crenata - Sitophilus oryzae - Oryzaephilus surinamensis - Tribolium castaneum -* Lufenuron and Novaluron.

disturbing produced by both growth regulators, Novaluron and Lufenuron. Data collection for mortality were performed up to thirty days since the beginning. Feed tests by adding the extracts (powder) to diet have been performed. All results have been analyzed by means of variance analysis. Mortality for contact tests in the last day were 50% for *S. oryzae* adults treated with ethyl acetate and acetone extracts, with almost negligible effects for all extracts on the other species. Accumulated mortality produced on *T. castaneum* adults, considering the highest doses in feed assays, were 90% for ethanol extract, 70% for acetone extract, and 40% for ethyl acetate extract. Immature stages were shorter for all extracts but ethyl acetate best mirrored the effect of growth regulators.

Introducción

Una quinta parte de la producción mundial anual de granos es dañada durante su almacenaje por insectos y enfermedades (Bergvinson y García Lara, 2004) que ocasionan pérdidas físicas y disminuyen su calidad; desmejoran su aspecto, olor, color o sabor y, en consecuencia, los tornan inaceptables para el consumo (Saini y Rodríguez, 2004). Además, elevan la temperatura del grano, diseminan esporas de hongos y dañan el material de empaque y las estructuras de las bodegas (García y Donadei, 2004). La mayor parte de estas pérdidas son producidas por Coleópteros (Hinton, 1945), en forma de plagas de infestación primaria (Sitophilus oryzae L., Coleoptera: Curculionidae) o secundaria (Tribolium castaneum Herbst, Coleoptera: Tenebrionidae y Oryzaephilus surinamensis (L), Coleoptera: Silvanidae).

El control convencional consiste en la limpieza y la desinfección de las instalaciones (acopio, transporte y envases). Los tratamientos preventivos o protectores, con aplicación de plaguicidas residuales, son eficaces en ausencia de ataque o con daño mínimo, mientras que los tratamientos curativos se aplican ante la presencia evidente de la plaga. Ambos controlan la infestación rápidamente, pero no protegen contra la reinfestación (Yanucci y col., 2001). El abuso de productos químicos puede generar resistencia y resurgencia de las plagas, contaminar el ambiente e intoxicar a los consumidores (Alonso y col., 1996), como el bromuro de metilo que puede dejar residuos de bromo tóxico, aun después de la ventilación.

Los insecticidas naturales u orgánicos, a base de extractos de plantas, se presentan como una alternativa más compatible con todas las formas de vida. Provienen de los metabolitos secundarios, inicialmente considerados productos de deshecho, cuando

se desconocía su función específica (Salisbury y Ross, 1991). Hoy se conoce su papel ecológico, que le confiere una ventaja adaptativa a las plantas; estos *aleloquímicos* son responsables de los mecanismos de defensa frente a la herbivoría, actúan como reserva, facilitan la polinización o impiden la germinación de semillas de su propia especie o de otras (Hedin, 1982; Turk y Tawaha, 2003). Esta función alelopática ha sido atribuida a flavonoides, alcaloides, fenoles, terpenos, compuestos nitrogenados y poliacetilenos (Withaker y Feeny, 1971; Panizzi y Parra, 1991).

Los terpenos son funcionalmente diversos, tienen acción hormonal (giberelinas y ácido abcísico), estructural (fitoesteroles) y fotosintética (carotenoides) (Theis, 2003). Los mono y sesquiterpenos causan neurotoxicidad en los insectos, actúan en la inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa (García y Donadei, 2004). Los triterpenos tienen efecto tóxico cuando se aplican por topicación sobre la cutícula de los insectos (Tripathi y col., 2003; Pungitore, 2005). Asimismo, los sesquiterpenos pueden presentar una estructura acíclica o mono, bi-, tri- y tetracíclica. Los acíclicos como el metil farnesoato presentan una estructura similar a la hormona juvenil de los insectos que regula la metamorfosis y la reproducción (Hornby y col., 2001).

Se comprobó asimismo, la acción por ingesta sobre *T. castaneum* de los monoterpenos eucaliptol y limoneno (Prates y Santos, 1998). Los aceites esenciales de las hojas de *Eucaliptus saligna* Sm. (Myrtaceae) y *Cupressus sempervirens* L. (Cupressaceae) sobre *Sitophilus zeamais* y *Tribolium confusum* redujeron la progenie F1 y la pérdida del peso del grano (Tapondjou y col., 2005). El aceite esencial extraído de *Evodia rutaecarpa* Hook f. et Thomas (Rutaceae) redujo el ritmo de crecimiento de larvas de *T. castaneum*, y adultos de *S. zeamais*, por la disuasión de su alimentación (Liu y Ho, 1999).

La mayoría de los compuestos probados con fines de protección vegetal exhiben un efecto insectistático, perturban el desarrollo normal de los insectos, mientras que unos pocos tienen efecto insecticida (piretrinas, nicotina y rotenona). Estos compuestos naturales son principalmente repelentes, disuasivos de la alimentación u oviposición, y reguladores del crecimiento; por lo tanto, su acción sería más preventiva que curativa (García y Donadei, 2004).

Las Simaroubaceae presentan sustancias amargas en los diferentes órganos, con propiedades medicinales y acción insecticida (Koike y Ohmoto, 1988; Krebs y col., 2001). Se han aislado alrededor de 48 alcaloides y 12 quasinoides, algunos con actividad antifúngica (Ishii y col., 1991). *P. crenata* (Vell.) Eng., que habita a la vera de los cursos de agua en los bosques de la provincia de Misiones, en la Argentina (Spegazzini, 1917; Vitagliano y Comin, 1971), está estrechamente emparentado con otras Simaroubaceae más estudiadas, como *Picrasma excelsa* Planch. y *Quassia amara* L. (Mambelli y col., 1994), y cuyos extractos han sido probados para el control de *S. granarius*, *T. confusum* y *Trogoderma granarium* (Szafranski y col., 1993).

El leño de *P. crenata* se usa en la Argentina en la terapia de la pediculosis y de problemas intestinales; por otra parte, se están estudiando sus propiedades antivirales. Contiene sesquiterpenos, como quasina, neoquasina y picrasmina (cuasinoides), potencial como insecticida natural (Márquez y col., 1999).

El objetivo de estas experiencias fue observar la acción de extractos de *P. crenata* por contacto, por ingesta y, como regulador de crecimiento sobre las plagas de granos almacenados.

Materiales y métodos

Insectos

Los individuos correspondieron a cohortes homogéneas de cepas de la Cátedra de Zoología Agrícola de la Facultad de Agronomía (UBA), criadas en recipientes de vidrio y en condiciones controladas de temperatura (28 °C ± 1 °C) y humedad relativa (60%). *T. castaneum* y *O. surinamensis* fueron alimentadas con harina de trigo 000, almidón de maíz y levadura (10:10:1,5) (dieta base) y, *S. oryzae*, con granos de trigo enteros.

Material vegetal

El leño de *P. crenata* fue provisto por la empresa "Platario S. A.", proveniente de plantaciones comerciales en Apóstol (Pcia. de Misiones). En el Museo de Farmacobotánica "Juan A. Domínguez" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA) -Colección BAF de drogas vegetales- se encuentra depositada una muestra del material

Obtención de los extractos

Se tomaron 100 g de "palo amargo" finamente molido y se realizaron maceraciones sucesivas con éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo, acetona, metanol y etanol. Se dejaron macerar con cada solvente, en 200 ml durante 48 h, en dos extracciones sucesivas que posteriormente fueron reunidas (volumen total 400 ml) y ese volumen se llevó a sequedad con evaporador rotatorio. Como adsorbente se agregó 2 g de manitol. En este trabajo se emplearon las fracciones correspondientes al acetato de etilo, acetona y etanol (Figura 1).

Figura 1.- Obtención de los extractos









Control de calidad

Para determinar la presencia de cuasinoides en los extractos se realizaron cromatografías líquidas de alta resolución (HPLC), utilizando columna LiChroCart 250-4 RP-18 (5 ml); la fase móvil fue ácido ortofosfórico 0,02 molar-metanolacetonitrilo (50:35:15) y la detección se realizó a 257 nm en un espectrofotómetro UV/visible (Robins y Rhodes, 1984). El tiempo de retención

de la cuasina fue de 15 min y de la neocuasina, 20 min.

Bioensayo

Experiencia 1. Mortalidad de individuos adultos de T. castaneum por la ingesta de extractos de P. crenata

La unidad experimental fue el frasco de vidrio de 3 cm de diámetro por 5 cm de altura en un diseño completamente al azar con 5 repeticiones por tratamiento (n = 5 con 10 individuos c/u) donde cada individuo correspondió a un adulto. Los frascos fueron mantenidos en las condiciones ambientales de la cría y se colocaron 2 g de dieta base y la dosis del extracto (polvo) en cada uno. Tratamientos: T_0 testigo (dieta base), T_1 extracto de acetato de etilo 0,20 g, T_3 extracto de acetona 0,15 g, T_4 extracto de acetona 0,20 g, T_5 extracto de etanol 0,15 g, T_6 extracto de etanol 0,20 g.

Se registró la mortalidad en 10 observaciones; la primera, a las 24 horas y las restantes, a intervalos fijos de 3 días. El análisis estadístico fue separado por extracto, mediante ANOVA de 2 vías (dosis y momento de observación) y Tukey ($\alpha = 0.05$) (Figura 2).

Experiencia 2. Duración de los estados juveniles de *T. castaneum*, por efecto de los extractos de *P. crenata* sobre la ingesta y su relación con los reguladores de crecimiento

La unidad experimental fue el frasco de vidrio de 3 cm de diámetro por 5 cm de altura en un diseño completamente al azar con 10 repeticiones por tratamiento (n = 10 con 1 individuo c/u) y cada individuo correspondió a una larva neonata. Los frascos fueron mantenidos en las condiciones ambientales de la cría y, se colocaron 2 g de dieta base y la dosis del extracto (polvo) en cada uno. Los tratamientos fueron: T₀ testigo (dieta base), T₁ extracto de acetato de etilo 0,15 g, T₂ extracto de acetato de etilo 0,20 g, T₃ extracto de acetano 0,15 g, T₄ extracto de acetona 0,20 g, T₅ extracto de etanol 0,15 g, T₆ extracto de etanol 0,20 g, T₇ Novalurón (10 % EC) 1cm³/l.

Se registró en días la duración de los estados: larval y pupal, a intervalos de 4 días, hasta que las larvas del testigo alcanzaron el estado adulto. El análisis estadístico fue separado por estado, mediante la prueba no paramétrica de Kuskal Wallis ($\alpha = 0.05$) y comparación de rangos a posteriori.

Figura 2.- Ensayo de ingesta



Experiencia 3. Mortalidad por topicación de los adultos de *T. castaneum*, *S. oryzae* y *O. surinamensis* con los extractos de *P. crenata*

La unidad experimental fue la caja de petri de 90 mm de diámetro, con un papel de filtro en la base, en un diseño al azar con 5 repeticiones por tratamiento (n = 5 con 10 individuos) donde cada individuo correspondió a un adulto.

Se efectuó una aplicación tópica sobre la región ventral de los últimos urosternitos, con 0,4 μl de cada una de las diluciones, mediante una microjeringa Hamilton de 10,0 μl. Los tratamientos fueron: T₀ testigo, T₁ extracto de acetato de etilo: 0,30 g/ml, T₂ extracto de acetona: 0,25 g/ml, T₃ extracto de etanol: 0,30 g/ml. Las concentraciones fueron seleccionadas a partir de experiencias previas (Rodríguez y col., 2008) (Figura 3).

Se registró la mortalidad; se realizaron, la primera observación a los 30 min, la segunda, a las 6 horas y las siguientes, a intervalos de 6 horas hasta completar 48 horas. El análisis estadístico fue llevado a cabo en forma separada para cada especie de insecto. Para ello, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis ($\alpha = 0.05$) y comparación de rangos a posteriori, para cada momento de observación.

Figura 3.- Ensayo de topicación





Resultados y discusión

Experiencia 1. Mortalidad de individuos adultos de *T. castaneum* por la ingesta de extractos de *P. crenata*

Extracto de etanol

Se obtuvieron diferencias significativas respecto del testigo, pero no entre las dosis 1 y 2, que produjeron una mortalidad acumulada de 70% y 90%, respectivamente (Gráfico 1).

Extracto de acetato de etilo

Se obtuvieron diferencias significativas solo entre el testigo y las dosis, aunque no entre ellas. Las dosis 1 y 2 alcanzaron una mortalidad acumulada de 30 y 40%, respectivamente (Gráfico 2).

Extracto de acetona

Se obtuvieron diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento y, a partir del sexto día, la mortalidad acumulada para la dosis 1 (40%) y la dosis 2 (70%) se hallaron solapadas con el testigo (Gráfico 3).

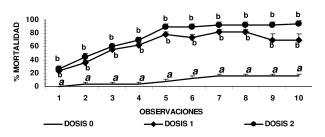
De los tres extractos probados el etanol fue el más eficiente, seguido por el extracto de acetona y de acetato de etilo; sin embargo, en general produjeron una mortalidad relativamente baja para ser empleados comercialmente. Podrían contribuir a incrementar el efecto de un insecticida convencional aplicado a una dosis inferior a la regular de marbete; en consecuencia, se reduciría de modo indirecto la contaminación por residuos.

Experiencia 2. Duración de los estados juveniles de *T. castaneum*, por efecto de los extractos de *P. crenata* sobre la ingesta y su relación con los reguladores de crecimiento

Los ensayos tuvieron como protagonista principal a *T. castaneum*, no solo por su importancia económica sino por su carácter de plaga de infestación secundaria. Ello implica que ataca granos quebrados y productos de la molienda y, de tal modo, está expuesto durante todas las etapas de su desarrollo. Por el contrario, *S. oryzae* es una plaga de infestación primaria, cumple todo su ciclo hasta adulto en el interior del grano; por consiguiente, no hay posibilidad de acceder a sus etapas inmaduras mediante un tratamiento (Saini y Rodríguez, 2004). Por esa razón, esta especie fue excluida de los ensayos con reguladores.

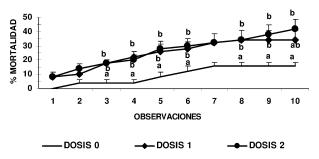
En la duración del período larval se obtuvieron diferencias significativas para la acción de los

Gráfico 1.- Mortalidad de los adultos de *T. castaneum* por los extractos de etanol de *P. crenata*



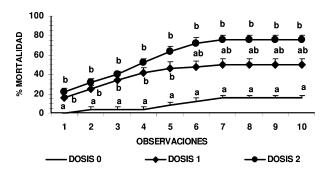
Letras diferentes implican diferencias significativas, para la prueba de comparación de Tukey. Las barras corresponden al error estándar.

Gráfico 2.- Mortalidad de los adultos de *T. castaneum* por los extractos de acetato de etilo de *P. crenata*



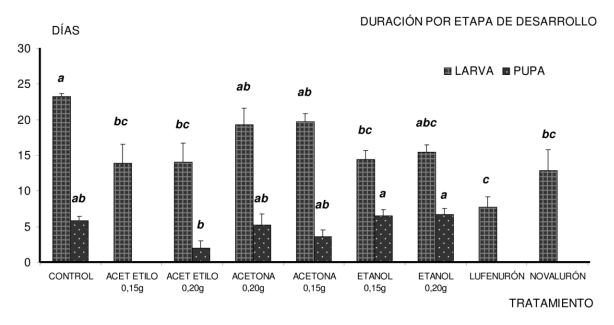
Letras diferentes implican diferencias significativas, para la prueba de comparación de Tukey. Las barras señalan el error estándar.

Gráfico 3.- Mortalidad de los adultos de *T. castaneum* por los extractos de acetona de *P. crenata*. Efecto de los extractos de acetona sobre los adultos



Letras diferentes implican diferencias significativas, para la prueba de comparación de Tukey. Las barras señalan el error estándar.

Gráfico 4.- Duración del período larval y pupal de *T. castaneum* en relación con el efecto de los reguladores de crecimiento, Lufenurón y Novalurón



Letras diferentes implican diferencias significativas para la prueba a posteriori, dentro de cada estado ($\alpha = 0.05$). Las barras señalan el error estándar.

extractos respecto al control; la respuesta varió según los extractos y las dosis. En el gráfico 4 se aprecia que el efecto fue comparable aunque no equivalente al de los reguladores de crecimiento, en los cuales las larvas no completaron el desarrollo pupal (en consecuencia, no se tienen datos). La mejor respuesta se observó para el extracto de acetato de etilo (ambas dosis).

En el mismo gráfico se observa que los individuos del tratamiento con extracto de acetato de etilo a una dosis inferior no pudieron completar su desarrollo larval y, en cambio, para la dosis superior, se obtuvieron pupas. La duración de la etapa fue la menor de todos los extractos y dosis, y fue la que estuvo más próxima al resultado de los reguladores comerciales.

Experiencia 3. Mortalidad por topicación de los adultos de S. oryzae, T. castaneum y O. surinamensis con los extractos de P. crenata

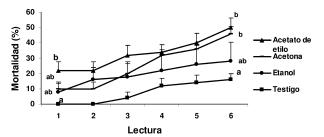
Para *S. oryzae*, en la primera observación se obtuvieron diferencias significativas en la mortalidad producida por el extracto de acetato de etilo respecto al testigo. Para la última observación, se obtuvieron diferencias para el mismo extracto, su resultado (cercano al 50%) no se diferenció del obtenido para

el extracto de acetona. La mortalidad acumulada no fue diferente entre el extracto de etanol y el testigo (Gráfico 5). En el caso de *T. castaneum* y *O. surinamensis*, la mortalidad acumulada no fue significativamente diferente para ninguno de los extractos, entre sí o respecto al testigo (Gráficos 6 y 7). Rodríguez y col. (2008) demostraron el alto efecto de los extractos de acetato de etilo y acetona al actuar por contacto sobre *S. oryzae*, por medio del método del film. En esta experiencia, con dosis bajas del extracto de acetato de etilo se observó el poder de volteo y la alta mortalidad producida por ambos extractos.

Todos los extractos de *P. crenata* probados sobre *T. castaneum* no produjeron una mortalidad significativa, aunque según Pungitore y col., (2005) los triterpenos evaluados sobre *T. castaneum* actuaron como tóxicos agudos cuando se aplicaron por topicación.

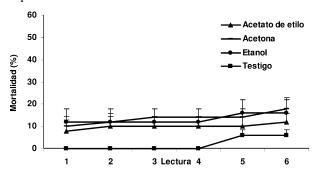
Por otro lado, Liu y Ho (1999) observaron la actividad de los aceites esenciales de *Evodia rutacaerpa* aplicados por topicación sobre adultos de *S. zeamais* y *T. castaneum*. *S. zeamais* fue más susceptible que *T. castaneum*; estos resultados coinciden con los resultados expresados en este trabajo con relación al efecto de *P. crenata* sobre cada

Gráfico 5.- Mortalidad de *S. oryzae* por efecto de la topicación con extractos de *P. crenata*



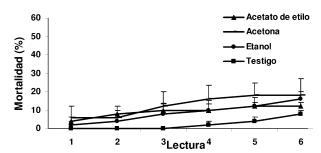
Letras diferentes implican diferencias significativas para la prueba a posteriori, en cada fecha (α = 0,05). Las barras señalan el error estándar.

Gráfico 6.- Mortalidad de *T. castaneum* por efecto de la topicación con extractos de *P. crenata*



Letras diferentes implican diferencias significativas para la prueba a posteriori, dentro de fecha ($\alpha = 0.05$). Las barras señalan el error estándar.

Gráfico 7.- Mortalidad de *O. surinamensis* por efecto de la topicación con extractos de *P. crenata*



Letras diferentes implican diferencias significativas para la prueba de rangos, dentro de fecha ($\alpha = 0.05$). Las barras señalan el error estándar.

una de las especies en estudio. La especie del género *Sitophilus* tuvo mayor respuesta al producto que *O. surinamensis* y *T. castaneum*.

Conclusiones

En las experiencias donde se observó la acción de los extractos de *P. crenata* por ingesta, se evidenció el efecto del extracto de etanol sobre los adultos de *T. castaneum, que* produjeron una alta mortalidad. Asimismo, se observó su efecto sobre los períodos larval y pupal; en el primer caso se alarga, y su comportamiento podría ser similar al de los reguladores de crecimiento. En el estado pupal la mortalidad fue alta, y se manifestó a través del número de individuos que llegan a adulto. La acción por contacto de los extractos de "palo amargo" fue escasa.

Referencias bibliográficas

Alonso, A.; Calderini, D.F.; Cantamutto, M.A.;
Carmona, M.; Chiara, G; Di Nápoli, M.; Duarte,
G; Estenssoro, M.; Fraschina, J.; Gallez, E.L.; Gallo Candolo, E.G.; Montaner, J.G.; Grosse, R.;
Maluf, J.E.L.; Lamédica, C.; Leaden, M.; Maddoni,
G.A.; Peck, R.M.; Miralles, D. J.; Miravalles, M.T.;
Mockel, F.; Nisi, J.; Vila, J.M.O.; Permingeat, O.;
Pozzi, R.; Santamarina, A.; Savin, R.; Slafer, G.A.;
Tombetta, E. y Zorraquín, T. (1996). Cuadernillo de Actualización Técnica Nº 56, Área de comunicaciones AACREA, 10: 87/89.

Bergvinson, D. and García Lara, S. (2004). "Genetic approaches to reducing losses of stored grain to insects and diseases". *Current Opinion in Plant Biology* 7(4): 480-485.

García, M. and Donadei, O. (2004). "Toxic and repellent effects of *Baccharis salicifolia* essential oil on *Tribolium castaneum*". *Pest management science* 61(6): 612-618.

Hedin, P.A. (1982). "New concept and Trends in Pesticide". *Chemistry Journal of Agriculture and Food Chemistry* 30(2): 201-215.

Hornby, J. M.; Jensen, E,C.; Lisec, A.D.; Tasto,J.J.; Jahnke, B; Shoemaker,R.; Dussault, P. and Nickerson, K.W. (2001). "Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by farnesol". *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 2982-2992.

- Ishii, K.; Koike, K. and Ohmoto, T. (1999). "Javanicinosides D-H, Quassinoid glucosides from *Picrasma javanica*". *Phytochemistry* 30(12): 4099-4103.
- Krebs, H.C.; Schilling, P.J.; Wartchow, R. and Bolte, M. (2001). "Quassinoids and other Constituents from *Picrasma crenata*". Z. Naturforsch. 56b: 315-318.
- Koike, K. and Ohmoto, T. (1988). "Picrasidine-U, Dimeric alkaloid from *Picrasma quassioides*". *Phytochemistry* 27(9): 3029-3030.
- Liu, Z.L and Ho, S.H. (1999). "Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* (Hook f. et Thomas) against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* (Motsch). and *Tribolium castaneum* (Herbst)". *Journal of Stored Products Research* 35(4): 317-328.
- Mambelli, P.; Marchini, B.; Bazzocchi, C.; Pari, P. e Tellarini, S. (1994). "El valutazioni preliminari sull'ottimizzazione delle modalitá d'uso del legno quassio (*Quassia amara* L.; *Picrasma excelsa* (Swz.) Lindl. Quale insectticida biológico". *El Atti Convegno Internazionale:* "Coltivazione el e miglioramento di piante officinali", Pari Ministerio Agrocultura e Foresta, Trento, Italia, 2-3 giugno.
- Márquez, A.; Borri, K.; Dobrecky, J.; Gurni, A.A. and Wagner, M.L. (1999). "New aspects in quality control of 'Palo Amargo' (*Aeschrium crenata* Vell. –Simaroubaceae–)". *Acta Hort*. 503: 111-115.
- Panizzi, A.R. y Parra J.R.P. (1991). "Ecología nutricional de insectos e suas implicacoes no manejo de pragas", Editora Manole LTDA, San Pablo, 316 pp.
- Pungitore, C. R.; García, C. R.; Gianello, J. C.; Tonn, C.E. and Sosa, M. E. (2005). "Lethal and sublethal effects of triterpenes from *Junellia aspera* (Verbenaceae) on the grain storage insect *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)". *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 64 (1-2): 45-51.
- Prates, H.T. and Santos, J.P. (1998). "Insecticidal Activity of Monoterpenes Against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst)". *Journal of Stored Products Research* 34(4): 243-249.
- Rodríguez, S.M; Moreira, M.I; Giménez, R.A.; Russo, S. y Wagner, M.L. (2008). "Respuesta del gorgojo del arroz Sitophilus oryzae 1.

- (Coleoptera, Curculionidae) a la aplicación de extractos de palo amargo (*Picrasma crenata* (Vell.) Engl. –Simaroubaceae–: Fracción acetato de etilo y acetona" *Dominguezia* 24(2): 95-101.
- Saini, E. y Rodríguez, S.M. (2004). "Insectos perjudiciales a los productos almacenados". *Publicación del Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola* Nº 7, INTA, Buenos Aires, 56 pp.
- Salisbury, F.B. y Ross, C.W. (1991). "Fisiología vegetal". Grupo Editorial Ibero América, Buenos Aires, 759 pp.
- Scneider-Orelli, O. (1947). "Entomologisches praktikum", H.R. Sauerlander, Aarau, Switzerland, 237 pp.
- Spegazzini, C. (1917). "Ramillete de plantas argentinas nuevas e interesantes". *Physis* 43(3): 173-174.
- Szafranski, F.; Bloszyk, E. and Drozdz, B. (1993). "Deterrent activity of African plant extracts against selected stored product insect pest". *Acta-Horticulturae* 331: 319-324.
- Tapondjou, A.L.; Adler, C.; Fontem, D.A.; Bouda H. and Reichmuth C. (2005). "Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium confusum*". *Journal of Stored Products Research* 41(1): 91-10.
- Theis, N. and Lerdau, M. (2003). "The evolution of function in plant seconday metabolites". *Int. J. Plant Sci.* 164(3): S93-S102.
- Tripathi, A.K., Prajapati, V.; Preet, S.; Khanuja, S. and Kumar, S. (2003). "Effect of d-limonene on three species of stored-product beetles". *J. Econ. Entomol.*, 96: 990-995.
- Turk, M.A. and Tawaha, A.M. (2003). "Allellopathic effect of black mustard (*Brassica nigra* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.)". Crop Protection 22: 673-677.
- Vitagliano, J.C. and Comin, J. (1971). "Quassinoids from *Aeschrion crenata*". *Phytochemistry* 11: 807-810.
- Withaker, R.H. and Feeney, P.P. (1971). "Allelochemicals: Chemical interaction between species". *Science* 171: 757-770.
- Yanucci, D.; Lazzari, F. y Coto, H. (2001). *Control Integrado. Insectos, ácaros, hongos y roedores en poscosecha de granos y semillas*. Granos y Postcosecha Latinoamericana. De la Semilla al Consumo. Buenos Aires, 214 pp.

El aceite esencial de *Hedeoma multiflora* Benth. (Lamiaceae) de poblaciones naturales en la provincia de San Luis, Argentina. Estudio comparativo

Catalina M. van Baren^{1*}, Sofía Sanguinetti¹, Paola Di Leo Lira¹, Arnaldo L. Bandoni¹, Miguel A. Juárez², Miguel A. Elechosa², Ana M. Molina², Elda A. Fernández³ y Eduardo Martínez³

- ¹ Cátedra de Farmacognosia-IQUIMEFA (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956, 2º piso (1113) Buenos Aires, Argentina.
- ² Instituto de Recursos Biológicos, Centro Investigación de Recursos Naturales, INTA-Castelar. Las Cabañas y Los Reseros s/nº (1686) Hurlingham, Prov. de Buenos Aires, Argentina.
- ³ Área Ecología, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis. Ejército de los Andes 950, (5700) San Luis, Argentina.
- * Autor a quien dirigir corresponencia: cbaren@ffyb.uba.ar

Resumen

Hedeoma multiflora Benth. (Lamiaceae) es una especie medicinal y aromática que crece en las serranías de San Luis y, en menor cantidad, en las sierras de Córdoba. Debido a que es una especie de tamaño pequeño y que su distribución está confinada a condiciones ambientales especiales, su subsistencia se encuentra amenazada en toda el área natural de ocurrencia por la excesiva e inadecuada extracción. Con el objeto de abordar la introducción del cultivo de la especie se realizó una evaluación de distintos materiales para establecer los más apropiados en lo que concierne al rendimiento y la calidad de aceite esencial. Se colectaron muestras de las partes aéreas en distintas etapas de floración en siete poblaciones silvestres de la provincia de San Luis. Los aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación se analizaron por GC-FID-MS. Los componentes más abundantes fueron identificados como pulegona, mentona e isomentona. Los datos obtenidos de la composición de los aceites esenciales de las distintas poblaciones fueron estudiados simultáneamente por medio del análisis de componentes principales (ACP). De acuerdo con los resultados obtenidos y, en concordancia con las publicaciones de otros autores se observó que las diferentes poblaciones de Hedeoma multiflora manifiestan una significativa homogeneidad en lo que se refiere a su composición química, pero se observaron notables diferencias en cuanto a su contenido de aceite esencial, según el origen del material ya que denotó ser muy superior a los valores publicados (1,18 a 5,43% expresados sobre base seca). Estas variaciones podrían atribuirse a factores ecológicos, que deberán ser tenidos en cuenta. Como resultado de este estudio se seleccionaron las plantas de la población de Cortaderas para realizar los ensayos previos a la introducción a cultivo, con el objetivo final de reemplazar paulatinamente el actual sistema de recolección depredadora, por una producción controlada de la especie.

Palabras clave: Hedeoma multiflora - peperina de las lomas - aceite esencial - GC-FID-MS - pulegona.

Essential oils of *Hedeoma multiflora* Benth. (Lamiaceae) from natural populations of San Luis province, Argentina. A comparative study

Summary

Hedeoma multiflora Benth. (Lamiaceae) is a medicinal and aromatic species that grows mainly in the mountains of San Luis and, more sparsely, in the mountains of Córdoba. Due to the small size of the plant and that its distribution is confined to special environmental conditions its survival is threatened throughout its natural area of occurrence, by the overexploitation which is submitted to. To introduce this species to cultivation, the materials were evaluated on the basis of their essential oil quality and content. For this purpose, aerial parts in bloom of *H. multiflora* were collected from seven wild populations in the province of San Luis. Essential oils were obtained by hydrodistillation and were analyzed by GC-FID-MS. The major components were identified as pulegone, menthone and isomenthone. Data obtained from the compositions of the essential oils of the different populations were studied simultaneously using Principal Component Analysis (PCA). According to our results and to those published by other authors, these populations expressed a significant uniformity regarding to their chemical composition. In contrast, essential oils content presented notable differences according to the origin of plant material with higher values than the published data (1.18%-5.43% expressed on dry basis). These variations could be attributed to ecological factors, which should be considered. As a result of this study, plant material from Cortaderas was selected for field trials previous to introduce the species to cultivation, in order to achieve the ultimate goal of the gradual replacement of the current predatory system of collection by a controlled production.

Introducción

Hedeoma multiflora Benth. (Lamiaceae, sin. H. multiflorum Benth.) es una especie medicinal y aromática perenne que crece en la Argentina, Uruguay y Brasil (Tropicos.org, 2009). Se desarrolla en terrenos altos y pedregosos, con poca competencia de otras especies. En la Argentina se encuentra principalmente en las serranías de San Luis y también en las sierras de Córdoba. Además, se halló en las provincias de Catamarca, Santiago del Estero, Mendoza, Río Negro, hasta La Pampa y Buenos Aires (Xifreda, 1999).

Florece de noviembre a marzo. Se la conoce con los nombres vulgares de "tomillo", "cominito", "menta del campo", "peperina de las lomas", "mastuerzo" (Santi y Retamar, 1983), "peperina puntana" (Del Vitto y col., 1997), "tomillito" (Martínez, 2005) y "tomillito serrano" (Dadé y col., 2009) (Figura 1). Esta especie es muy utilizada en herboristería como digestiva (Del Vitto y col., 1997) y también aperitiva, por sus propiedades amargas. Por otra parte, la actividad antioxidante de la infusión de sus hojas ha

sido asociada a su alto contenido de fenoles y flavonoides (Dadé y col., 2009).

En la Argentina, las provincias de San Luis y Córdoba concitan especial atención por su riqueza

Figura 1.- Detalle de rama florífera de *Hedeoma multiflora*



florística y por el difundido uso de plantas medicinales, en su mayoría plantas recolectadas a campo. Por esta razón esa región constituye un centro de acopio para otras localidades del país; así, se induce la sobreexplotación de algunas de las especies aromáticas (De la Sota, 1977). Los principales destinos de estos recursos son para las procesadoras de yerba mate compuesta, las elaboradoras de amargos y aperitivos, las herboristerías y los laboratorios de productos medicinales (Martínez, 2005).

Si bien *H. multiflora* es considerada de baja demanda, los recolectores perciben la dificultad para colectar un volumen suficiente de esta especie. Sus características morfológicas: planta de pequeño porte (< 25 cm), de tallos múltiples y raíces leñosas, y su crecimiento confinado a condiciones ambientales especiales (Fester y col., 1961), provocan que su supervivencia esté amenazada en toda el área natural de ocurrencia tanto por el volumen como por la forma de recolección, ya que la planta es arrancada entera, junto con la raíz (Lagrottería y Lozada, 1993; Goleniowski y col., 2006).

Para tratar de preservar esta especie se han ensayado técnicas de micropropagación con resultados promisorios (Quiroga y col., 2000; Vázquez y col., 2007). Los estudios realizados sobre la composición de su aceite esencial muestran la presencia de pulegona, isomentona y mentona como los compuestos mayoritarios (Fester y col., 1961; Santi y Retamar, 1983; Koroch y col., 1999; Fernández y col., 2007).

Martínez y Fernández (2000a y 2000b) sostienen la necesidad de la difusión y el reemplazo paulatino del sistema de recolección depredador por una producción controlada de la especie.

En consecuencia, como paso previo a la introducción al cultivo es necesario una evaluación de los mejores materiales silvestres con relación al rendimiento y la calidad del aceite esencial (Elechosa y col., 2009). Por este motivo se evaluó la variabilidad fitoquímica de esta especie en la provincia de San Luis, región donde se detecta la mayor preponderancia poblacional.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se colectaron muestras de las partes aéreas en floración en siete poblaciones silvestres de la provincia de

Figura 2.- Poblaciones silvestres colectadas en la provincia de San Luis



San Luis: Dique La Florida, Balde de la Isla, Valle de Pancanta, El Pantanillo (Merlo), Cortaderas, Dique del Paso de las Carretas y Pasos Malos (Figura 2). De cada población se muestrearon entre 30 y 50 plantas y se secaron a la sombra durante varios días, hasta un contenido de humedad del 12 al 15%. Las colectas de cinco poblaciones se repitieron en distintas épocas del año: noviembre/diciembre 2006-2007 y marzo 2007-2008. Las colectas de noviembre/diciembre correspondieron a material vegetal en comienzos a 50% de floración, mientras que los materiales de marzo correspondieron a materiales en plena floración ó posfloración. El ejemplar de herbario fue depositado en el herbario del Instituto de Recursos Biológicos, INTA Castelar (Molina A. M. 6757).

Obtención de aceites esenciales

Los aceites esenciales se obtuvieron por hidrodestilación a partir de material vegetal oreado, utilizando una trampa Clevenger (Norma IRAM 18729), durante 2 horas. Los aceites así obtenidos se desecaron con sulfato de sodio anhidro y se almacenaron a 2 °C hasta su análisis. Los valores de rendimiento de aceite esencial fueron corregidos por el contenido de humedad de los materiales vegetales para ser expresados en base seca (% V/P).

Identificación de los compuestos

El análisis cuali-cuantitativo de la composición química de los aceites esenciales se realizó por CG-FID-MS, empleando un equipo Perkin Elmer modelo Clarus 500 con una configuración especial (Retta y col., 2009). Tiene un único inyector tipo split (relación 1:100) conectado con un divisor de flujos a dos columnas capilares de sílice fundido: a) polietilenglicol de PM aprox. 20.000 y b) 5% fenil-95% metil silicona, ambas de 60 m x 0,25 mm de diámetro y 25 μm de espesor de fase estacionaria (J & W Scientific).

La columna polar está conectada a un detector FID, mientras que la columna no polar está conectada a un detector FID y a un detector de masas cuadrupolar (70 eV), a través de un sistema de venteo (MSVentTM). Fase móvil: Helio a 1,87 ml/min. Programación de temperatura de la columna: 90 °C, luego a 3 °C/min hasta los 225 °C (15 min). Temperaturas de inyector y detectores FID: 255 °C y 275 °C, respectivamente. La inyección fue realizada en forma automatizada (Autosampler PE) y la cantidad inyectada fue de 0,5 μl de una dilución al 10% en hexano. Temperatura de la línea de transferencia: 180 °C. Temperatura de la fuente de iones: 150 °C. Rango de masas escaneado: 40-300 Da.

La identificación de los compuestos se realizó por utilización de: a) los índices de retención obtenidos en las dos columnas empleadas (polar y no polar) respecto de una serie homóloga de hidrocarburos C₈-C₂₀, y b) el espectro de masa obtenido en la columna no polar. Los resultados obtenidos fueron comparados con los que figuran en bases de datos (Adams, 2007; Wiley/NIST, 2008) y con los obtenidos a partir de patrones auténticos.

La determinación de la composición porcentual se realizó por el método de porcentaje de áreas, sin corrección por diferencias de respuesta. Se tomó para cada componente la menor respuesta obtenida en las dos columnas utilizadas.

Análisis estadístico

La variabilidad en la composición de los aceites esenciales fue analizada por un procedimiento estadístico multivariado (InfoStat, 2008). Todas las colectas y los compuestos de los aceites esenciales fueron estudiados simultáneamente por medio del análisis de componentes principales (ACP). De esta manera, los datos que originalmente comprenden muchas dimensiones (diferentes compuestos, dife-

rentes orígenes geográficos y diferentes fechas de colecta) son presentados en pocas dimensiones (generalmente de una a tres). Esto genera una reducción de las dimensiones del conjunto de datos que, en consecuencia, permite realizar interpretaciones más aproximadas a los fenómenos observados.

Posteriormente, se aplicó el coeficiente de correlación de Pearson para la estandarización implícita de las variables.

Resultados

Los rendimientos de aceite esencial variaron entre 1,18% y 5,43% expresados sobre base seca; generalmente los mayores rendimientos fueron los de las colectas de noviembre-diciembre respecto a las colectadas en marzo (Tabla 1).

En la composición de los aceites esenciales determinados por FID-MS, se identificaron 11 compuestos principales, además de otros 5 desconocidos, que totalizaron entre el 85,4% y el 99,7% del total de los aceites. Los compuestos mayoritarios identificados fueron: pulegona (14,6%-88,6%), isomentona (3,9%-37,0%) y mentona (2,5%-30,2%) (Tabla 1). El análisis estadístico por ACP de la totalidad de los datos de la composición química y las poblaciones colectadas, muestra una proyección de 94,5% de las muestras analizadas en los componentes principales 1 y 3 (Figura 3).

En las muestras con alto contenido de mentona e isomentona, como se observa en la Tabla 1, el contenido de pulegona resultó significativamente menor.

El compuesto denominado desconocido 3, de PM: 154, también fue detectado en todas las muestras de peperina (*Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb.) analizadas por nuestro grupo de trabajo (Elechosa y col., 2007).

Conclusiones

Los rendimientos de aceite esencial fueron destacados y significativos, especialmente en la colecta de Cortaderas, con un rendimiento del 3,40%-5,43%.

Al analizar los principales compuestos determinados por GC-FID-MS, se observó que los contenidos de pulegona, isomentona y mentona sumaron entre el 65,8% y el 97,3% del total identificado.

Tabla 1.- Composición química porcentual, rendimientos de aceite esencial, orígenes y épocas* de colecta de las poblaciones de Hedeoma multiflora analizadas de San Luis

\mathbf{IR}^{a}	Identificación	Diq	Dique La Florida (DF)	rida	Balde de la Isla (BI)	Vall	Valle de Pancanta (VP)	ınta	El Pantanillo Merlo (MER)	tanillo rlo IR)	Cortader (COR)	Cortaderas (COR)	Dique del Paso de las Carretas (PC)	Paso de las (PC)	Carretas	Pasos Malos (PM)
		12/06	03/02	11/07	12/06	12/06	03/02	03/08	12/06	80/80	12/06	11/07	03/08	11/07	80/60	03/08
1029	Limoneno	1	0.1	ı	0.4	1.3	ı	0.2	0.3	1	0.3	0.7	0.2	I	0.2	ı
1097	Linalol	I	0.2	I	I	0.1	0.2	0.1	I	I	0.1	I	0.1	I	0.1	I
1142	trans-Sabinol	I	0.1	I	ı	ı	0.1	ı	ı	ı	I	I	ı	I	ı	I
1141	cis-Verbenol	I	0.1	I	0.2	0.1	0.1	I	0.2	I	0.1	0.2	I	0.2	ı	I
1153	Mentona	2.8	22.7	14.7	6.2	13.6	28.1	30.2	13.4	23.2	17.7	2.5	10.9	4.3	11.8	13.2
1164	Isomentona	5.1	35.5	25.0	8.9	15.2	28.9	35.5	20.8	34.7	37.0	3.9	19.8	6.1	18.4	28.5
1172	cis- Isopulegona	0.7	0.3	0.7	8.0	0.7	8.0	0.3	0.5	0.5	0.3	8.0	9.0	1.1	0.7	0.5
1172	trans-Isopulegona	1.3	0.7	1.1	1.3	1.0	I	0.1	1.1	8.0	8.0	1.1	1.2	1.4	1.3	6.0
1201	Desconocido 1 ^b	0.1	I	0.3	0.2	0.1	I	0.2	0.1	0.3	I	I	0.1	1.2	0.2	9.0
1237	Pulegona	9.88	38.8	48.5	9.77	64.0	40.3	17.9	61.2	14.6	41.2	89.2	62.7	55.4	62.5	27.9
1253	Piperitona	0.2	0.2	0.3	1.1	0.1	0.2	0.4	0.1	0.4	0.1	9.0	0.5	0.5	0.2	1.1
1260	Desconocido 2 ^b	I	I	0.7	I	0.1	I	0.5	0.2	1.0	0.2	0.4	0.2	2.0	0.3	1.5
1289	Desconocido 3 ^b	I	I	3.7	0.3	0.4	0.2	1.7	0.1	2.2	0.2	0.5	9.0	8.2	1.1	4.0
1343	Piperitenona	0.4	9.0	0.3	0.4	0.2	0.1	0.1	0.3	0.5	0.2	I	0.4	0.3	0.7	0.3
1573	Desconocido 4 ^b	I	I	8.0	0.3	0.3	0.1	0.4	0.1	5.2	I	I	0.2	2.6	9.4	2.9
1896	Desconocido 5 ^b	I	I	1.4	0.2	0.2	ı	1.4	I	3.8	I	I	0.2	3.2	0.3	4.0
	TOTAL	99.2	99.1	97.4	8.76	97.5	99.1	6.88	98.2	87.2	98.2	2.66	7.76	86.4	0.86	85.4
	Rendimiento (%)	4.44	2.74	3.46	3.69	3.23	2.14	1.18	3.07	3.42	3.40	5.43	4.49	3.42	3.39	3.00

*Mes y año de recolección.

^a Listados en orden de elución en la columna no polar.

^b Datos espectroscópicos (m/z)

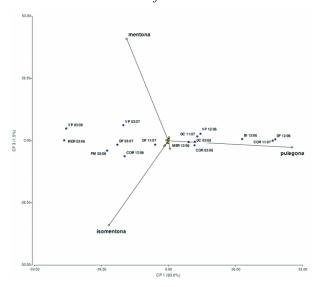
Desconocido 2, 168(24%); 153(100%); 125(26%); 111(32%); 97(14%); 86(39%); 83(41%); 81(28%); 70(53%); 69(45%); 67(42%); 67(42%); 55(57%); 43(76%); 42(49%); Desconocido 1, 150(60%); 135(40%); 108(21%); 91(23%); 80(62%); 79(100%); 77(28%); 69(28%); 67(19%); 55(16%); 53(17%); 51(16%); 44(22%); 41(38%). 41(71%).

Desconocido 3, 154(10%); 153(100%); 150(8%); 135(15%); 125(5%); 111(13%); 107(6%); 97(29%); 95(10%); 79(24%); 69(20%); 68(17%); 59(25%); 43(50%) Desconocido 4, 166(27%); 152(45%); 137(15%); 123(20%); 110(16%); 109(22%); 108(31%); 95(52%); 82(22%); 81(100%); 79(24%); 77(17%); 69(36%); 67(44%); 55(44%); 53(33%); 43(44%); 41(57%).

Desconocido 5, 182(3%); 164(1%); 154(100%); 139(64%); 137(29%); 136(16%); 121(16%); 111(17%); 109(48%); 109(48%); 108(13%); 93(18%); 91(13%); 81(62%); 79(22%); 77(14%); 70(13%); 69(26%); 67(77%); 55(38%); 53(37%); 43(33%); 41(47%).

17

Figura 3.- Análisis de componentes principales (ACP) de la composición química de 15 muestras de aceite esencial de *Hedeoma multiflora*



Este patrón de composición química está en concordancia con los estudios previos realizados sobre los aceites esenciales de esta especie (Fester y col., 1961; Santi y Retamar, 1983; Koroch y col., 1999; Fernández y col., 2007) y de otras especies del género *Hedeoma* (Irving y Adams, 1973; Vilaseca y col., 2004).

El análisis estadístico de la composición química de las distintas poblaciones por ACP señaló que con el primer componente es posible explicar el 93% de la variación total observada (Figura 3), que, además, permite determinar el valor discriminante de algunos constituyentes (mentona, isomentona y pulegona). El mismo análisis mostró que las poblaciones con alto contenido de pulegona tienen menor contenido de mentona e isomentona, como se observa en el eje 1 (CP1: 93,0% de la varianza) de la figura 3. Este fenómeno, en general, se observó en las colectas de noviembre y diciembre, cuando las plantas se encuentran en comienzos a 50% de floración, mientras que en las colectas de marzo disminuyeron los porcentajes de pulegona y aumentaron los de isomentona y mentona. Estas colectas, hacia fines del verano, coincidieron con que el material recolectado estaba en plena a posfloración.

La ruta biosintética de los principales monoterpenos presentes en *Hedeoma* spp. ha sido extensamente estudiada, como en *Mentha* spp., género

Figura 4. - Ruta biosintética de los compuestos mayoritarios presentes en *Hedeoma multiflora*

Tomado de Croteau y col., 2005.

cercanamente relacionado (Franz, 1993). En la ruta metabólica, pulegona es el precursor de mentona e isomentona (Figura 4).

Ese comportamiento es semejante al observado en otras especies con aceites esenciales de composición química similar, como es el caso de Minthostachys spp. (Bandoni y col., 2002) y Mentha spp. (Croteau y col., 2005). Se comprobó en estas especies la relación que hay entre el estado fenotípico y la calidad del aceite esencial, como resultado de las distintas etapas biosintéticas de sus principales constituyentes (Figura 4). Es así como se puede definir un momento de cosecha ideal por la simple observación del estado fenotípico de la planta, coincidente con la mejor proporción entre pulegona, isomentona y mentona para lograr un "perfil sensorial" característico de la especie. En el caso de Hedeoma, como ocurre con Minthostachys spp. v con *Mentha* spp., es en plena floración. Si bien esta especie tiene un perfil aromático muy similar a la peperina (Minyhostachys mollis Griseb.), se diferencia de esta por mayor contenido de isomentona (mayor a 5% en Hedeoma y menor a 2% en Minthostachys). Esta similitud es la causa por la cual Hedeoma es comúnmente denominada "peperina de las lomas".

Los resultados obtenidos, sumados a las publicaciones de otros autores (Fester y col., 1961; Santi y

Retamar, 1983; Koroch y col., 1999; Vázquez y col., 2007), indican que Hedeoma multiflora manifiesta una significativa homogeneidad en lo que se refiere a su composición química. Esta propiedad no es habitual entre las especies aromáticas pertenecientes a la familia Lamiaceae, donde suelen describirse numerosos quimiotipos para cada especie. No obstante, a pesar de la homogeneidad en la composición química, lo que sí se observa son notables diferencias en cuanto al contenido de aceite esencial según el origen del material. Algunas de las poblaciones analizadas en este trabajo, presentaron un rendimiento en aceite esencial muy superior (más del doble) de los valores publicados (Koroch y col., 1999). Es muy probable que las variaciones observadas sean consecuencia de factores ecológicos, que deberán ser considerados a la hora de introducir la especie a cultivo.

Como resultado de este estudio se concluye que la mejor época de cosecha es en plena floración y se ensayarán las plantas de la población de Cortaderas para las pruebas de su introducción a cultivo por ser las que presentan mayor rendimiento de aceite esencial.

Agradecimientos

Parte de este trabajo fue subvencionado por el Proyecto INTA PNHFA4164 (2006-2009) y Proyecto UBACYT B014 (2008-2010).

Los autores agradecen al técnico Alejandro Martínez (INTA Castelar) por el procesamiento de las muestras.

Referencias bibliográficas

- Adams, R.P. (2007). *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry*. 4th Ed., Allured: Carol Stream, IL.
- Bandoni, A.L.; López, M.A.; Juárez, M.A.; Elechosa, M.A.; van Baren, C. and Di Leo Lira, P. (2002). "Seasonal variations in the composition of the essential oil of peperina (*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb.) from a local population of the province of Córdoba, Argentina". *Essenze Derivati Agrumari* 72(1): 11-14.
- Croteau, R.B.; Davis, E.M.; Ringer, K.L. and Wildung, M.R. (2005). "Menthol biosynthesis and molecular genetics". *Naturwissenschaften* 92: 562-577.

- Dadé, M.M.; Fioravanti, D.E.; Schinella, G.R. and Tournier, H.A. (2009). "Total antioxidant capacity and polyphenol content of 21 aqueous extracts obtained from native plants of Traslasierra valley (Argentina)". *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas* 8(6): 529-539.
- De la Sota, E.R. (1977). "The problems of threatened and endangered plant species and plant communities in Argentina". En: Prance, G. y Elias, T. Extinction is Forever. Threatened and Endangered Species of Plants in the Americas and their significance in Ecosystems Today and in the Future. The New York Botanical Garden, Bronx, Nueva York.
- Del Vitto, L.A.; Petenatti, E.M. y Petenatti, M.E. (1997). "Recursos Herbolarios de San Luis (República Argentina). Primera Parte: Plantas Nativas". *Multequina* 6: 49-66.
- Elechosa, M.A.; Molina, A.M.; Juárez, M.A.; van Baren, C.M.; Di Leo Lira, P. y Bandoni, A.L. (2007). "Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb. ("peperina") obtenido de colectas en varias poblaciones de las provincias de Tucumán, Córdoba, San Luis y Catamarca". *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas* 6(5): 244-245.
- Elechosa, M.A.; Aguirre, E.; Bandoni, A.L.; Di Leo Lira, P.M.R.; Fernández, E.A.; Heit, C.; Juárez, M.A.; López, S.; Martínez, A.; Martínez, E.; Marino, A.M.; Molina, A.C.; van Baren, C.M.; Viturro, C.I. (2009). Manual de recolección sustentable de plantas aromáticas nativas de la región central y noroeste de la Argentina Proyecto Específico PNHFA4164: Desarrollo de tecnologías para la conservación, evaluación y utilización de plantas aromáticas nativas. Ediciones INTA. Buenos Aires.
- Fernández, E. A.; Martínez, E.; Juárez, M.A.; Elechosa, M.A.; Molina, A.M.; van Baren, C.M.; Di Leo Lira, P. y Bandoni, A. L. (2007). "Estudio del aceite esencial de *Hedeoma multiflorum* Benth. (Lamiaceae) 'peperina de las lomas' obtenido de poblaciones naturales en la provincia de San Luis". *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas* 6(5):246-247.
- Fester, G.A.; Martinuzzi, E.A.; Retamar, J.A. y Ricciardi, A.I. (1961). "Aceites esenciales de la República Argentina". *Academia Nacional de Ciencias, Córdoba* 10.
- Franz, Ch. (1993). "Genetics". En: Hay, R.K.M. and

- Waterman, P.G. Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production. Longman Scientific & Technical, Essex.
- Goleniowski, M.E.; Bongiovanni, G.A.; Palacio, L.; Núñez, C.O. and Cantero, J.J. (2006). "Medicinal Plants from the "Sierra de Comechingones", Argentina". J. *Ethnopharmacol*. 107: 324-341.
- Infostat (2008). "InfoStat". versión 05/2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Brujas.
- Irving, R.S. and Adams, R.P. (1973) "Genetic and biosynthetic relationships of monoterpenes". En: Ruceckless, V.C. y Mabry, T.J. *Terpenoids: structure, biogenesis and distribution. Recent advances in phytochemistry*. Volumen 6. Academic Press, Londres: 187-214.
- Koroch, A.R.; Juliani, H.R (Jr.); Trippi, V.S. and Juliani, H.R. (1999). "Chemical Constituents of the Essential Oil of *Hedeoma multiflorum* Benth. (Lamiaceae)". *J. Essent. Oil Res.* 11: 165-166.
- Lagrottería M. and Lozada C. (1993). "Medicinal and Aromatic Plants from Córdoba, Argentina; Their Commercial and Socio-Cultural Aspects". *Acta Horticulturae* 330: 101-106.
- Martínez, G. J. (2005). "Recolección y Comercialización de Plantas Medicinales en el Departamento de Santa María, Provincia de Córdoba, Argentina". *Acta Farm. Bonaerense* 24(4): 575-84.
- Martínez, E. y Fernández, E.A. (2000a). "Manejo sustentable de *Hedeoma multiflorum* Bentham (*Lamiaceae*) en la provincia de San Luis, Argentina. Parte I. Germinación de la semilla en condiciones de laboratorio". *International Journal of Experimental Botany, Phyton* 66: 145-148.
- Martínez, E. y Fernández E. A. (2000b). "Manejo sustentable de *Hedeoma multiflorum* Bentham (*Lamiaceae*) en la provincia de San Luis Argentina. Parte II. Cultivo experimental en condiciones ambientales serranas". *International Journal of Experimental Botany, Phyton* 66: 175-178.

- Quiroga, M.; Pedranzani, E. y Martínez, E. (2000). "Regeneración de plantas de Hedeoma multiflorum Bentham mediante el cultivo in vitro en estacas uninodales. XXIII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Córdoba: 122-123.
- Retta, D.; Gattuso, M.; Gattuso, S.; Di Leo Lira, P.; van Baren, C. and Bandoni, A. (2009). "Volatile constituents of five *Baccharis* species from the Northeastern Argentina". *J. Braz. Chem. Soc.* 20(7): 1379-1384.
- Santi, M.N. y Retamar, J.A. (1983). "Aceite esencial de *Hedeoma multiflorum"*. Ess. Der. Agrum. 51(4): 353-359.
- Tropicos.org. *Missouri Botanical Garden* [en línea]. https://www.tropicos.org/Reference/43650 [Consulta: 19 de febrero de 2010].
- Vázquez, A.M.; Goleniowski, M.; Brunetti, P.; Cantero, J.J.; Demmel, M.G.; Criado, S.; Ferrari, M.C. y Aimar, M.L. (2007). "Estudio Comparativo de la Composición Química (Compuestos Orgánicos Volátiles) por HS-SPME/ GC-MS de *Hedeoma multiflora* Benth. (Lamiaceae), Micropropagadas y de Poblaciones Silvestres". *Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas* 6(5): 284-285.
- Vilaseca, A.; Guy, I.; Charles, B.; Guinadeau, H.; Rojas de Arias, A. and Fournef, A. (2004). "Chemical Composition and Insecticidal Activity of *Hedeoma mandoniana* Essential Oils". *J. Essent. Oil Res.* 16(4): 380-383.
- Wiley /NIST (2008). "The Wiley/NBS registry of mass spectral data". 8th Ed. J. Wiley & Sons, Inc., Nueva York.
- Xifreda, C.C. (1999) "Lamiaceae". En: Zuloaga, F.O. y Morrone, O. "Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina. II. Dicotylodoneae". Missouri Botanical Garden Press, Nueva York.

Actividad analgésica de dos especies de *Urtica* con usos etnomédicos en la República Argentina

Carla Marrassini¹, Susana Gorzalczany² y Graciela Ferraro^{1*}

- ¹ Cátedra de Farmacognosia Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA).
- ² Cátedra de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires CONICET. Junín 956 (1113), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
- * Autor a quien dirigir la correspondencia: gferraro@ffyb.uba.ar.

Resumen

La ortiga fue utilizada como planta medicinal, especialmente como analgésica y antiinflamatoria, desde tiempos antiguos. A partir de sus usos populares, se realizó un estudio en modelos animales con el objetivo de evaluar la actividad analgésica de extractos etanólicos de *Urtica urens* L. y *U. circularis* (Hicken) Sorarú (Urticaceae). Ambos extractos demostraron tener actividad antinociceptiva.

Analgesic activity of two Urtica species with ethnomedical uses in Argentina

Summary

The nettle has been used since ancient times as a medicinal herb, specially as an analgesic and antiinflammatory agent. Taking into account its popular uses, the analgesic activity of *Urtica urens* L. and *U. circularis* (Hicken) Sorarú (Urticaceae) ethanol extracts were determined in experimental animal models. Both extracts demonstrated to possess antinociceptive activity.

Introducción

Las plantas medicinales fueron utilizadas popularmente desde los comienzos de las civilizaciones y son usadas actualmente por tradición, por considerarlas remedios naturales y por razones económicas, entre otras; en consecuencia, desempeñan un papel muy importante en la vida de los seres humanos. Los componentes de las plantas son ampliamente aprovechados en el área farmacéutica, así como en cosmética y alimentación.

En la actualidad hay un sensible aumento de la demanda de fármacos con extractos vegetales estandarizados y existe un enfoque particular en la búsqueda de nuevos principios activos provenientes de las plantas. La búsqueda de nuevos fármacos para el tratamiento del dolor de diversa índole es de especial interés, debido a los efectos adversos que producen los existentes en el mercado farmacéutico.

En la Argentina existen numerosas especies vegetales que se utilizan en el tratamiento de diferentes afecciones. Sin embargo, su uso es empírico y, en la mayoría de los casos, no hay estudios científicos que lo convaliden. De ello surge la necesidad de estudiar esas especies desde el punto de vista

Palabras clave: Urtica urens - Urtica circularis - actividad analgésica in vivo.

Key words: Urtica urens - Urtica circularis - analgesic activity in vivo.

fitoquímico y farmacológico para evaluar sus propiedades terapéuticas y su eventual toxicidad. Entre las especies usadas popularmente para "curar la hinchazón", "ablandar las manos y rodillas", para dolores musculares y artríticos y golpes, se encuentran tres especies del género *Urtica* L., Dicotiledóneas de la familia Urticaceae (Martínez Crovetto, 1981; Bombardelli y Morazzoni, 1997; Randall y col., 2000).

El nombre *Urtica* deriva del término latino *urere* que significa "quemante" debido a la sensación que produce el contacto de la piel con sus pelos. La urticaria que genera es debida a la presencia de histamina, serotonina y acetilcolina en los tricomas urticantes (Bombardelli y Morazzoni, 1997). Varias especies del género *Urtica* son utilizadas en la medicina folclórica como antipiréticos, antiinflamatorios y analgésicos (Yongna y col., 2005). Además, las ortigas son muy nutritivas como alimento, tienen gran cantidad de minerales, especialmente hierro, vitamina C y pro-vitamina A y son fácilmente digeridas (Martínez Crovetto, 1981; Domínguez, 1928; Toldy y col., 2005).

La ortiga (generalmente refiriéndose a *U. dioica* L.) fue utilizada como planta medicinal desde tiempos antiguos. Discórides (siglo I d.C.) y Galeno (siglo II d.C.) recomendaban el uso de sus hojas como diuréticas y laxantes, para mordeduras de perros, heridas gangrenosas, hinchazón, sangrado de nariz, para aliviar la menstruación y para el tratamiento de pleuritis, neumonía, asma, dolores de boca y enfermedades relacionadas con el bazo. Plinio (siglo I d.C.) elogió a la ortiga por sus propiedades hemostáticas. En la Edad Media, St. Hildegard de Bingen (1098-1179), recomendaba el uso de las semillas de ortiga para curar problemas estomacales. Se consideraba útil para el sangrado de nariz, angina de pecho, cáncer, dolor de cabeza y en el tratamiento de complicaciones de bazo, riñón y vesícula (Bombardelli y Morazzoni, 1997).

En los siglos XVI y XVII, Bock, Matthiolus y otros médicos recomendaban las hojas de ortiga para tratar el reumatismo crónico, para el tratamiento de complicaciones letárgicas como parálisis y también, para el tratamiento de tifus y cólera (Bombardelli y Morazzoni, 1997).

El género comprende alrededor de 45 especies, distribuidas en las regiones templadas de ambos hemisferios (Burkardt, 1987). En la Argentina se han reconocido nueve especies; entre éstas, *Urtica*

dioica, *U. urens* y *U. circularis* son las que tienen mayor área de distribución y que, además, son las más utilizadas en medicina popular.

Urtica dioica

Se conoce a *U. dioica* L. con los nombres comunes de "ortiga mayor", "ortiga", "nettle" o "stinging nettle" (en inglés), "ortie" (en francés), "ortica" (en italiano), "urtiga mayor" o "urtiga" (en portugués) y "grosse brennessel" o "haarnessel" (en alemán). Es originaria de Europa y Asia y se encuentra ampliamente distribuida en el resto del mundo en las zonas templadas de ambos hemisferios (Bombardelli y Morazzoni, 1997). Crece en terrenos baldíos, terraplenes y suelos húmedos y soporta altas concentraciones de sustancias nitrogenadas.

Se recolecta para su empleo desde principios de primavera hasta mediados del verano (Bombardelli y Morazzoni, 1997). Diferentes partes de la planta se utilizan en medicina popular para una variedad de dolencias. Las raíces de *U. dioica* en Europa han sido utilizadas por años para el tratamiento de hiperplasia benigna de próstata (HBP) y, con ese uso está incluida en la Farmacopea Herbaria Británica (European Medicines Agency, 2007).

Los tallos son utilizados para realizar "azotes" en casos de reumatismo. Con las hojas se practica la "urticación" que consiste en refregar con hojas frescas sobre las superficies doloridas, seguido de una frotación con agua fría; esta técnica es utilizada en casos de lumbociatalgias, neuralgias o artralgias. El escozor que produce la ortiga se ha utilizado por mucho tiempo como tratamiento para el dolor artrítico. Hay informes sobre urticación para el dolor de articulaciones en todo el mundo (Martínez Crovetto, 1981; Randall y col., 2000; Chifa y Ricciardi, 2001). Las raíces son utilizadas en infusión para el tratamiento de la fiebre intermitente y también suele ingerirse en casos de reumatismo (Borchers y col., 2000). El fruto es utilizado para combatir afecciones cutáneas y reumatismo y, también, por vía interna en casos de diarrea, alteraciones de la secreción biliar y como hemostático (Alonso, 1998). Sus semillas se utilizan en muchas partes de Turquía, especialmente en la terapia para los enfermos avanzados de cáncer (Kanter y col., 2005).

Además, las diferentes partes de la planta son preparadas de diversas maneras con fines terapéuticos. Se obtienen infusiones que son utilizadas como diurético, cardiotónico, uricosúrico, antidiabético, digestivo, astringente, fortificante capilar y para frotar el cuerpo en las zonas doloridas o de rigidez. También se considera útil beber una infusión de hojas en casos de tuberculosis, anemias y furunculosis (Tita y col., 1993; Del Vitto y col., 1997; Akbay y col., 2003; Daher y col., 2006). La infusión de tallos y raíces desecados se utiliza como depurativo de la sangre, para afecciones respiratorias y para cálculos renales, y el lavado con infusión de raíz es frecuentemente utilizado en lociones para la caspa y la caída del cabello (Rapoport y col., 2001).

Otras formas de preparación también utilizadas son la decocción de la raíz para desparasitar el organismo, y la decocción de la planta entera es utilizada en Guatemala como depurativo (en casos de acné) y diurético. Se emplea también el cocimiento para el tratamiento de las inflamaciones de las vías urinarias bajas y para prevenir la litiasis renal (Da Rosa y Azevedo Machado, 2007). También el zumo de las ramas y las hojas es empleado en Ecuador para detener hemorragias, en catarros respiratorios, en dolores menstruales y en el mejoramiento de la borrachera (Alonso, 1998).

Otra forma de empleo es la utilización de la planta sin tratamiento previo, como en Perú y Bolivia, donde se frotan las ramas y las hojas sobre las sienes para los dolores de cabeza y el apunamiento o soroche. En Ecuador se "soba" la planta por todo el cuerpo para el tratamiento del cansancio (Alonso, 1998). Además de los usos medicinales, esta especie es utilizada como ingrediente de las ensaladas, ya que tiene una larga historia por su valor nutritivo en la dieta y es fácilmente digerible. Es rica en minerales (especialmente hierro), vitamina C y pro-vitamina A, aminoácidos esenciales, ácido ascórbico y carbohidratos (Toldy y col., 2005). Las hojas jóvenes frescas son cocinadas y se agregan a las sopas. Suelen ser secadas para permitir su consumo en invierno. Por otro lado, las hojas constituyen una excelente fuente de clorofila, razón por la que es utilizada como colorante en pastas dentales, lociones, champús y chicles. Se cosecha comercialmente para la extracción de clorofila, ya que se utiliza como un agente colorante verde (E140) en comidas y medicamentos (Guil-Guerrero y col., 2003).

Algunas publicaciones científicas informan de su actividad antioxidante (Hudec y col., 2007), antiinflamatoria y analgésica en modelos animales y ensayos *in vitro* (Reihemann y col., 1999). En el

estudio de Gülçin y colaboradores (2004), realizado in vivo, se demostró la actividad antinociceptiva de un extracto acuoso de U. dioica en el ensayo de contorsiones inducidas por ácido acético en forma dosis dependiente. Por otro lado, Jacquet y colaboradores (2009) realizaron un estudio clínico doble ciego en pacientes con osteoartritis; observaron que un suplemento dietario comercial, compuesto por aceite de pescado, vitamina E y *U. dioica*, disminuía la necesidad de analgésicos y antiinflamatorios no esteroideos y mejoraba los síntomas de la osteoartritis. Además, en un estudio realizado en ratas por Cetinus y colaboradores (2005) detectaron que el extracto de U. dioica disminuye el estrés oxidativo en tejidos musculares generado por torniquetes, hecho que sugiere una acción protectora celular.

Esta especie es de una amplia distribución mundial e integra la formulación de medicamentos fitoterápicos para el tratamiento de la hiperplasia benigna de próstata, como venotrópicos y antiinflamatorios (Bombardelli y Morazzoni, 1997).

Urtica urens

U. urens L. es muchas veces utilizada como sustituto de U. dioica, y se conoce con los nombres comunes de: "ortiga", "ortiga crespa", "ortiga chica", "ortiga negra", "caá poropé" y "rupá chico" (Zuloaga y Morrone, 1999); está ampliamente distribuida en América del Sur (Bolivia, Brasil, Chile, Uruguay y Argentina) y también en Europa, África, Asia y Australia. Es una planta anual de 10 a 50 cm de altura (Burkardt, 1987) completamente cubierta por pelos urticantes que les dan el nombre al género. Se puede encontrar esta hierba en zonas diversas, como en lugares húmedos, en terrenos baldíos, en tierras cercanas a las rutas y a la vera de los ríos (Bombardelli y Morazzoni, 1997).

En América del Sur, tradicionalmente se ha utilizado la infusión de las hojas como diurético, tónico, hipoglucemiante (Rojas Acosta, 1905; González y col., 1928; Domínguez, 1928) y para el alivio del dolor muscular o de las articulaciones (Randall y col., 2000). Se agrega a diferentes preparaciones culinarias y es considerada un alimento nutritivo (Domínguez, 1928).

En Europa las raíces de *U. urens* también son utilizadas para el tratamiento de HBP (EMEA, 2007). Recientemente, se describió que esta especie tendría propiedades quimioprotectoras contra diversos carcinógenos (Ozkarsli y col., 2008).

Urtica circularis

U. circularis (Hicken) Sorarú, es conocida con los nombres comunes de "ortiga", "ortiga crespa", "ortiga brava", "caá poropi", "urtiginha miúda". Es una hierba nativa, ampliamente distribuida en Paraguay, Uruguay, Brasil y en la Argentina, en las provincias de Buenos Aires, Catamarca, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe, San Juan, San Luis y Tucumán. Se la encuentra en lugares húmedos y sombríos. Es una planta anual, andrógina, de 20 a 60 cm de altura, ascendente, laxa, de color verde claro. Sus tallos y hojas están cubiertos de pelos urticantes.

Es utilizada popularmente como antiinflamatoria, para dolores musculares y para los golpes (Martínez Crovetto, 1981).

La literatura científica aborda en su mayor parte el estudio de *U. dioica* y, en menor medida, a *U. urens*. Sin embargo, no existen estudios clínicos ni preclínicos que avalen las actividades farmacológicas que se le atribuyen a *U. circularis*. Dado que para diferentes especies de este género se ha descripto su utilización en medicina popular con el fin de aliviar diferentes tipos de dolor, se planteó como objetivo de este trabajo, evaluar la actividad antinociceptiva de extractos de *U. urens* y *U. circularis* en modelos animales.

Materiales y métodos

Material vegetal

Urtica urens fue recolectada en la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina, en noviembre de 2007 e identificada por el Dr. Gustavo Giberti. Un ejemplar de herbario (BAF 664) está depositado en el Herbario del Museo de Farmacobotánica Juan A. Domínguez, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Ûrtica circularis fue recolectada en la provincia argentina de Corrientes, Dpto. Saladas, Ruta 12, 5 km al Sur del Cruce de Rutas 118 y 27, Estancia "La Merced". El material vegetal fue identificado por la Dra. Martha Gattuso. El ejemplar de herbario está depositado en la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Rosario (Nº 054).

Preparación de los extractos

La parte aérea seca de ambas especies fue molida

hasta obtener un polvo fino y, posteriormente, extraído por maceración durante 24 horas con etanol 80% hasta agotamiento del material vegetal. Los extractos fueron luego concentrados y liofilizados. Los rendimientos obtenidos representaron para *Urtica urens* 161,8 g/kg de droga seca y para *Urtica circularis*, 114,7 g/kg de droga seca.

Drogas

Se utilizaron las siguientes drogas: indometacina, sulfato de morfina y naloxona (Sigma Chemical Co.-St. Louis, MO., USA.), ácido acético y formalina (Merck-Darmstadt, Alemania).

Material animal

Se utilizaron ratones hembras de la cepa *Swiss* de 25 - 30 g. Los animales fueron mantenidos en un ambiente a 22 ± 1 °C con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas. Los experimentos fueron realizados de acuerdo con las guías internacionales y las regulaciones nacionales acerca del cuidado y utilización de animales de laboratorio para investigación biomédica (ANMAT, 1996; *Institute of Laboratory Animal Resources*, 1996).

Actividad antinociceptiva

Test de las contorsiones abdominales

El ensayo se realizó según la técnica descripta por Collier y col. (1968). La nocicepción fue inducida por una invección intraperitoneal (i.p.) de ácido acético al 1,0%; 0,1 ml/10 g de peso corporal. Diferentes grupos de ratones fueron tratados con distintas dosis del extracto de *U. urens* o de *U. circularis* por vía i.p. u oral (p.o.) 30 ó 60 min, respectivamente, antes de la inyección de ácido acético. La indometacina (10 mg/kg i.p.) fue utilizada como droga de referencia. El grupo control recibió solución fisiológica (10 ml/kg). Se evaluó como respuesta el número de contorsiones abdominales durante un período de 20 min inmediatamente después de la inyección del ácido acético. Se calculó el porcentaje de inhibición de las contorsiones abdominales inducidas químicamente.

Ensayo de la formalina

El ensayo se realizó según la técnica descripta por Hunskaar y Hole (1987) y consistió en la administración de 20 µl de una solución de formalina al 2,5% (formaldehído al 0,92%) en buffer fosfato (pH 7,3) en la superficie dorsal de la pata izquierda del ratón. Los

animales fueron tratados con el extracto de *U. urens* o de *U. circularis* por vía i.p. o p.o. 30 ó 60 min, respectivamente, antes de la inyección de formalina. Se utilizó indometacina 30 mg/kg, i.p. y morfina, 10 mg/kg, subcutánea (s.c.) como drogas de referencia.

Un grupo de ratones fue tratado con naloxona (5 mg/kg i.p.) 15 min antes de la administración de los extractos. El grupo control recibió solución fisiológica (10 ml/kg). Los animales fueron colocados individualmente en jaulas de acrílico transparente, con un espejo en un ángulo de 45º debajo del piso, para permitir una adecuada observación de las patas. Se evaluó el tiempo que permaneció el ratón, lamiendo la pata inyectada durante 30 min luego de la inyección de formalina. Se consideraron dos rangos de tiempo, la fase temprana que corresponde a los primeros 5 min transcurridos luego de la inyección de formalina y la fase tardía, correspondiente a los últimos 15 min del período analizado.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados por el análisis de la varianza, utilizando como test *a posteriori* el Test de Dunnett. Se asumieron diferencias significativas cuando el valor de *p* es menor que 0,05.

Resultados y discusión

El dolor y la inflamación están asociados con la fisiopatología de varias condiciones clínicas, como la artritis y el cáncer, entre otras, y se utiliza una gran cantidad de productos naturales en la medicina popular para tratar el alivio de síntomas del dolor (Ahmed y col., 2005; Kaplan y col., 2007).

En este trabajo se estudió la actividad antinociceptiva de los extractos etanólicos de *U. urens* y *U. circularis*, utilizando dos clásicos modelos experimentales *in vivo*, el test de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético y el ensayo de formalina.

Los resultados revelaron que los extractos de *U. urens* y *U. circularis* tienen actividad antinociceptiva en las condiciones estudiadas.

La administración intraperitoneal de una noxa química, como el ácido acético, en los ratones induce una irritación peritoneal que produce contorsiones en el tronco y la extensión de las patas traseras. El bloqueo de esta respuesta inducida químicamente sirve como método para la evaluación de drogas

con potencial acción analgésica. Los extractos fueron ensayados a diferentes dosis (10-250 mg/kg i.p.), en las que se obtuvieron un efecto máximo con dosis de 250 mg/kg i.p. para U. urens (95,5% de inhibición) y 500 mg/kg i.p. para U. circularis (87,1% de inhibición). La indometacina, un antiinflamatorio no esteroideo (AINE), con actividad antinociceptiva en este modelo fue utilizada como droga de referencia en la concentración usual (10 mg/kg i.p.), que produjo aproximadamente un 55% de inhibición de las contracciones inducidas químicamente. Se ha postulado que en dolores relacionados con procesos inflamatorios, las prostaglandinas, citoquinas v aminas simpaticomiméticas mediarían el estímulo nociceptivo y, en este modelo en particular, a través de receptores peritoneales locales (Nguemfo y col., 2007; Bezerra y col., 2008). Por lo tanto, el efecto de los extractos etanólicos observado de U. urens y U. circularis, descriptos en las tablas 1 y 2, respectivamente, estaría mediado por una acción periférica, que podría reducir la síntesis de prostaglandinas o interferir en el mecanismo de transducción de los nociceptores primarios aferentes involucrados en este modelo (Marrassini y col., 2010).

Tabla 1.- Efecto del extracto etanólico de *U. urens* en el ensayo del ácido acético

Tratamiento	Número de contorsiones	Inhibición (%)
Control	29 ± 2	
U. urens 10 mg/kg i.p.	35 ± 4	0
U. urens 30 mg/kg i.p.	$12 \pm 3*$	58,6
U. urens 60 mg/kg i.p.	$7 \pm 4*$	75,9
U. urens 250 mg/kg i.p.	1 ± 1*	96,5
U. urens 250 mg/kg p.o.	$14 \pm 2*$	51,7
Indometacina 10 mg/kg i.p.	13 ± 3*	55,2

Resultados obtenidos por la administración del extracto e indometacina. Los resultados de la administración de 8 ratones por grupo son expresados como media \pm E.S.M. Las diferencias significativas con respecto al grupo control fueron determinadas por ANOVA de una vía, utilizando como test *a posteriori* el Test de Dunnett. *p < 0.01 (versus grupo control).

Tabla 2.- Efecto del extracto etanólico de *U. circularis* en el ensayo del ácido acético

Tratamiento	Número de contorsiones	Inhibición (%)
Control	31 ± 2	
U. circularis 10 mg/kg i.p.	31 ± 5	0
U. circularis 30 mg/kg i.p.	21 ± 3	32,2
U. circularis 60 mg/kg i.p.	19 ± 3	38,7
U. circularis 125 mg/kg i.p.	$10 \pm 4 \text{*}$	67,7
U. circularis 500 mg/kg i.p.	$4\pm4*$	87,1
U. circularis 250 mg/kg p.o	32 ± 10	0
U. circularis 500 mg/kg p.o	$16\pm1\text{*}$	48,4
Indometacina 10 mg/kg i.p.	$13 \pm 3*$	58,1

Resultados obtenidos por la administración del extracto e indometacina. Los resultados de la administración de 8 ratones por grupo son expresados como media \pm E.S.M. Las diferencias significativas con respecto al grupo control fueron determinadas por ANOVA de una vía, utilizando como test *a posteriori* el Test de Dunnett. *p < 0.01 (versus grupo control).

Con el objetivo de evaluar si los extractos en estudio también son activos en otros tipos de dolor, se utilizó el ensayo de la formalina. El estímulo nociceptivo, aunque también es químico, presenta características diferentes. La administración en la pata de la formalina produce dos fases, claramente diferenciadas, que involucran mecanismos distintos.

La primera fase (0 - 5 min) corresponde a un dolor agudo de tipo neurogénico que es sensible a drogas que interactúan con el sistema opioide, mientras que la segunda fase (15 - 30 min) resulta de la acción de mediadores inflamatorios en los tejidos periféricos, como prostaglandinas, serotonina, histamina, bradiquinina, y que es inhibido tanto por drogas opioides, como por drogas de tipo AINE. Las sustancias que actúan primariamente como analgésicos centrales inhiben ambas fases, mientras que las drogas que actúan de manera periférica inhiben solo la segunda fase (Le Bars y col., 2001). De esta manera, este ensayo puede ser utilizado para postular un posible mecanismo del efecto antinociceptivo de un analgésico propuesto.

En las tablas 3 y 4 se describen los resultados obtenidos con los extractos estudiados; se observó que U. urens reduce significativamente el tiempo que permanece el ratón lamiéndose la pata administrada con formalina a dosis de 100 mg/kg i.p. $(19.2 \pm 8.1 \text{ s})$ (Marrassini y col., 2010), al igual que *U. circularis*, aunque para este extracto se observó un efecto significativo a una dosis menor (30 mg/kg: 18.2 ± 12.8 s). Dado que el efecto de ambos extractos se observó solo en la segunda fase del ensayo, se podría deducir que la actividad antinociceptiva observada podría estar relacionada con mecanismos periféricos y no centrales para ambos preparados. Los extractos presentan un perfil de comportamiento en este modelo experimental, similar a la indometacina (38,2 \pm 5,4 s), que inhibe la respuesta al dolor inducido por la formalina solamente en la segunda fase.

Sin embargo, drogas como la morfina, con una actividad en el nivel central, y cuyo efecto es mediado por el sistema opioide, disminuyen la respuesta al dolor en ambas fases (primera fase: 2.0 ± 0.8 s, segunda fase: 0 ± 0 s).

Además, como el pretratamiento con naloxona, un antagonista no-selectivo de los receptores opioides, no pudo antagonizar el efecto observado con los extractos, se podría confirmar que en el mecanismo antinociceptivo de estos extractos el sistema opiode no estaría involucrado.

Dado que la ruta de administración es uno de los factores que afecta el resultado de los estudios *in vivo*, se seleccionó la vía i.p. para la investigación primaria de la potencial actividad antinociceptiva de los extractos, sobre la base de que esta vía es generalmente más sensible que la vía oral en este tipo de estudios.

Sin embargo, debido a que la vía oral es una de las rutas generalmente más usadas, se evaluó el efecto inducido por los extractos por esta vía de administración; así, se pudo demostrar que ambos son activos en los dos modelos experimentales analizados. *U. urens* a dosis de 250 mg/kg por vía oral produjo una inhibición del 51,7% de las contorsiones inducidas químicamente y *U. circularis* por la misma vía, a dosis de 500 mg/kg produjo una inhibición del 48,4%.

Además, ambos extractos a dosis de 500 mg/kg por vía oral, produjeron una disminución de la respuesta inducida por la administración intraplantar de formalina solamente en la segunda fase ($U.urens: 31,4 \pm 16,4$ s y $U.circularis: 9,7 \pm 9,7$ s).

Tabla 3.- Efecto del extracto etanólico de *U. urens* en el ensayo de la formalina

Tratamiento	Tiemp	o (s)
Tratamiento	Fase temprana	Fase tardía
Control	$62,4 \pm 7,5$	84,5 ± 11,9
U. urens 30 mg/kg i.p.	$41,7\pm6,5$	$78,5 \pm 16,6$
U. urens 100 mg/kg i.p.	$36,4 \pm 6,7$	19,2 ± 8,1**
U. urens 500 mg/kg p.o.	$44,2\pm7,5$	$31,4 \pm 16,4*$
<i>U. urens</i> 100 mg/kg i.p.+ naloxona 5 mg/kg i.p.	$39,7 \pm 6,2$	32,1 ± 12,3*
Morfina 10 mg/kg s.c.	$2,0 \pm 0,8**$	0 ± 0 **
Indometacina 30 mg/kg i.p.	$50,\!4\pm5,\!5$	$38,2\pm5,4*$

Resultados obtenidos por la administración del extracto, morfina e indometacina. Los resultados de la administración de 10 ratones por grupo son expresados como media \pm E.S.M. Las diferencias significativas con respecto al grupo control fueron determinadas por ANOVA de una vía, utilizando como test *a posteriori* el Test de Dunnett. *p < 0.05, **p < 0.01 (*versus* grupo control).

Tabla 4.- Efecto del extracto etanólico de *U. circularis* en el ensayo de la formalina

	Tiemp	o (s)
Tratamiento	Fase temprana	Fase tardía
Control	62,4 ± 7,5	84,5 ± 11,9
U. circularis 10 mg/kg i.p.	$61,7\pm11,1$	$62,2 \pm 21,0$
U. circularis 30 mg/kg i.p.	$25,\!4\pm10,\!3$	18,2 ± 12,8*
U. circularis 100 mg/kg i.p.	$46,0\pm5,8$	7,6 ± 4,2**
U. circularis 250 mg/kg p.o.	$93,0\pm18,0$	$77,0 \pm 5,7$
U. circularis 500 mg/kg p.o.	$73,7\pm9,1$	9,7 ± 9,7**
<i>U. circularis</i> 500 mg/kg p.o.+ naloxona 5 mg/kg i.p.	$79,7 \pm 6,3$	$19,7 \pm 6,7*$
Morfina 10 mg/kg s.c.	$2,0\pm0,8*$	0 ± 0 **
Indometacina 30 mg/kg i.p.	$50,4 \pm 5,5$	$38,2 \pm 5,4*$

Resultados obtenidos por administración del extracto, morfina e indometacina. Los resultados de la administración de 10 ratones por grupo son expresados como media \pm E.S.M. Las diferencias significativas con respecto al grupo control fueron determinadas por ANOVA de una vía, utilizando como test *a posteriori* el Test de Dunnett. *p < 0.05, **p < 0.01 (*versus* grupo control).

En conclusión, teniendo en cuenta el conjunto de resultados obtenidos, los extractos etanólicos de *U. urens* y *U. circularis* mostraron actividad antinociceptiva en los modelos estudiados. Estos resultados podrían contribuir a la validación del uso popular de estas especies para el tratamiento de dolor relacionado con procesos inflamatorios, como la artritis, actividad que compartirían con la ortiga común (*U. dioica*).

Referencias bibliográficas

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) (1996). Disposición ANMAT Nº 6344/96.

Ahmed, S.; Anuntiyo, J.; Malemud, C. and Haqqi, T. (2005). "Biological basis for the use of botanicals in osteoarthritis and rheumatoid arthritis: A review". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2(3): 301-308.

Akbay, P.; Basaran, A.A.; Undeger, U. and Basaran, N. (2003). "In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L.". *Phytotherapy Research* 17(1): 34-37.

Alonso, J. (1998). Tratado de fitomedicina. Bases clínicas y farmacológicas. Isis: 767-771.

Bezerra, M.; Lima, V.; Girao, V.; Teixeira, R. and Graca, J. (2008). "Antinociceptive activity of sildenafil and adrenergic agents in the writhing test in mice". *Pharmacological Reports* 60(3): 339-344.

Bombardelli, E. y Morazzoni, P. (1997). "*Urtica dioica* L". *Fitoterapia* 67: 387-402.

Borchers, A.T.; Keen, C.L.; Stern, J.S. and Gershwin, M.E. (2000). "Inflammation and Native American medicine: the role of botanicals". *The American Journal of Clinical Nutrition* 72(2): 339-347.

Burkart, A. (1987). Flora Ilustrada de Entre Ríos (3ª edición). Sudamericana, Buenos Aires: 33-37.

Cetinus, E.; Kilinc, M.; Inanc, F.; Kurutas, E.B. and Buzkan, N. (2005). "The role of *Urtica dioica* (Urticaceae) in the prevention of oxidative stress caused by tourniquet application in rats". *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* 205(3): 215-221.

Chifa, C. y Ricciardi, A. (2001). "Plantas en uso en medicina vernácula del centro del chaco argen-

- tino". *Miscelanea*. Fundación Miguel Lillo 117: 33-34.
- Collier, H.D.J.; Dinnin, L.C.; Johnson, C.A. and Schneider, C. (1968). "The abdominal response and its suppression by analgesic drugs in the mouse". *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy* 32(2): 295-310.
- Da Rosa, C. y Azevedo Machado, C. (2007). "Plantas medicinais utilizadas no tratamento de doenças reumáticas: revisão". *Revista Brasileira de Farmácia* 88(1): 26-32.
- Daher, C.F.; Baroody, K.G. and Baroody, G.M. (2006). "Effect of *Urtica dioica* extract intake upon blood lipid profile in the rats". *Fitoterapia* 77(3):183-188.
- Del Vitto, L.A.; Petenatti, E.M. y Petenatti, M.E. (1997). "Recursos herbolarios en San Luis (República Argentina) Primera Parte: Plantas nativas". *Multequina* 6: 49-66.
- Domínguez, J.A. (1928). "Contribuciones a la Materia Médica Argentina". Peuser. Buenos Aires: 84 y 140-141.
- European Medicines Agency (EMEA). (2007). "Evaluation of Medicines for Humen Use. Assessment report on *Urtica dioca* L. and *Urtica urens L*. Herba". *Doc. Ref. EMEA*/ HMPC/ 168380/2006.
- Guil-Guerrero, J.L.; Rebolloso-Fuentes, M.M. and Torija Isasa, M.E. (2003). "Fatty acids and carotenoids from Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.)". *Journal of Food Composition and Analysis* 16(2): 111-119.
- González, M.; Coppeti, V. y Lombardi, A. (1928). *Plantae Diaphoricae Florae Uruguayensis*. Imprenta Nacional: Montevideo: 28-9 y 102.
- Gülçin, I.; Küfrevioglu, Ö.I.; Oktay M. and Büyükokuroglu, M.E. (2004). "Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.)". *Journal of Ethnopharmacology* 90(2-3): 205-215.
- Hudec, J.; Burdová, M.; L'ubomír, K.; Komora, L.; Macho, V.; Kogan, G.; Turianica, I.; Kochanová, R.; Lozec, O.; Habán, M. and Chlebo, P. (2007). "Antioxidant Capacity Changes and Phenolic Profile of *Echinacea purpurea*, Nettle (*Urtica dioica* L.), and Dandelion (*Taraxacum officinale*) after application of polyamine and phenolic biosyntesis regulators". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(14): 5689-5696.
- Hunskaar, S. and Hole, K. (1987). "The formalin

- test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain". *Pain* 30(1): 103–104.
- Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council. (1996). *Guide for the care and use of Laboratory Animals*. National Academy Press. Washington D.C.: 21-48, 65.
- Jacquet, A.; Girodet, P.O.; Pariente, A.; Forest, K.; Mallet, L. and Moore, N. (2009). "Phytalgic®, a food supplement, vs placebo in patients with osteoarthritis of the knee or hip: a randomised double-blind placebo-controlled clinical trial". *Arthritis Research & Therapy* 11(6): R192.
- Kanter, M.; Coskun, O. and Budancamanak, M. (2005). "Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats". World Journal of Gastroenterology 14; 11(42): 6684-6688.
- Kaplan, M.; Mutlu, E.; Benson, M.; Fields, J.; Banan, A. and Keshavarzian, A. (2007). "Use of herbal preparations in the treatment of oxidant-mediated inflammatory disorders". *Complementary Therapies in Medicine* 15(3): 207-216.
- Le Bars, D.; Gozariu, M. and Cadden, S. (2001). "Animal models of nociception". *Pharmacological Reviews* 53(4): 597-652.
- Marrassini, C.; Acevedo, C.; Miño, J.; Ferraro, G. and Gorzalczany, S. (2010). "Evaluation of antinociceptive, antinflammatory activities and phytochemical analysis of aerial parts of *Urtica urens* L." *Phytotherapy Research* (en prensa).
- Martínez Crovetto, R. (1981). "Plantas Utilizadas en Medicina en el Noroeste de Corrientes". *Miscelánea* (Fundación Miguel Lillo), Tucumán: 37.
- Nguemfo, E.; Dimo, T.; Azebaze, A.; Asongalem, E.; Alaoui, K.; Dongmo, A.; Cherrah, and Kamtchouing, P. (2007). "Antiinflammatory and antinociceptive activities of the stem bark extracts from *Allanblackia monticola* STANER L.C. (Guttiferae)". *Journal of Ethnopharmacology* 114(3): 417-424.
- Ozkarsli, M.; Sevim, H. and Sen, A. (2008). "In vivo effects of *Urtica urens* (dwarf nettle) on the expression of CYP1A in control and 3-methyl-cholantrene-exposed rats". *Xenobiotica* 38(1): 48-61.
- Randall, C.; Randall, H.; Dobbs, F.; Hutton, C. and Sanders, H. (2000). "Randomized controlled trail

- of nettle sting for treatment of base-of-thumb pain". *Journal of the Royal Society of Medicine* 93(6): 305-309.
- Rapoport, E.; Sanz, E.H. y Ladio, A.H. (2001). "Plantas silvestres comestibles de la Patagonia andino-chilena Exóticas (parte II). *Universidad Nacional del Comahue*. Bariloche: 70-72.
- Riehemann, K.; Behnke, B. and Schulze-Osthoff, K. (1999). "Plant extracts form stinging nettle (*Urtica dioica*), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF-κB". *FEBS Letters* 442(1): 89-94.
- Rojas Acosta, N. (1905). "Plantas Medicinales de Corrientes". *Revista Farmacológica* 45: 115-145.
- Tita, B.; Faccendini, P.; Bello, U.; Martinoli, L. and Bolle, P. (1993). "*Urtica dioica* L.: Pharmaco-

- logical Effect of Ethanol Extract". *Pharmacological Research* 27(1): 21-22.
- Toldy, A.; Stadler, K.; Sasvári, M.; Jakus, J.; Jung, K.J.; Chung, H.Y.; Berkes, I.; Nyakas, C. and Radák, Z. (2005). "The effect of exercise and nettle supplementation on oxidative stress markers in the rat brain". *Brain Research Bulletin* 30; 65(6): 487-493.
- Yongna, Z.; Wantana, R.; Pisit, B.; Zhongkun, L. and Rongping, Z. (2005). "Analgesic and antipureticactivities of the aqueous extract of *Urtica macrorrhiza* in experimental animals". *Fitoterapia* 76(1): 91-95.
- Zuloaga, F.O. y Morrone, O. (1999). "Catálogo de Plantas Vasculares de la República Argentina". *Missouri Botanical Garden*: 1130.

Argentine medicinal plants with potential antifungal activity

Rubén V.D. Rondina*, Arnaldo L. Bandoni and Jorge D. Coussio

Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires - CONICET. Junín 956 (1113), Ciudad Autónoma de Buenos Aires República Argentina.

* Author correspondence: rondina@2vias.com.ar.

Summary

The Argentine flora is represented by more than 9000 higher plants, from which about 1600 are used as home remedies. The cited should be assayed for its supposed activity. In the present case, a total of 58 potentially useful antifungal plants has been identified by reviewing the data about their popular use in Argentina. The results were compiled in a table encompassing the mentioned species which are worth to be tested for its antifungal activity. The list contains (a) the binary name of each plant (genus and species), (b) botanical family, (c) indication(s) or use(s) according to the folklore medicine and its interpretation and/or (d) origin of the data.

Plantas medicinales argentinas con potencial actividad antifúngica

Resumen

La flora argentina se encuentra representada por más de 8.000 plantas superiores. De ellas, alrededor de 1.600 son utilizadas por la población como remedio casero. Estas especies merecen la oportunidad de ser ensayadas para determinar su supuesta actividad. En este caso se han reunido las especies potencialmente útiles como antifúngicas de acuerdo con la revisión de los usos populares consignados en diversas publicaciones botánicas y otras referencias. El resultado se encuentra compilado en una tabla que abarca un total de 58 especies merecedoras de ser ensayadas para determinar su actividad antifúngica. En ella se consigna: (a) nombre (género y especie) de cada planta potencialmente activa, (b) familia botánica a la que pertenece, (c) indicaciones o usos de acuerdo con el uso popular y probable interpretación y (d) origen del dato.

Introduction

The eager search of medicines for the world, justifies the screening of the flora for plants having useful pharmacological activities, to use them as models or materials to prepare new drugs.

Our general objective has been the collection and classification of data related to the biological activity

of the Argentine medicinal plants in order to help in the selection of plant material to be tested for biological activity. In this particular case the potential antifungal species has been considered.

Selection of the species to be scrutinized

Most of the Argentine medicinal plants grow in the de la Plata river basin. Located in the subtropical

Key words: antifungal plants - Argentine medicinal plants - Argentine medicinal flora - antifungal flora. **Palabras clave:** plantas antifúngicas - plantas medicinales argentinas - flora medicinal argentina - flora antifúngica.

region of South America, its flora has more than 9000 botanical species, that has been classified in 246 families (Zuloaga and Morrone, 1996; 1999). The words related to a potential antifungal activity, uses or toxicity were selected or else corrected according to the definition found in the Dorland's Medical Dictionary (Anderson, Jefferson Keith, Novak & Elliot).

Evolution of the knowledge on South American medicinal plants

As in other regions, the primitive population of South America learned how to treat their illnesses by using the "trial and error" procedure. Once this fact was "discovered" by the people coming from Europa, the American knowledge of the local medicinal plants was transferred to the new population living in the area, a mixture of South American and European people, and used as a "local pharmacopea". The acquisition and transference of the knowledge adopted different modalities, from an oral one (ordinary people) to a written one. In the first case people recorded the data by heart. In the written way, learned people registered the data in manuscripts, annotating the local name of the plant and, sometimes, adding a drawing of the recorded species. From the XVI Century on, these documents were usually kept in the libraries of monasteries and abbeis (Domínguez, 1905; Ricciardi et al., 1997).

Once the country was organized, trained botanists worked in the inventory of the Argentine flora, describing and naming each new species discovered and, as a consequence, publishing the corresponding conclusions. Numerous data were useful thanks to the information annotated (and published) by the botanists. The first job to accomplish was related to the "cleaning" of the language. Since 1980, we had been engaged in the inventory and study of plant species with potential pharmacological activity. The information had been fed to a databank, to be used as a guide to presume the eventual biological activity of a given species (Rondina, et al., 1999; Bandoni, et al., 2002). The information was reviewed and eventually recorded, as the consequence of the work done in 1996 - 1999, to make it easily available, together with the data on uses and presumed activity.

The field related with the plants potentially acting as antifungal was selected as an interesting field and the information on the matter put together as having activity on fungi (Table 1).

Experimental

Qualification and reviewing of data

The main goal to be accomplished was the selection and recording of the species having potential pharmacological activity. Only published material coming from botanist or similar experts was registered. Some exceptions were made in atypical cases, as the personal information of data coming from persons regularly in contact with medicinal plants (Bowes R., personal communication, 1973). The species considered selectable were those having descriptions on uses or another mentions indicating the interrelationship plant / man. The data on potential biological activity were registered and copied also as part of the mentioned table.

Results

As already mentioned, the results appear in the table 1, reporting the following information

- Column 1: **Binary name** of each plant (genus and species).
- Column 2: **Botanical family**.
- Column 3: **Indications**, use and / or interpreted activity, as a conclusion of the analysis of the meaning of the words used in the References. In some cases the information has been "translated", by interpreting the popular language applied to the description of use, objective and supposed activity.
- Column 4: **References** (Original source, cited in the Bibliographic References).

According to that, the table reports (a) the use and / or indication of a given plant, (b) its supposed biological activity, especially on fungi, (c) the source of the data, (d) a hypothesis on its probable pharmacological activity, if consigned by the referent (in this case ending with an interrogation mark) and (e), when available, the plant part, type of extract and way of preparation.

Results and discussion

Clarifying the statements on uses

The language used in the basic documents needed, in general, to be clarified, i.e. to know what the author or informant meant (especially in Spanish), and to decide if to make a preselection was necessary.

 Table 1.- Argentine Medicinal Plants with Potential Antifungal Activity

Troop on only	Domily	Hes and on notantial activity	Diklicanonkio
osen species	ramny	ose anu/or potential activity	reference
Acacia aroma Gillies ex Hook. E & Arn.	Fabaceae	Antimycotic EU (powder of the burned bark, in situ)	Martínez-Crovetto, 1981
Acacia caven (Molina) Molina var. caven	Fabaceae	Antimycotic EU (decoction of bark "for healing the athleta's foot")	Martínez-Crovetto, 1981
Acacia caven (Molina) Molina var. caven	Fabaceae	Antimycotic EU (powder of burned bark, in situ, as –)	Martínez-Crovetto, 1981
Aloe vera L.	Liliaceae	Antimycotic EU ("mucilage [in situ] as -")	Scarpa, 2004
Aloysia gratissima (Gillies & Hook. ex Hook.) Tronc var. chacoensis (Moldenke) Botta	Verbenaceae	Antimycotic EU (the affected area washed with decoction of leaves)	Scarpa, 2004
Aloysia virgata (Ruiz et Pav.) Juss. var. virgata	Verbenaceae	Antimycotic? ("the affected part rasped with the back of the leave and wetted with the "perspiration" [condensation of water] of an axe")	Martínez-Crovetto, 1981
Anadenanthera colubrina (Vell.) Brenan var. cebil (Griseb.) Altschul	Fabaceae	Antimycotic (the decoction of the bark, [in situ?], in Paraguay	Basualdo, I.N. et al., 2003
Anagallis arvensis L.	Primulaceae	Fungicide ("fungitoxic, especially at the beginning of flowering")	Burkart, 1987
Araujia angustifolia (Hook. & Arn.) Decne.	Asclepiadaceae	Antimycotic EU (juice of the fruit "to fight the empeine")	Martínez-Crovetto, 1981
Araujia sericifera Brot.	Apocynaceae	Antimycotic EU (juice of the fruit "to fight the empeine")	Martínez-Crovetto, 1981
Aristolochia gibertii Hook.	Aristolochiaceae	Fungicide? EU (decoction of leaves, together with <i>Baccharis articulata</i> , "to treat the <i>empeine</i> ")	Martínez-Crovetto, 1981
Aristolochia gibertii Hook.	Aristolochiaceae	Antimycotic ([infusion?] "stems and leaves as -"), in Paraguay	Basualdo, I.N. et al., 2003
Baccharis articulata (Lam.) Pers.	Asteraceae	Antimycotic EU ("to treat the <i>empeine</i> ", together with <i>Aristolochia gibertii</i>	Martínez-Crovetto, 1981
Baccharis gaudichaudiana DC.	Asteraceae	Antimycotic EU ("for the empeine")	Martínez-Crovetto, 1981
Baccharis microcephala (Less.) DC.	Asteraceae	Antimycotic EU ("to treat the empeine")	Martínez-Crovetto, 1981
Baccharis rufescens Spreng.	Asteraceae	Antimycotic ("infusion of fresh leaves, per os, as -")	Hilgert, 2001
Baccharis sculpta Griseb	Asteraceae	Antimycotic (infusion of fresh leaves, per os, "for vaginal mycosis")	Hilgert, 2001
Baccharis trimera (Less.) DC.	Asteraceae	Antimycotic EU ("for the empeine")	Martínez-Crovetto, 1981
Caiophora lateritia Klotzsch	Loasaceae	Antimycotic (infusion of flowers, per os, three times a day, "for vaginal mycosis")	Hilgert, 2001
Calendula officinalis L.	Asteraceae	Antimycotic EU (to heal "illness of the scalp")	Freire & Urtubey, 2000

Table 1.- Argentine Medicinal Plants with Potential Antifungal Activity (cont.)

Used species	Family	Use and/or potential activity	Bibliographic reference
Camptosema rubicundum Hook. & Arn.	Fabaceae	Fungicide? EU (foments with the decoction of seeds "for vulval pruritus")	Lahitte & Hurrell, 2004
Camptosema rubicundum Hook. & Arn.	Fabaceae	Antifungal? EU (foments with decoction of the seeds, "for vulval pruritus")	Lahitte & Hurrell, 1998
Celtis iguanaea (Jacq.) Sarg.	Celtidaceae	Antimycotic EU (fresh leaves on the skin to treat the $empeine$)	Martínez-Crovetto, 1981
Celtis pubescens (Humb. et Bonpl.) Spreng.	Celtidaceae	Antimycotic EU (a tender leaf rubbed "on the skin affected with <i>empeine</i> ")	Martínez-Crovetto, 1981
Celtis chicape (Wedd.) Miq.	Celtidaceae	Antimycotic ("to heal the skin with <i>empeine</i> by rubbing it Lahitte & Hurrell, 1998 with fresh leaves")	Lahitte & Hurrell, 1998
Cestrum parqui L'Hér.	Solanaceae	Antimycotic EU (the leaves [in situ?] "against ringworm")	Rojas Acosta, 1912
Cestrum parqui L'Hér.	Solanaceae	Fungicide ("the leaves, as antifungal")	Toursarkissian, 1980
Cestrum parqui L'Hér.	Solanaceae	Antimycotic EU (decoction of the leaves "to combat the ringworm")	Lahitte & Hurrell, 1998
Clematis montevidensis (Spreng.) var. denticulata (Vell.) Bacigalup.	Ranunculaceae	Antimycotic EU (a cloth impregnated with the leave's juice, $in\ situ$)	Scarpa, 2004
Coprinus sp.	Agaricaceae	Antimycotic EU ("laminae of this mushroom placed between the feet's fingers")	Martínez-Crovetto, 1981
Cucurbita moschata (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poir.	Cucurbitaceae	Antimycotic, in Bolivia (rosin of the fruit, in situ, "to heal the empeine")	CABI, CYTED et al. (ONG Ed), 2002
Datura inoxia Mill.	Solanaceae	Fungicide EU (the decoction of leaves "for <i>empeine</i> and other illnesses")	Martínez-Crovetto, 1981
Dolichandra unguis-cati (L.) L. G. Lohmann	Bignoniaceae	Antimycotic (decoction [of the entire plant?] "for vaginal mycosis")	Hilgert, 2001
Erythrina crista-galli L.	Fabaceae	To treat the <i>empeine</i> (the crushed fresh parts, in cataplasms, <i>in situ</i>)	Lahitte & Hurrell, 1998
Eucalyptus camaldulensis Dehnh.	Myrtaceae	Fungicide? EU ("the decoction for cracked skin")	Martínez-Crovetto, 1981
Eucalyptus camaldulensis Dehnh.	Myrtaceae	Antimycotic? EU (the head washed with the decoction of Martínez-Crovetto, 1981 leaves, "to treat itching and dandruff")	Martínez-Crovetto, 1981
Eucalyptus cinerea F.von Muell.	Myrtaceae	Antimycotic? EU (the head washed with the decoction of Martínez-Crovetto, 1981 leaves, "to treat itching and dandruff")	Martínez-Crovetto, 1981
Eucalyptus cinerea F.von Muell.	Myrtaceae	Antifungal? EU ("cracked skin in the feet)"	Martínez-Crovetto, 1981

 Table 1.- Argentine Medicinal Plants with Potential Antifungal Activity (cont.)

Used species	Family	Use and/or potential activity	Bibliographic reference
Euphorbia hirta L. var. ophtalmica (Pers.) Allem & Irgang	Euphorbiaceae	Antimycotic (fresh leaves frictioned <i>in situ</i> "to heal the <i>empeine</i> ")	Lahitte & Hurrell, 2000
Ficus eximia Schott	Moraceae	Antimycotic EU ("latex on the scalp to treat the <i>empeine</i> de peluqueria [barber's shop ringworm]")	Martínez-Crovetto, 1981
Foeniculum vulgare Mill.	Apiaceae	Fungicide? EU (decoction of leaves and stems to treat "fissures in skin and feet")	Martínez-Crovetto, 1981
Funastrum gracile (Decne.) Schltdl.	Asclepiadaceae	Antimycotic EU ("latex of the fresh stems, [in situ] as $-$ ")	Scarpa, 2004
Funastrum gracile (Decne.) Schltdl.	Apocynaceae	Antimycotic EU ("latex of the fresh leaves, rubbed in sim , as -")	Scarpa, 2004
Geoffraea decorticans (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	Fabaceae	Antimycotic (latex <i>in situ</i> to heal the " <i>empeine</i> de peluquería" [barber's shop ringworm] in the scalp)	Martínez-Crovetto, 1981
Krameria lappacea (Dombey) Burdet & B.B. Simpson	Krameriaceae	Antimycotic (infusion of leaves, per os, three times a day, Hilgert, 2001 "for vaginal mycosis")	Hilgert, 2001
Maclura tinctoria (L.) Steud. subsp. tinctoria	Moraceae	Antimycotic? EU ("to heal the <i>empeine</i> by rubbing the skin with a leaf while adding oil to it")	Martínez-Crovetto, 1981
Malva parviflora L.	Malvaceae	Antifungal EU (decoction of leaves with other herbs, in sim)	Martínez-Crovetto, 1981
Melia azedarach L.	Meliaceae	Fungicide in ringworm (decoction of leaves with Malva parviflora and Mentha rotundifolia)	Martínez-Crovetto, 1981
Mentha rotundifolia (L.) Hudson	Lamiaceae	Antifungal EU ("washing, [in situ] of skin ulcers and ringwarms" with a decoction made with this and other herbs.	Martínez-Crovetto, 1981
Microgramma squamulosa (Kaulf.) de la Sota	Polypodiaceae	Antifungal per os (infusion of the whole plant, sweetened Hilgert, 2001 with honey, for "vaginal mycosis")	Hilgert, 2001
Morrenia brachystephana Griseb.	Apocynaceae	Antimycotic EU? (juice of the fruit "to combat the <i>empeine</i> ")	Martínez-Crovetto, 1981
Morrenia stuckertiana (Kutz ex Heger) Malme subsp. Grandiflora (Malme) Goyder	Apocynaceae	Antimycotic EU ("latex of the fresh leaves [$in situ$] as $-$ ")	Scarpa, 2004
Morrenia odorata (Hook. & Arn.) Lindl.	Apocynaceae	Antimycotic EU (juice of the fruit "to combat the <i>empeine</i> ")	Martínez-Crovetto, 1981
Morrenia odorata (Hook. & Arn.) Lindl. Morus alba L.	Apocynaceae Apocynaceae Moraceae	Antimycotic EU (latex of young stems, <i>in situ</i>) Antimycotic? (juice of the fruit "to heal the <i>empeine</i> ") Antimycotic EU ("latex [<i>in situ</i>] for <i>empeine</i> ")	Scarpa, 2004 Lahitte & Hurrell, 1998 Martínez-Crovetto, 1981

Table 1.- Argentine Medicinal Plants with Potential Antifungal Activity (cont.)

Thoolean control	Domile	The and law notantial activities	Dibliognombio
osen species	Falliny	ose anu/or potential activity	bibliographic reference
Morus alba L.	Moraceae	Antimycotic EU (decoction of bark, in situ)	Lahitte & Hurrell, 2004
Musa x acuminata L.	Musaceae	Antimycotic (infusion of fresh leaves before breakfast, during one week, "for vaginal mycosis")	Hilgert, 2001
Pereskia sp.	Cactaceae	Pereskia sacarosa as antifungal EU, in Bolivia (part of the leave's interior)	CABI, CYTED et al. (ONG. Ed.), 2002
Polygonum punctatum Elliott	Polygonaceae	Antimycotic (the extract of the whole plant crushed in cold water) (in situ?)	Gattuso, 2000
Pycnoporus sanguineus (L.ex Fr.) Murr.	Polyporaceae- Aphyllophorales	Antimycotic EU ("powdered basidiocarpus, <i>in situ</i> , as –")	Scarpa, 2004
Rhipsalis floccosa Pfeiff. ssp. tucumanensis (Weber) Barthlott & Tayl	Cactaceae	Antimycotic EU ("fresh plant smashed with warm water, on the skin, as –")	Hilgert, 2001
Senna morongii (Britton) H. S. Irwin & Barneby	Fabaceae	Antimycotic (decoction of leaves, per os, "to treat the athlete's foot"), in Bolivia	CABI, CYTED et al. (ONG Ed.), 2002
Solanum aridum Morong	Solanaceae	Antimicotic EU ("mucilage of fresh fruits, rubbed in situ, as –")	Scarpa, 2004
Solanum hieronymi Kuntze	Solanaceae	Antimicotic EU ("mucilage of fresh fruits, rubbed in situ, as –")	Scarpa, 2004
Solanum palinacanthum Dunal.	Solanaceae	Antimycotic EU ("mucilage of the fresh fruits, rubbed in $situ$, as -")	Scarpa, 2004
Tagetes filifolia Lag.	Asteraceae	Antimycotic (infusion of branches, per os, "for vaginal mycosis").	Hilgert, 2001
Taraxacum officinale G. Weber ex F.H. Wigg.	Asteraceae	Antimycotic ("illnessis of the empeine")	Freire & Urtubey, 1999
Tessaria dodoneifolia (Hook. & Arn.) Cabrera	Asteraceae	Antimycotic (infusion of fresh leaves, per os, "for vaginal Hilgert, 2001 mycosis")	Hilgert, 2001
Usnea sulcata Mot.	Usneaceae	Fungicide? EU ("inside the shoes, to avoid the odors produced by fungus")	Chifa, 2001
Usnea sulcata Mot.	Usneaceae	Fungicide? ("to heal wounds and sores in the sole of foot")	Chifa, 2001
Zanthoxylum petiolare A. St. – Hil. & Tul.	Rutaceae	Fungicide EU (decoction of bark, to treat the empeine)	Martínez-Crovetto, 1981

interpreted or translated. In some cases, hypothesis has been elaborated on the probable activity of the plant. In these cases the corresponding phrase in the Abbreviations: "EU": External Use; "xxx": Textual in the reference. As already mentioned, in general, the original words and expression have been respected, table has been marked with an interrogation sign. The sources of the data cited both in the text and in table 1 are listed in the bibliographic references.

Reviewing of the language

From the selected species, if it was needed, a translation and interpretation of the popular language was accomplished, both into polished Spanish and also into English. It was also useful to have in mind the definition of some words as micosis (mycosis), fungicida (fungicide), antimicótico (antimycotic), fúngico (fungic), etc. According to that, the table reports the supposed biological activity of the plant on fungal infections and an interpretation of the plant activity. In some cases, an hypothesis on the pharmacological activity has been added and the corresponding field signalized with an interrogation mark ("?"). indicating doubts about the translation or meaning of the original expression. When available, the plant part used is also mentioned, and sometimes, the way of preparation of the extract according to the original source. Phrases or words (mostly in Spanish) and synonims considered useful were also reviewed as were "micosis", "tiña", "fung" etc.

In each case the meaning of the supposed words or synonyms was reviewed. Some useful strings in Spanish were: "antimic", "empeine", "fung", "tiña", "micot", etc.

Sometimes, a carefull analysis of the meaning of the original therapeutical indications has made necessary to work on the text of the original reference to "translate" the information, interpreting the popular language applied to the description of use, objective and supposed activity, clarifying the language and vocabulary used to describe the activity / use relationship and making and hypothesis on the activity of the plant, trying to glimpse the presence of substances with interesting pharmacological activity.

In general, the original words and expression have been respected, interpreted or translated. In some cases, an hypothesis has been elaborated on the probable activity of the plant. In these cases the corresponding field in the table has been signaled with an interrogation mark. We hope that the present work will be useful to those interested in the systematic pharmacological screening of plants that are looking for potential sources of new drugs from natural origin.

Conclusions

• The most cited illness related to fungi was "empeine" (Spanish). This word is used regularly, but is also considered a Spanish word.

- According to the recent data coming out of our data bank, the number of Argentine species recorded as used therapeutically (i.e. "medicinal") makes a total of 1.537 species.
- The analysis of the registered data for potential antifungal species showed that a total of 58 species growing in Argentina should be considered as antifungal candidates.
- The present work should be useful for those working on new drugs from natural origin.

Bibliographic References

- Anderson, D.M., Jefferson Keith, P. D., Novak, P.D. and Elliot, M.A. (Ed.). (1994), *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*, 28^a. Ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- Bandoni, A.L., Coussio, J.D. y Rondina, R.V.D. (1999). "Plantas Medicinales Argentinas (Base de Datos en soporte óptico)". III Ed. IQUIMEFA, Buenos Aires. (ISBN Nº. 987-43-4975-1).
- Bandoni, A.L., Coussio, J.D. y Rondina, R.V.D. (2002). "Plantas Medicinales Argentinas" (Base de Datos en soporte magnético)". IV Ed. IQUIMEFA, Buenos Aires. (ISBN Nº. 987-43-4975-1).
- Bandoni, A.L., Coussio, J.D.y Rondina, R.V.D. (1999). "*Plantas Medicinales Argentinas*" Base Datos en soporte óptico. IV Ed. IQUIMEFA, Buenos Aires. (ISBN N°. 987-43-4975-1).
- Bandoni, A.L., Coussio, J.D.y Rondina, R.V.D. (2002). "Plantas Medicinales Argentinas" (Base de Datos). IV Ed. IQUIMEFA, Buenos Aires. (ISBN N°. 987-43-4975-1).
- Basualdo, I. N., Soria, N., Ortiz, M. y Degen, R. (2003). "Plantas Medicinales Comercializadas en los Mercados de Asunción y Gran Asunción". *Rojasiana* 2003: 95-113.
- Burkart, A. (Director) (1978). "V Flora Ilustrada de Entre Rios (Argentina). Parte V Dicotiledóneas Metaclamideas: Primulales a Plantaginales". INTA. Buenos Aires.
- Burkart, A.(Director).(1987), Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina) Parte III Dicotiledóneas Arquiclamídeas A: Salicales a Rosales (Incluso Leguminosas). Coleccion Cientifica INTA. Buenos Aires.
- Bustos, D.A., Tapia, A.A., Feresin, G.E. and Ariza Espinar, L. (1996). "Ethnopharmacobotanical

- Survey of Bauchazeta District, San Juan Province, Argentina". *Fitoterapia* 67: 411-415.
- CABI, CYTED, FUND. KAA-IYA, UMSA, IRD, OEA, HNB y WCS (Ed.). (2002), Plantas del Chaco II. Usos Tradicionales Izoceño-Guarani. Industrias Gráficas Sirena, Santa Cruz.
- Chifa, C. y Ricciardi, A.I.A. (2001). "Plantas de uso en Medicina Vernácula del Centro del Chaco Argentino". *Miscelanea* 117: 3-34.
- Chifa, C., Ricciardi, A.I.A. y col. (Ed.), (2004), "Plantas Medicinales Usadas por las Comunidades Aborígenes del Chaco Argentino (castellano, mocovi, wichi, toba)". Editorial Universitaria (UNNE), R.S.Peña, Chaco.
- Dominguez, J.A. (1905). "Datos sobre la historia de la botánica en la República Argentina". *Rev. Farm.* 45: 146-150.
- Filipov, A. (1994). "Medicinal Plants of the Pilaga of Central Chaco". *Journal of Ethnopharmacology* 44: 181-193.
- Freire, S.E. y Urtubey, E. (1999). "Compuestas Medicinales de la Provincia Biogeográfica pampeana: Claves para su determinación e iconografía. Parte II Compuestas con capítulos isomorfos y papus piloso (Grupo 3)". *Acta Farm. Bonaer* 18 (4): 283-294.
- Freire, S.E. y Urtubey, E. (2000). "Compuestas Medicinales de la Provincia Biogeogràfica Pampeana: Claves para su determinacion e iconografias Parte V: Compuestas con capitulos dimorfos o trimorfos y con papus piloso (Grupos 6 y 7)". *Acta Farm. Bonaer* 19 (3):165-184.
- Gattuso, S.J. (2000). "Las Especies del Género *Polygonum* L. (Polygonaceae), Presentes en la Argentina, Utilizadas en Medicina Popular". *Rojasiana* 4(2): 118-143.
- Giberti, G.C. (1983). "Herbal folk medicine in nortwestern Argentina compositae". J. Ethnopharmacol. 7 (3): 321-341.
- Gonzalez, S.B. y Molares S. (2004). "Plantas Medicinales Utilizadas en Comunidades Rurales del Chubut, Patagonia Argentina" *BLACPMA* 3 (3): 58-62.
- Hieronymus, J. (1882). Planta Diaphoricae Florae Argentinae. *Bol. Acad. Cienc. Cordoba* 4: 199-598.
- Hilgert, N.I. (2001). "Plants Used In Home Medicine in the Zenta River Basin", Northwest Argentina". *J. Ethnopharmacol* 76: 11-34.
- Lahitte, H.B. y Hurrel, J.A. (Ed.). (1998). "Plantas

- medicinales rioplatenses utilizadas en medicina popular en la región del delta del Paraná, Isla Martín García y Ribera platense". L.O.L.A., Buenos Aires.
- Lahitte, H.B. y Hurrel, J.A. (Ed.). (2000a). "Biota rioplatense V Plantas trepadoras nativas y exóticas". L.O.L.A., Buenos Aires
- Lahitte, H.B. y Hurrell, J.A. (2000b). "Biota Rioplatense - Inventario Temático - Delta del Paraná, Isla Martín García y Ribera Platense". L.O.L.A. Buenos Aires.
- Lahitte, H. B. y Hurrell, J. A. (2004). "Plantas Medicinales Rioplatenses Plantas Nativas y Naturalizadas Utilizadas en Medicina Popular". L.O.L.A. Buenos Aires
- Martínez-Crovetto, R. (1964). Estudios Etnobotánicos I. Nombres de plantas y su utilidad, según los Indios Tobas del Este del Chaco. *Bonplandia* I: 279-333.
- Martínez-Crovetto, R. (1968). "Estudios Etnobotánicos III. Nombres de Plantas y su Utilidad, según los Indios Araucano-Pampas del Oeste de Buenos Aires". *Etnobiológica* (Fac. de Agronomía y Veterinaria, UNNE) 12: 1-24.
- Martínez-Crovetto, R. (1968). "Estudios Etnobotánicos. IV. Nombres de plantas y su utilidad según los indios Onas deTierra del Fuego. *Etnobiológica* (Fac. de Agronomía y Veterinaria, UNNE) 3:1-20.
- Martínez-Crovetto, R. (1981). "Plantas Utilizadas en Medicina en el Noroeste de Corrientes". *Miscelánea* (Fundación Miguel Lillo) 69: 7-139
- Martínez, M.R. y Pochettino, M.I. (1992). "The 'farmacia casera'. (household pharmacy): a source of ethnopharmacobotanical information" *Fitoterapia* 63(3): 209-216.
- Marzocca, A. (1993). *Manual de malezas*. IV Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Marzocca, A. (1998). *Vademecum de Malezas Medicinales de la Argentina. Indígenas y Exóticas*. Orientación Grafica Ed., Buenos Aires.
- Paccard, E. (1905). *Plantas Medicinales de las Republicas Oriental y Argentina*. Ed. Carneiro & Ramos. Montevideo.
- Paz, V. (1928). "Flora Santiagueña". Coni. Santiago del Estero.
- Ragonese, A.E. (1956). "Plantas Tóxicas para el Ganado en la Región Central Argentina". *Rev Fac Agron La Plata* (3a. Época) 31: 1.
- Rapoport, E.H., Margutti, L.S. y Sanz, E.H.(1997).

- "Plantas Silvestres Comestibles de la Patagonia Andina. Exóticas. Parte I". Universidad Nacional. del Comahue. Bariloche.
- Rapoport, E.H., A. Ladio y Sanz E.H. (2003). "Plantas Comestibles de la Patagonia Andina Argentino/Chilena. Parte I". Universidad Nacional del Comahue. Bariloche.
- Rapoport, E.H., A. Ladio, A. y Sanz, E.H. (2003). "Plantas Comestibles de la Patagonia Andina Argentino/Chilena. Parte II". Universidad Nacional del Comahue. Bariloche.
- Ratera, E.L. y Ratera, M.O. (1980). *Plantas de la Flora Argentina Empleadas en Medicina Popular*, Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Ricciardi, A.I.A., Caballero, N. de y Chifa, C. (1997). "Identificación botánica de plantas descriptas en 'Materia Medica Misionera' usadas en accidentes ofídicos". *Rojasiana* 3 (2): 239-245.
- Ricciardi, A.I. (1983). Trabajos presentados en el III Congreso Nacional de Recursos Naturales Aromáticos. SAIPA. Buenos Aires:167-171.
- Rojas Acosta, N. (1905). "Plantas Medicinales de Corrientes" *Rev Farm* 5: 115-145.
- Rojas Acosta, N. (1912). "Catalogo de las Plantas Medicinales del Chaco Austral" *Rev Farm* 55: 155-163
- Rondina, R.V.D., Bandoni, A.L. y Coussio, J.D. (Ed.). (1999). "Plantas Silvestres Argentinas con Reconocidas Propiedades Medicinales o Tóxicas. (Base de Datos en soporte optico)". I Ed. IQUIMEFA, CYTED-OEA, Buenos Aires (ISBN 987-43-6073-9).
- Rondina, R.V.D., Bandoni, A.L. y Coussio, J.D. (Ed.). (1999). "Plantas silvestres argentinas con reconocidas propiedades medicinales o tóxicas. (Base de Datos con soporte optico)". CYTED-OEA, Buenos Aires (ISBN 987-43-6073-9).
- Ruiz Leal, A. (1972). Flora Popular Mendocina Aportes al Inventario de los Recursos Naturales Renovables de la Provincia de Mendoza. Mendoza.

- Scarpa, G.F. (2002), "Plantas Empleadas Contra Trastornos Digestivos en la Medicina Tradicional Criolla del Chaco Noroccidental". *Dominguezia* 18: 36-50.
- Scarpa, G.F. (2004). "Medicinal Plants used by the Criollos of Northwestern Argentine Chaco". *J. Ethnopharmacol* 91: 115-135.
- Toursarkissian, M. (1980). "Plantas Medicinales de la Argentina: Sus Nombres Botánicos, Vulgares, Usos y Distribución Geográfica" Hemisferio Sur. Buenos Aires.
- Unidentified author(s). (1998). *Resúmenes. VI Simposio Argentino de Farmacobotanica*.
- Vuoto, P.M. (1981). "Plantas útiles entre los Toba-Taksek". *Entregas del Instituto Tilcara* 10: 12-76.
- Zuloaga, F.O. y Morrone, O. (Ed). (1996). "Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina. I -Pteridophyta, Gymnospermae y Angiospermae (Monocotyledoneae)", Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, Missouri.
- Zuloaga, F.O. y Morrone, O. (Ed). (1999). Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II- Acanthaceae-Euphorbiaceae (Dicotyledoneae). Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, Missouri: 1-622.
- Zuloaga, F.O. y Morrone, O. (Ed). (1999). Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II- Fabaceae-Zygophyllaceae (Dicotyledoneae). Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, Missouri: 623-1269.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the academic and financial support received from the Universidad de Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Organización de los Estados Americanos (OEA) and CYTED (Ciencia y Tecnología para el Desarrollo). No financial or support for this study was provided by any corporate sponsor.

Preparación y envío de imágenes digitales a una publicación científica

Digital Image Preparation for Submission to a Scientific Publication

Ricardo A. Dorr

Docente e investigador en el área de Ciencias Biológicas y editor independiente de libros y revistas. Correo electrónico: RADediciones@yahoo.com.ar

La publicación de un trabajo científico –culminación de un período de intensa dedicación metodológica – demanda a los autores un arduo trabajo de escritura para lograr presentar a sus lectores los resultados experimentales en forma clara y unívoca y aportar conclusiones originales y veraces. Así mismo, los investigadores deben considerar el envío del material en una forma acorde con las características solicitadas por cada editorial, sea su destino final el formato digital o el impreso sobre papel.

En general, los editores informan acerca de las normas que hay que seguir para la presentación de un artículo. Así, quedan establecidos, entre otras especificaciones, el idioma en el que debe ser escrito el trabajo, el número máximo de palabras que puede figurar en el *Abstract*, y el orden en que deben aparecer secciones como Materiales, Resultados y Conclusiones. Como muestra, vale consultar las "Normas para los autores" que establece *Dominguezia*.

Las publicaciones científico-técnicas suelen dar indicaciones no solo para la presentación del texto, sino que también incluyen las normas para las ilustraciones que lo integran. Hasta hace unos años, previos a la revolución digital que comenzó a fines del siglo pasado, el texto y las figuras de los papers eran remitidos a la editorial por correo postal y en soporte papel. Hoy día es casi universal el pedido para enviar el material completo en formato digital. Debido a la variedad de hardware y software utilizados para la confección de los documentos científicos, se impone pautar la entrega del material en determinados formatos estándar (aunque está visto que los estándares cambian y se reemplazan en forma muy acelerada, de acuerdo con los avances tecnológicos en permanente evolución).

Es común que la parte correspondiente al texto escrito sea presentado en un archivo de formato

DOC (abreviatura de *Document*, utilizado por el procesador de textos *Word* de la empresa Microsoft), aunque también se aceptan otros formatos, como el RTF (abreviatura de *Rich Text Document*). Los diagramadores no suelen encontrar inconvenientes para trabajar con el texto enviado con estos formatos, más allá de tener que resolver algunos problemas, como el uso incorrecto de espaciados, o de símbolos que cambian según la tipografía utilizada.

Distinto es el caso de las ilustraciones digitalizadas, porque aquí importa tanto el formato en que se las envía como la manera en que fueron elaboradas. En consecuencia, basados en nuestra experiencia profesional, nos proponemos presentar una serie fundamentada de consejos y sugerencias sobre la preparación y el envío de imágenes digitales. Su aplicación dista de ser compleja, y es probable que redunde de manera ostensible en la calidad del material publicado. Además, favorece el ahorro de tiempo y esfuerzo, tanto de los científicos que preparan el material como de los encargados de la diagramación del artículo.

Tipos de imágenes digitales

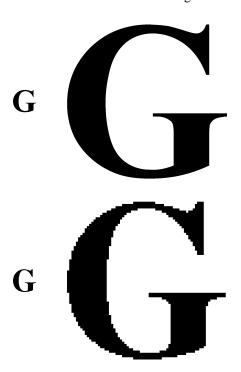
Como introducción al tema, señalamos que, a grandes rasgos, las imágenes digitales corresponden a una de dos categorías.

La primera comprende las imágenes que están formadas por puntos discretos, que a la distancia se ven como un continuo. Es semejante a una pintura de la escuela puntillista: si el observador se acerca al cuadro, verá los puntos individuales que la conforman, pero, a la distancia, la sensación es la de continuidad de la imagen. Este es el caso de las fotografías digitales, las ilustraciones escaneadas o las realizadas en programas que manejan estas imágenes (como el conocido *Photoshop* de la empresa

Adobe). Puede imaginarse una de estas imágenes como si fuera una rejilla de rectángulos, relleno, cada uno, por un elemento particular. A este tipo de imágenes digitales se las conoce como imágenes matriciales, imágenes "rasterizadas", imágenes bitmap, o mapas de bits. Se las suele caracterizar por el número de elementos horizontales y verticales que la componen (cada elemento es un píxel, acrónimo del inglés Picture Element) y también por su profundidad de color (el número de colores posibles o gama tonal que se puede almacenar en cada píxel).

La segunda categoría de imágenes digitales es la de los gráficos vectoriales. En este caso, la imagen se describe y representa matemáticamente por medio del uso de objetos geométricos, y no por el número de elementos individuales que la componen; no obstante, en el momento de su presentación visual en una pantalla o en forma impresa, se utilizan elementos individuales para su reproducción.

Gráfico 1.- Diferencia entre imagen vectorial y matricial



Si una imagen vectorial (imagen superior) se agranda, su representación no perderá calidad. Distinto es el caso de una imagen matricial (imagen inferior), pues llegará un momento en el que se distinguirán claramente los elementos que la conforman, y los bordes presentarán el conocido efecto serrucho.

En consecuencia, como ejemplo práctico y para resaltar las diferencias entre ambos tipos de imágenes, si a una imagen compuesta por píxeles se la agranda paulatinamente, llegará un momento en el que se distinguirán en forma conspicua los elementos que la conforman. En el caso de una imagen vectorial, aunque la imagen se agrande, no se perderá definición en su representación visual (Gráfico 1).

Trabajo con imágenes

De acuerdo con lo expuesto, podemos concluir que es preferible presentar una imagen vectorial frente a una matricial a los fines de mantener la calidad en su representación. Sin embargo, hay casos en que la única posibilidad de que se dispone es presentar una imagen matricial, como es el de una fotografía digital tomada a un espécimen biológico; en otros, deben combinarse gráficos matriciales y vectoriales en la misma composición.

Lo realmente importante no radica en el tipo de imagen digital que se utiliza, sino que se tengan en cuenta una serie de pautas para no degradar la imagen en el momento de su representación impresa o en una pantalla, y que se optimicen los recursos utilizados.

La resolución

La palabra resolución se usa de diversas maneras, hecho que da lugar a confusiones semánticas.

Para el ojo humano la resolución depende del número de receptores que mandan la señal óptica del ojo al cerebro, y de cómo el cerebro interpreta esta señal. Nuestro ojo no es capaz de discernir puntos que estén separados a menos de entre 0,1 y 0,2 mm (aunque con la ayuda de una lupa es posible ver los elementos individuales que forman una imagen impresa en una revista o mostrada en la pantalla de un monitor).

Desde el punto de vista digital, resolución es la cantidad de detalles e información que contiene un archivo de imagen.

Por otra parte, resolución también se relaciona con el nivel de detalle que puede producir un dispositivo de entrada (como un escáner), o de salida (como una impresora, un monitor o un proyector).

Resolución de un archivo digital

En una fotografía digital o en una imagen escaneada, la resolución hace referencia a cuántos píxeles componen la imagen, y cuanto más píxeles lo hagan, la capacidad de capturar los detalles finos es mayor. Para ejemplificar, en iguales condiciones de número de colores posibles por píxel, si un motivo es capturado en una matriz de 640 casilleros horizontales y 480 verticales (en total 307.200 píxeles), la imagen tendrá menos detalles que si se lo hubiera capturado en una matriz de 1.920 x 1.440 casilleros (en total 2.764.800 píxeles).

Resolución de salida

En el proceso de mostrar la imagen, ya sea sobre papel, una pantalla o cualquier otro medio, hay que considerar cuántos elementos se pueden colocar por unidad de longitud para considerar las calidades de reproducción.

Si la salida a la que hacemos referencia es la de un monitor, se debe tener en cuenta que los píxeles de la imagen son traducidos directamente como píxeles en el monitor (en una representación 1:1), y que generalmente se utilizan 72 ó 96 píxeles por pulgada¹.

En el caso de la impresión sobre papel, cada elemento es un punto. Cuando hablamos de puntos, hablamos de los puntos individuales de tinta o de tóner que aplica una impresora. Por ejemplo, se habla de una impresión a 300 puntos por pulgada (300 ppp si usamos su abreviatura en español, o 300 dpi si usamos la abreviatura inglesa de *dots per inch*). Suelen suscitarse confusiones en torno a los términos punto y píxel, que quizás se aclararían pensando en términos de puntos para impresoras y de píxeles para los monitores.

En la impresión en color o en escala de grises, el número de puntos por pulgada que una impresora color debe colocar sobre el papel tiene que ser mayor que el número de píxeles que se pretende representar, pues mientras que en un monitor de vídeo cada punto representa uno de entre millones de

colores, en las impresoras existe la limitante de los colores de tinta disponibles. Es impracticable que el usuario de una impresora de escritorio disponga de millones de tintas de distintos colores para imprimir una imagen que los requiera. Entonces la solución pasa por utilizar pocas tintas, pero de tal forma que se da, a quien percibe la imagen, la sensación de continuidad y de variación de tonalidades. Muchas impresoras utilizan, por ejemplo, solo cuatro tintas para representar el abanico de tonalidades (es el llamado modelo de color CMYK, donde las cuatro tintas utilizadas son la cian, la magenta, la amarilla y la negra). Entonces, para ofrecer mavor variedad cromática, las impresoras intentan representar un píxel con varios puntos de tinta de un solo color cada uno, pero que, en conjunto y a la distancia del observador, imiten el valor cromático que ofrece la pantalla de la computadora o la realidad. Sin entrar en detalles, una solución semejante se utiliza en las imprentas profesionales que utilizan tecnología offset para la impresión de una revista científica.

Si se usan imágenes de resolución muy baja para imprimir en dispositivos de alta resolución, el resultado puede ser la "píxelación" en la imagen impresa, cuando aparecen muy visibles los puntos que la componen y los bordes presentan un efecto de serrucho (con un resultado semejante al mostrado en el gráfico 1). En cambio, si la imagen tiene demasiada resolución y la impresora es incapaz de reproducir los detalles extras, se incrementa el tamaño del archivo, la dificultad de su transporte digital, y se enlentece la impresión sin mejorar la calidad de la representación. Evidentemente la clave está en la búsqueda de un punto de equilibrio entre la calidad y la optimización de los archivos utilizados.

Formato de archivos digitales matriciales

Cuanto mayor es la resolución de una imagen digital del tipo mapa de bits, mayor número de datos se almacenan en la descripción de la imagen. Para facilitar el almacenaje y el traslado de esta información se desarrollaron algoritmos de compresión de datos. Generalizando, estos pueden ser de dos tipos: los que al comprimir la información dejan de lado parte de los datos del archivo original, o los que realizan compresión sin pérdida de información.

¹ La resolución de la imagen suele indicarse en términos de cantidad de elementos por unidad de longitud en el sistema anglosajón de unidades. Una pulgada equivale a 2,54 cm.

Al primer grupo pertenece el algoritmo que se utiliza en la obtención de los conocidos archivos JPEG o JPG, siglas de *Joint Photographic Experts Group* (nombre del equipo que desarrolló este formato). Un dato importante que se debe considerar es que la pérdida de calidad se acumula. Es decir, si se comprime una imagen, luego se la descomprime para editarla, y luego se vuelve a comprimir y descomprimir una y otra vez, se irá acumulando la pérdida de calidad. La compresión con pérdida no es recomendable, principalmente en imágenes que tienen textos, líneas y grandes áreas de colores sólidos.

Por eso, los expertos en diagramación recomiendan el uso de archivos con formato TIFF (de *Tagged Image File Format* o formato de archivo de imágenes con etiquetas). El algoritmo utilizado para dar este formato puede comprimir la imagen, pero sin perder información; por lo tanto, no hay degradación de calidad aunque se edite y se vuelva a editar una y otra vez.

En el caso en que la imagen original se encuentre en formato JPEG (como el que presentan muchas de las actuales cámaras digitales), es conveniente convertir el archivo al formato TIFF antes de comenzar su edición.

Preparación del material

¿Qué decisiones tomar, entonces, en el momento de preparar una imagen de mapas de *bits* para publicar en una revista científica? En primer lugar se debe evaluar el medio en el cual va a ser presentada. Por ejemplo, una imagen de 2 x 2 pulgadas con una resolución de 96 ppi contiene un total de 36.864 píxeles, y alcanza para reproducirla correctamente en una pantalla en su tamaño original. Pero si la misma imagen quiere reproducirse en el mismo tamaño sobre papel a 300 dpi, debería tener un total de 360.000 puntos representables.

No alcanza con modificar artificialmente la resolución de la imagen original preparada para la pantalla y enviarla para ser impresa en papel. Si con un programa editor de imágenes se la manipulara de esta forma, se estarían agregando 323.136 elementos "falsos" a la imagen (360.000 necesarios versus 36.864 reales), sin ganar en verdadera calidad.

Por otra parte, cuantos más píxeles formen una imagen matricial, y cuanta más profundidad de color tenga, el archivo que la contenga será de mayor tamaño. Como se expresó, cuanto más grande sea el archivo, son necesarios más poder de procesamiento y más tiempo para editar la imagen. Además, se requiere mayor espacio para su almacenamiento y utiliza más recursos en su viaje por una red informática.

Actualmente es común contar con cámaras fotográficas digitales con sensores de 10 megapíxeles o más, es decir, sensores que armarán la imagen con 10 millones de puntos. Pero no siempre es necesario hacer una toma con esa resolución. Se puede fotografíar la misma imagen con una cámara digital a distintas resoluciones, y cuanto menor es la resolución utilizada, menor es el tamaño del archivo resultante. En un monitor de computadora, por ejemplo, la calidad de visualización de una imagen de 1.024 píxeles horizontales por 768 píxeles verticales (un total de 786.432 píxeles) es más que aceptable.

Como conclusión, lo correcto es tener desde el comienzo, una imagen con el número de píxeles necesarios para su óptima representación en el medio elegido, sea digital o impreso.

Algunas editoriales prefieren el envío de las imágenes en el espacio de color CMYK cuando el destino es la impresión sobre papel, en lugar del RGB (red, green, blue), que es el usado por los monitores de computadora. La conversión de un espacio de color en otro puede hacerse con los programas de edición de imágenes.

En cuanto al formato vectorial, el estándar para el envío de archivos es el EPS (de *Encapsulated Postscript* o *Postscript* encapsulado), por lo que se recomienda exportarlo de esta manera, independientemente del formato propio del *software* de ilustración que se haya utilizado para confeccionarlos,.

El formato PDF

Un formato muy utilizado para el almacenamiento digital de documentos es PDF (*Portable Document Format*, o formato de documento portátil), desarrollado por la empresa Adobe. Este es del tipo compuesto, donde confluyen imágenes vectoriales, de mapa de bits y también texto. Un archivo PDF se obtiene al imprimir desde una aplicación a una impresora virtual (simulada por *software*), que construye el archivo. En general, el *software* optimiza el archivo PDF al indicarse el medio y el fin para el que se arma: si se representará en la pantalla, si su

Tabla 1 Recomendacione	s específicas para	cada tipo de imagen
------------------------	--------------------	---------------------

Tipo de imagen	Resolución recomendada (dpi)	Formato de archivo recomendado
Matricial, en blanco y negro	600/1200	TIFF
Matricial, en escala de grises	300	TIFF
Matricial, en color	300	TIFF
Fotografía digital	300	TIFF
Escaneado	300	TIFF
Vectorial	_	EPS

Las resoluciones recomendadas presuponen la reproducción de la imagen en su tamaño original con tecnología *offset*. Si la imagen se reproduce en tamaño mayor, deberá aumentarse proporcionalmente la resolución utilizada.

calidad corresponderá a la de un libro electrónico, si se está armando un archivo para imprimirse en offset, etcétera. En el caso en que la editorial sugiera el envío de las ilustraciones en este formato, se deberá cuidar que el archivo se construya manteniendo la calidad requerida en sus imágenes, y también que no haya compresión con pérdida de datos o que no se disminuya la resolución original. Como hay una gran variedad de software que se utiliza para "imprimir" un archivo PDF, resulta complicado generalizar los pasos que se deben seguir para obtener un buen resultado, por lo que sugerimos consultar cada manual en particular. Como regla general, si el software lo permite, hay que seleccionar la opción de construir un PDF para preprensa (o preimpresión).

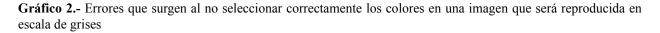
Conclusiones

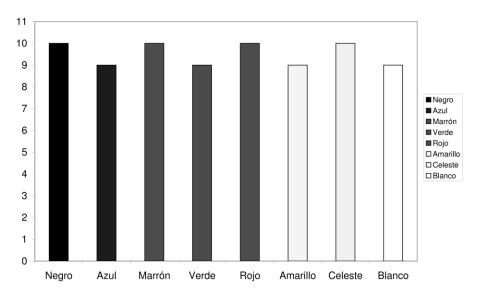
Como corolario, quisiéramos resumir en una serie de consejos los puntos esenciales que se deben tener en cuenta para un correcto envío de las ilustraciones digitales que forman parte del artículo científico.

1. En primer término, se deberán seguir las especificaciones sugeridas por cada editorial en particular, pues hay variantes según la tecnología de reproducción que cada una de ellas utiliza. No obstante, nuestras sugerencias globales, cuando la imagen va a ser impresa sobre papel utilizando tecnología *offset*, se presentan en la tabla 1. Es muy impor-

tante tener en cuenta que las especificaciones son para los casos en que se respeta la relación 1:1 entre el tamaño original de la imagen y su tamaño final impreso.

- 2. Se debe evaluar correctamente el tipo de imagen que se utiliza (matriz o vectorial), según lo que se quiera representar.
- 3. Es recomendable el uso de programas adecuados para confeccionar las ilustraciones: un editor de imágenes para imágenes matriciales, o un programa especializado de ilustraciones para los vectoriales, o la combinación de ambos. Si se utiliza para el armado de las figuras un programa que en realidad está preparado para presentaciones en pantalla (como el conocido "PowerPoint" de Microsoft), generalmente no se alcanzan las especificaciones mínimas para la impresión. Tampoco hay que enviar las imágenes como parte de un documento hecho en procesador de texto (como Word), porque se degrada la calidad.
- 4. Si el elegido es el formato matricial, no debe editarse y reeditarse la imagen en formato JPG. Utilizar, en cambio, el formato TIF.
- 5. Si lo que se necesita es una imagen en escalas de grises, cuidar de que no se esté trabajando con un espacio de color diferente, como CMYK o RGB. Es común que se envíe una imagen en escala de grises como una imagen en color, lo que implica un aumento considerable en el tamaño del archivo. Los programas de edición de imágenes permiten la conversión de un espacio de color a uno de escala de grises.





En un gráfico en colores, cada barra es perfectamente identificable. Al reproducirse en escala de grises, el mismo gráfico no permite diferenciar varias barras entre sí.

6. Seleccionar correctamente los colores que se utilizan en los gráficos. Si se diseña un gráfico en color, pero se lo imprime en escala de grises, la conversión de un sistema de color a otro puede provocar que dos colores perfectamente diferenciables sean indistinguibles al convertirse en grises (Gráfico 2).

7. Los programas de edición permiten ajustar el tamaño y la resolución de las imágenes. Esto es útil cuando se trabaja con fotografías digitales, ya que es común que al abrirlas se indique que su

resolución es 72 dpi y no 300 dpi, con la cual se quiere trabajar. En este caso, puede convertirse a 300 dpi, pero con cuidado de no "remuestrearla" (*resample*): se obtendrá el cambio de resolución con una adaptación de su tamaño (se reducirá 4,16 veces).

8. Por último, considerar que siempre es conveniente trabajar, desde un principio, con las imágenes en el tamaño y la resolución que finalmente serán necesarios para su reproducción.



Índice acumulado

Dominguezia 24(1) 2008

- El Archivo Bonpland en el Museo de Farmacobotánica "Juan Aníbal Domínguez" (Gustavo C. Giberti)
- Taxonomía y biología de los primeros registros de acrásidos en la República Argentina (Eduardo M. Vadell)
- Farmacopea natural y tratamiento de afecciones de la piel en la medicina tradicional de los campesinos de las sierras de Córdoba (República Argentina) (Gustavo J. Martínez)
- Especies medicinales argentinas con potencial actividad analgésica (Rubén V. D. Rondina, Arnaldo L. Bandoni y Jorge D. Coussio)

Dominguezia 24(2) 2008

Etnofarmacobotânica. Metodologia de pesquisa (Maria Thereza Lemos de Arruda Camargo)

- Anatomía floral comparada de once especies sudamericanas de *Ilex* L. (*Aquifoliaceae*) relacionadas con la yerba mate (Gustavo C. Giberti y Alberto A. Gurni)
- Acción insecticida de extractos de *Picrasma crenata* (Vell.) Engl. (Simaroubaceae) en el gorgojo del arroz, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera, Curculionidae) (Silvia M. Rodríguez, Marcela I. Moreira, Rosana A. Giménez, Serafina Russo, Adolfo M. Márquez, Rafael A. Ricco, Alberto A. Gurni y Marcelo L. Wagner)

El libro impreso frente a la encrucijada electrónica (Susana Romanos)

Dominguezia 25(1) 2009

- Cambios anatómicos y estudios histoquímicos en las raíces de plantas micropropagadas del portainjertos de *Prunus* Gf 655/2 (Patricia E. Perelman y Cristina Dizeo de Strittmatter)
- Análisis multivariado de las proteasas de la familia *Asclepiadaceae* (Constanza Liggieri, Marina L Sardi, David Obregón, Susana Morcelle del Valle y Nora Priolo)
- Flavonoides de especies argentinas del género *Tripodanthus* (Eichl.) Tiegh. (Loranthaceae) (Marcelo L. Wagner, Rafael A. Ricco, Fernando G. Ranea Alberto A. Gurni)