

Química y farmacología de una planta medicinal argentina: *Artemisia copa*

Valeria A. Moscatelli*

Cátedra de Farmacognosia, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956 2º piso (1113)
Buenos Aires, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: valmosca@ffyb.uba.ar

Compendio de tesis

Lugar y fecha de aprobación de la tesis:

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, 6 de junio de 2013.

Resumen

Artemisia copa Phil. (Asteraceae) crece en el Noroeste de la Argentina y Norte de Chile. Tradicionalmente se usa para dolores reumáticos, disminuir la presión arterial, dolor de estómago, neumonías, resfríos y como sedante. Con el propósito de estudiar la composición química de *A. copa* se realizó el análisis fitoquímico de los extractos diclorometánico, etanólico y de la infusión. En el extracto diclorometánico de *A. copa* se identificaron escopoletina, jaceosidina, espinacetina, penduletina, axilarina y tricina. En el extracto etanólico y la infusión, isovitexina, ácido p-cumárico, luteolina y crisoeriol. En el extracto etanólico se identificó además, luteolina-7-metil-éter. Todos los compuestos aislados, excepto luteolina, fueron informados por primera vez para esta especie vegetal. No se detectó la presencia de artemisinina, presente en *Artemisia annua* L., por cromatografía en capa delgada. Teniendo en cuenta los usos de *A. copa* en la medicina tradicional, se evaluó su actividad analgésica y antiinflamatoria (sistémica y local), su actividad sobre el sistema nervioso central, y su actividad espasmolítica, en modelos animales. La infusión mostró actividad analgésica. Los extractos diclorometánico y etanólico exhibieron actividad antiinflamatoria local. En los ensayos para determinar la actividad antiinflamatoria *in vitro*, los flavonoides aislados de *A. copa*, espinacetina, jaceosidina, axilarina, crisoeriol, penduletina y tricina inhibieron la producción de mediadores relevantes en la respuesta inflamatoria. Jaceosidina resultó el más activo. La infusión de *A. copa* mostró actividad ansiolítica y anticonvulsivante en los ensayos realizados para evaluar su actividad sobre el sistema nervioso central en animales. La infusión exhibió además, actividad espasmolítica en el ensayo de yeyuno aislado de rata, predominantemente por el bloqueo de canales de calcio. Crisoeriol, luteolina, y espinacetina resultaron activos ejerciendo su acción por este mecanismo.

Palabras clave: *Artemisia copa* - flavonoides - actividad analgésica - actividad antiinflamatoria - actividad espasmolítica - actividad ansiolítica - actividad anticonvulsivante.

Key words: *Artemisia copa* - flavonoids - analgesic activity - anti-inflammatory activity - spasmolytic activity - anxiolytic activity - anticonvulsant activity.

Chemistry and Pharmacology of an Argentinian Medicinal Plant: *Artemisia copa*

Summary

Artemisia copa Phil. (Asteraceae) grows in the Northwest of Argentina and in the North of Chile. This plant is used in popular medicine for rheumatic and gastric pains, hypertension, pulmonary diseases, and as a sedative agent. In order to study the chemical composition of *A. copa*, phytochemical analysis of dichloromethanic, ethanolic and aqueous extracts were performed. Scopoletin, jaceosidin, spinacetin, penduletin, axillarin, and triclin were identified in the dichloromethane extract. Isovitexin, p-cumaric acid, luteolin, and chrysoeriol were found in the infusion and ethanol extract. Luteolin 7-methyl ether was also identified in ethanol extract. The above-mentioned compounds, except for luteolin, were reported for the very first time for this plant species. Artemisinin was not detected. Taking into account the uses of *A. copa* in traditional medicine, analgesic and anti-inflammatory activity (systemic and local) were evaluated, as well as, activity on the central nervous system, and spasmolytic activity in animal models. The infusion showed antinociceptive activity. Dichloromethanic and ethanolic extracts exhibited topical anti-inflammatory activity. Flavonoids isolated from *A. copa*, spinacetin, jaceosidin, axillarin, chrysoeriol, penduletin, and triclin, inhibited the production of inflammation mediators in an *in vitro* assay. Jaceosidin was the most active compound. *A. copa* infusion showed anxiolytic and anticonvulsant action in tests performed to show its activity on the central nervous system in mice. The infusion exhibited spasmolytic activity in isolated rat jejunum, predominantly by blocking calcium channels. Chrysoeriol, luteolin, and spinacetin, were also active in that test, exerting their action by the same mechanism.

Introducción

Desde su origen, el hombre ha utilizado los vegetales para diversos fines, como alimentarse, cubrirse, construir sus viviendas, para sus manifestaciones artísticas y religiosas, y también para tratar sus enfermedades (Schenkel y col., 2000).

Hasta el siglo XIX las plantas y sus extractos constituían la base de la mayoría de los medicamentos. El comienzo del siglo XX, con los avances que experimentó la ciencia, registró una tendencia a utilizar los principios activos aislados en lugar de los extractos, y así impulsó el desarrollo de la química orgánica.

Actualmente, hay fármacos con importancia terapéutica que se siguen obteniendo de materias primas vegetales. Tal es el caso por ejemplo, de la artemisinina, compuesto con acción antimalárica obtenido de *Artemisia annua* L. (Asteraceae).

La búsqueda de nuevos fármacos a partir de plantas medicinales cobra nuevamente importancia debido al desarrollo de nuevos métodos de *screening* y al avance

que lograron la cromatografía y la espectroscopía en el aislamiento y la identificación de compuestos (Schenkel y col., 2000).

En la Argentina existen numerosas especies vegetales que se utilizan tradicionalmente desde hace centurias en el tratamiento de diferentes afecciones. No obstante, su uso es empírico, y en la mayoría de los casos no hay estudios científicos que convaliden su uso. De ello surge la necesidad de estudiarlas desde el punto de vista fitoquímico y farmacológico para evaluar sus compuestos activos, sus propiedades terapéuticas y su eventual toxicidad.

La familia Asteraceae es la más numerosa de las familias de plantas con flores. Esta familia presenta alrededor de 1.000 géneros y 20.000 especies, que crecen en todos los continentes, a excepción del Antártico. Son muy abundantes en zonas áridas y montañosas, y escasas en selvas tropicales bajas. La mayoría de las especies son hierbas o arbustos, aunque algunos géneros presentan especies arbóreas.

También pertenecen a esta familia algunas enredaderas y lianas.

En la Argentina crecen en forma espontánea aproximadamente alrededor de 200 géneros con 1.400 especies. En América del Sur constituyen hasta un 20 % de la flora en algunas zonas andinas y en la Patagonia (Cabrera, 1978).

Muchas estructuras de compuestos activos, descubiertas por primera vez en las Asteraceae, han servido de modelo para la síntesis de moléculas biológicamente activas y han llevado al estudio de la actividad de compuestos análogos. La investigación sistemática, quimiotaxonómica y farmacológica ha renovado la importancia de esta familia, que al ser tan rica en metabolitos secundarios, resulta de gran importancia como fuente de principios activos con posible aplicación terapéutica.

El género *Artemisia* es el más grande de la tribu *Anthemideae*, debido a que reúne 400 especies. En la Argentina crecen 9 especies: *A. abrotanum* L., *A. absinthium* L., *A. annua* L., *A. douglasiana* Bess., *A. verlotiorum* Lamotte (adventicias); *A. copa* Phil. y *A. magellanica* Sch. Bip. (nativas); *A. echeagarayi* Hieron. y *A. mendozaana* DC (endémicas) (Freire y Ariza Espinar, 1999).

Dentro del género, las diferentes especies presentan diversas actividades biológicas, entre las que se incluyen antimalárica, hepatoprotectora, antifúngica, antibacteriana, antioxidante y citotóxica (Bora y Sharma, 2011).

A. copa, conocida comúnmente como “copa”, “copa-copa”, “copa-tola”, “copal” (Figura 1), crece en las zonas más secas de las montañas y punas del Noroeste de la Argentina, desde la Provincia de Jujuy hasta San Juan, entre 3.000 y 4.700 m sobre el nivel del mar, y en el Norte de Chile (Cabrera, 1978). La infusión de las partes aéreas de “copa-copa” es utilizada en medicina tradicional para el tratamiento de resfríos, neumonía, hipertensión, dolores estomacales y por sus propiedades digestivas y sedantes (Giberti, 1983; Montes y Wilkomirsky, 1985; Pérez De Nucci, 1988). Sus hojas se emplean en fricciones con alcohol, para dolores reumáticos (Ratera y Ratera, 1980).

Este trabajo de investigación se realizó con el propósito de estudiar la composición química de *A. copa*, determinar las actividades farmacológicas relacionadas con su uso etnomédico, y conocer los principios activos responsables de las actividades ensayadas.

Figura 1.- *Artemisia copa* Phil. (Asteraceae)



Fuente: Instituto de Botánica Darwinion-IBODA, CONICET.

Desarrollo experimental, resultados y discusión

El material vegetal utilizado en este trabajo fue recolectado en la provincia de Jujuy en abril de 2001. Un ejemplar de herbario se encuentra depositado en el Museo de Farmacobotánica “J. A. Domínguez” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires bajo el número BAF 100313.

Para el estudio fitoquímico y la determinación de las actividades biológicas, las partes aéreas secas y molidas de *A. copa* se extrajeron con diclorometano por maceración durante 24 horas a temperatura ambiente. El marco del extracto diclorometánico se dejó secar y se extrajo de igual manera con etanol al 80 %. Por otro lado, se preparó una infusión al 10 % P/V de la droga vegetal.

Los extractos diclorometánico y etanólico se fraccionaron por cromatografía de exclusión utilizando columnas de Sephadex LH 20 como fase estacionaria y mezclas de diclorometano: metanol como solventes de elución. El seguimiento de las de las columnas para el análisis cualitativo de las fracciones, se realizó por cromatografía en capa delgada (CCD), y se emplearon dos sistemas cromatográficos. En el primer sistema se utilizó sílica gel 60 F₂₅₄ como fase estacionaria, y tolueno-acetato de etilo-ácido fórmico (5:4:1) como fase móvil. En el segundo sistema se empleó celulosa UV₂₅₄ como fase estacionaria, y ácido acético al 40 % como fase móvil. El revelado de los cromatogramas se realizó mediante luz UV a 254 y 366 nm y por exposición a vapores de amoníaco. Luego se revelaron por aspersión con el reactivo NPR (Natural Product reagent: 1 g del éster 2 amino-etil-difenilbórico disueltos en 100 ml de metanol) y posterior secado de la placa bajo aire caliente y observación a luz la UV de 366 nm (Wagner y Bladt, 1996).

Se reunieron las fracciones que resultaron idénticas cromatográficamente, y las que fueron de interés, fueron sometidas a cromatografía preparativa en papel para el aislamiento y la purificación de los compuestos presentes. Dada la naturaleza flavonoide de los compuestos aislados, su identidad fue determinada por espectroscopía UV y sus respectivos desplazamientos salinos, y por espectroscopía de masa.

Del extracto diclorometánico se aislaron e identificaron la cumarina escopoletina, y 5 flavonoides: espinacetina, jaceosidina, axilarina, penduletina y tricina. Del extracto etanólico se aislaron los flavonoides luteolina, luteolina-7-metil-éter y crisoeriol (Moscatelli y col, 2006) (Figura 2).

Escopoletina, luteolina y crisoeriol fueron identificados además, por CCD contra sustancias de referencia en tres sistemas cromatográficos.

Para la identificación de escopoletina se utilizó sílica gel 60 F₂₅₄ como fase estacionaria, y tolueno-acetato de etilo-ácido fórmico (5:4:1),

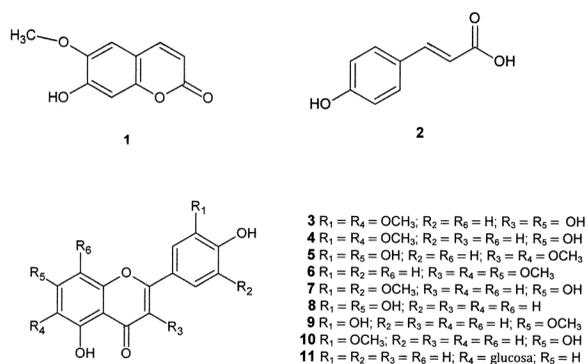
cloroformo-metanol (97:3), y benceno-acetona (90:10) como fases móviles para cada uno de los sistemas respectivamente.

Para el caso de luteolina se utilizó, en el primer sistema, sílica gel 60 F₂₅₄ como fase estacionaria, y tolueno-acetato de etilo-ácido fórmico (5:4:1) como fase móvil. Para el segundo y tercer sistemas se empleó celulosa UV₂₅₄ como fase estacionaria, y terbutanol-ácido acético-agua (3:1:1) y ácido acético 40 % P/V como fases móviles para cada sistema respectivamente.

Para la identificación de crisoeriol se empleó, para los primeros dos sistemas, sílica gel 60 F₂₅₄ como fase estacionaria y tolueno-acetato de etilo-ácido fórmico (5:4:1) y diclorometano-acetato de etilo (60:40) como fases móviles. En el tercer sistema se utilizó celulosa UV₂₅₄ como fase estacionaria y ácido acético 40 % P/V como fase móvil.

El extracto etanólico y la infusión se analizaron por cromatografía de alta eficiencia (CLAE) donde se identificaron, además de luteolina y crisoeriol, isovitexina y ácido p-cumárico en ambos extractos (Figura 2).

Figura 2.- Estructuras químicas de los compuestos aislados



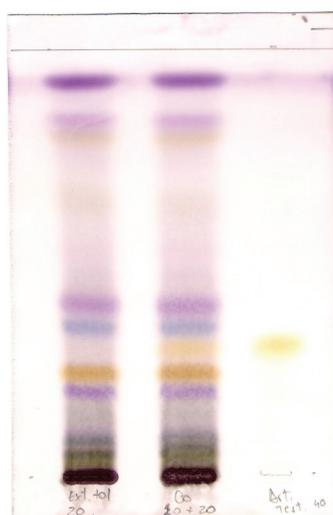
1: escopoletina; **2:** ácido p-cumárico; **3:** espinacetina; **4:** jaceosidina; **5:** axilarina; **6:** penduletina; **7:** tricina; **8:** luteolina; **9:** luteolina-7-metil-éter; **10:** crisoeriol; **11:** isovitexina.

Por otra parte, se preparó por maceración un extracto toluénico del material vegetal para investigar por CCD la presencia de artemisinina; se emplearon tres sistemas cromatográficos. Se utilizó sílica gel

60 F₂₅₄ como fase estacionaria y n- hexano-éter etílico (24:20), éter de petróleo 35 °C - 40 °C-acetato de etilo (2:1), y acetona-cloroformo (30:40) como fases móviles para cada sistema respectivamente. El revelado se realizó con el reactivo anisaldehído sulfúrico (Wagner y Bladt, 1996).

La artemisinina es una lactona sesquiterpénica utilizada para tratar el paludismo que está presente en una especie vecina, *Artemisia annua*. En el extracto toluénico de *A. copa* no se detectó su presencia en ninguno de los sistemas cromatográficos ensayados (Figura 3).

Figura 3.- Co-cromatografía del extracto toluénico de *A. copa* frente a testigo de artemisinina



Sistema cromatográfico: FE sílica gel 60 F 254, FM: n- hexano: éter etílico (24:20). Revelado: reactivo anisaldehído sulfúrico.

Al no haber estudios previos en bibliografía que avalen los usos informados para esta especie vegetal en la medicina tradicional, se realizaron ensayos para determinar la actividad analgésica, la actividad antiinflamatoria *in vivo* e *in vitro*, la actividad sobre el sistema nervioso central y la actividad espasmolítica.

Dado que *A. copa* se utiliza en medicina tradicional para dolores reumáticos (Ratera y Ratera, 1980), se decidió realizar el estudio de la actividad antinociceptiva de la infusión. Esta actividad se evaluó utilizando modelos experimentales en ratón,

que inducen el dolor mediante estímulos químicos, como el ensayo de las contorsiones inducidas por ácido acético (Collier y col., 1968) y el ensayo de la formalina (Hunskaar y Hole, 1987) y estímulos térmicos, como el ensayo de la platina caliente (Eddy y Leimbach, 1953).

La inyección intraperitoneal de una solución al 1 % de ácido acético produce contorsiones abdominales en ratones. Los animales pretratados con la infusión de *A. copa* a dosis de 500 y 1.000 mg/kg p.o. (vía oral) presentaron una disminución significativa de la respuesta nociceptiva inducida por ácido acético, con una inhibición máxima de 52,70 % para la dosis de 1.000 mg/kg, similar a la obtenida con 10 mg/kg de indometacina, usada como droga de referencia. El efecto antinociceptivo no se modificó en el lote de animales que fue pretratado con el antagonista de receptores opioides naloxona, en dosis de 5 mg/kg s.c. (vía subcutánea).

El estímulo doloroso también puede inducirse en ratones, por la inyección intraplantar de una solución de formalina, que produce una respuesta de lamida característica de tipo bifásica: una fase temprana (primeros 5 min) y una fase tardía (entre 15 y 30 min). Las drogas que actúan fundamentalmente como analgésicos centrales inhiben ambas fases mientras los que actúan en nivel periférico inhiben solo la tardía. La infusión de *A. copa* a 500 y 1.000 mg/kg produjo una inhibición significativa de la fase tardía del 35,35 y 61,19 % respectivamente, mientras que no se observaron cambios significativos en el tiempo de lamida en la fase temprana.

En el ensayo de la platina caliente se mide el tiempo transcurrido hasta que los animales muestran una reacción de molestia al estímulo doloroso. En este ensayo, comúnmente usado para estudiar analgésicos de tipo opioide, la infusión de *A. copa* a la dosis de 1.000 mg/kg no produjo cambios significativos en la latencia al dolor comparado con el grupo control, mientras que la morfina en dosis de 10 mg/kg (utilizada como droga de referencia) produjo un incremento significativo (Miño y col., 2004).

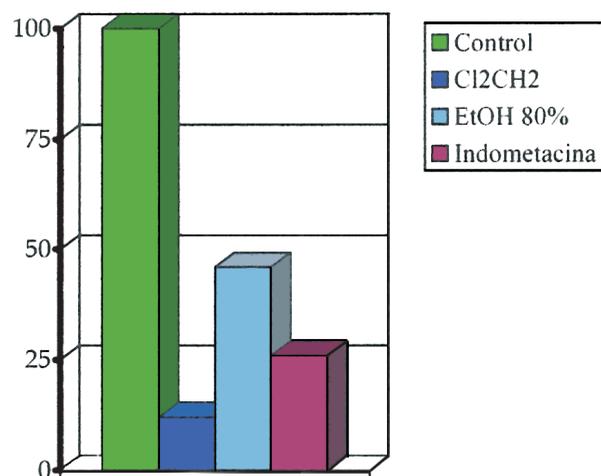
La actividad antiinflamatoria *in vivo* de los extractos etanólico y diclorometánico de *A. copa* se evaluó mediante dos modelos experimentales: edema plantar inducido por carragenina en rata, que determina la actividad antiinflamatoria por administración sistémica (Winter y col., 1962) y edema de oreja en ratón inducido por ácido 12-O tetradecanoilforbol (TPA) y por ácido araquidónico

(AA), que determina la actividad antiinflamatoria por administración local (Carlson y col., 1985). Los extractos etanólico y diclorometánico, tanto por vía oral como intraperitoneal, no produjeron modificación de la respuesta inflamatoria en el ensayo de edema inducido por carragenina.

En el ensayo del edema de oreja se aplicó en forma tópica TPA o AA en la oreja del ratón, para producir el edema, y luego el extracto que se proponía ensayar. Como droga de referencia se utilizó indometacina (0,5 mg/oreja).

Los extractos diclorometánico y etanólico de *A. copa*, en dosis de 1 mg/oreja, disminuyeron significativamente la respuesta inflamatoria inducida por TPA con un 84,8 y 54,5 % de inhibición respectivamente (Figura 4). En el caso del edema inducido por AA, solo el extracto diclorometánico produjo una moderada respuesta antiinflamatoria (37,4 % de inhibición) (Miño y col., 2004).

Figura 4.- Ensayo del edema de oreja en ratón inducido por TPA



Se administraron 1 mg/oreja de los extractos diclorometánico y etanólico de *A. copa* y 0,5 mg/oreja de indometacina.

A partir de estos resultados obtenidos *in vivo*, se decidió estudiar *in vitro* los flavonoides aislados de *A. copa* (espinacetina, jaceosidina, axilarina, crisoeriol, penduletina y tricina), con el fin de determinar su posible participación en la inhibición de la producción de mediadores inflamatorios en

una línea celular de macrófagos de ratón estimulada con lipopolisacárido (LPS). Al cabo de 24 h, el LPS produjo un incremento en la expresión de enzimas inducibles como la ciclooxigenasa-2 (COX-2) o la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS). En los sobrenadantes del cultivo celular pueden determinarse los niveles de nitrito (NO) y prostaglandina E₂ (PGE₂), como metabolitos estables derivados de esas actividades enzimáticas. Espinacetina y jaceosidina disminuyeron la producción de NO con porcentajes de inhibición de 31,3 y 41,7 % respectivamente, a concentraciones de 10 μM mientras que todos los flavonoides disminuyeron la producción de PGE₂ incubados en las mismas condiciones experimentales. Jaceosidina resultó el más activo con un grado de inhibición de 65,8 %, inhibiendo la COX-2 de modo concentración dependiente con un CI₅₀ de 2,8 μM (límites de confianza 95 % = 2,0-3,8).

Considerando la actividad relevante que tiene la fosfolipasa-A₂ secretada (sPLA₂) en la síntesis de mediadores lipídicos inflamatorios, también se analizó la actividad de esa enzima. Todos los flavonoides, excepto la jaceosidina, produjeron una moderada inhibición de la sPLA₂. Los porcentajes de inhibición oscilaron entre 16,2 para la espinacetina y 36,5 para el crisoeriol a concentraciones de 10 μM.

Para determinar si los flavonoides aislados inhibían la actividad de la COX-1 se determinó también la actividad de esta enzima. Ninguno de los compuestos (en concentración 10 mM) produjeron efecto significativo sobre la COX-1 mientras que, como era de esperar, la enzima fue inhibida significativamente por la indometacina que es un inhibidor dual COX-1 / COX-2 (Moscatelli y col., 2006).

Debido a que entre los usos tradicionales informados para *A. copa* se encuentra el uso como sedante (Montes y Wilkomirsky, 1985), se realizó un estudio psicofarmacológico de la infusión en diferentes modelos experimentales en ratón.

A dosis de 1,5 g/kg p.o. la infusión de *A. copa*, produjo inducción y potenciación del tiempo de sueño con dosis subhipnóticas e hipnóticas de pentobarbital, aumento y disminución de la actividad motora espontánea dosis dependiente (0,5 y 1,5 g/kg respectivamente) y efecto de tipo ansiolítico a dosis a las cuales no se modifica la actividad motora espontánea ni el comportamiento exploratorio.

Por otra parte, debido a que varios géneros de la familia Asteraceae incluidas algunas especies del género *Artemisia*, son utilizadas en medicina

tradicional en Brasil y otros países para tratar la epilepsia (de Lima y col., 1993), se realizó el estudio de la actividad anticonvulsivante de la infusión.

La infusión de *A. copa* (1,5 g/kg) produjo incremento en el tiempo de latencia, disminución en la duración de las convulsiones inducidas por pentilnetetrazol (PTZ), y disminución de la letalidad en los ratones (Miño y col., 2010).

Dado que *A. copa* se utiliza también en la medicina folclórica por sus propiedades digestivas y para el dolor de estómago (Ratera y Ratera, 1980; Giberti, 1983), se determinó la actividad espasmolítica de la infusión de *A. copa* y de cuatro compuestos aislados de esta especie vegetal (crisoeriol, espinacetina, luteolina y tricina) en yeyuno aislado de rata. Se utilizó como droga de referencia quercetina (15 $\mu\text{g/ml}$).

La acetilcolina es un neurotransmisor relacionado con el sistema nervioso parasimpaticomimético que interviene en la regulación del peristaltismo del tracto gastrointestinal. La infusión de *A. copa* (0,1; 0,3; 1,0 y 3,0 mg/ml) antagonizó el efecto contráctil de acetilcolina sobre yeyuno, reduciendo significativamente su respuesta máxima, sugiriendo un efecto espasmolítico.

Dado que la contracción de la musculatura lisa es dependiente de un aumento del calcio libre citoplasmático, se investigó si el efecto espasmolítico era mediado a través del bloqueo de canales de calcio. Se observó que la infusión inhibió las contracciones inducidas por CaCl_2 en yeyuno. La infusión también

inhibió las contracciones de yeyuno inducidas por altas concentraciones de potasio (KCl 80 mM), que producen la apertura de canales de calcio voltaje dependientes (Gorzalczany y col., 2012).

Los compuestos puros aislados de *A. copa* (crisoeriol, espinacetina, y luteolina) a la máxima dosis ensayada (30 $\mu\text{g/ml}$), inhibieron las contracciones inducidas por CaCl_2 . Tricina no produjo este efecto (Figura 5).

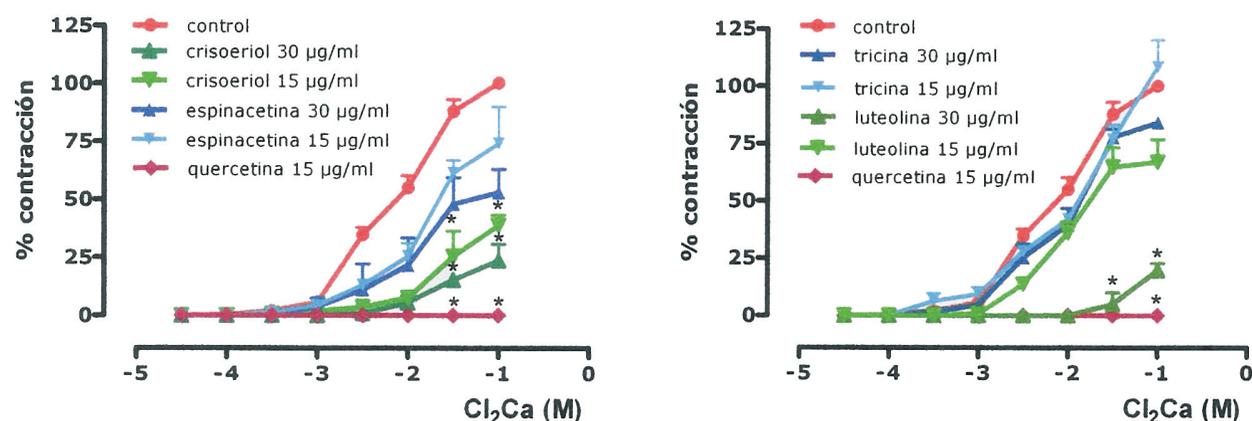
Conclusiones

Del extracto diclorometánico de *A. copa* se aislaron e identificaron: escopoletina, jaceosidina, espinacetina, penduletina, axilarina y tricina. En el extracto etanólico y en la infusión se identificaron isovitexina, ácido p-cumárico, luteolina y crisoeriol. En el extracto etanólico se identificó además, luteolina-7-metil-éter. Todos estos compuestos, excepto luteolina, fueron informados por primera vez, para esta especie vegetal.

En el extracto toluénico no se detectó la presencia de artemisinina por CCD. *A. copa*, no tiene informado como sus usos tradicionales, antimalárico o febrífugo.

La infusión de *A. copa* mostró acción antinociceptiva en modelos animales. De acuerdo con los resultados obtenidos en los ensayos podría inferirse

Figura 5.- Curva de inhibición de las contracciones inducidas por CaCl_2



Curva acumulativa concentración - respuesta de CaCl_2 en presencia y ausencia de diferentes concentraciones de crisoeriol, espinacetina, tricina y luteolina. Cada punto representa la media \pm ESM ($n = 5$), $*p < 0,01$ (*A. copa* vs. grupo control). Anova, test de Student-Newman-Keuls.

que en el efecto observado para la infusión de *A. copa*, no estaría involucrado el sistema opioide.

Los extractos diclorometánico y etanólico tuvieron un importante efecto antiinflamatorio en el modelo de inflamación aguda en oreja de ratón inducida por TPA, mientras que en el modelo de AA solo el extracto diclorometánico presentó efecto antiinflamatorio por administración local. De acuerdo con estos resultados podría inferirse que la acción antiinflamatoria de los extractos se llevaría a cabo, en parte, en las etapas previas a las del metabolismo del ácido araquidónico.

En los ensayos realizados *in vitro*, los flavonoides aislados de *A. copa*, inhibieron la producción de mediadores involucrados en la respuesta inflamatoria, lo cual proveería una base para su uso en terapéutica, en especial, la jaceosidina que también presenta actividad antiinflamatoria tópica (Schinella y col., 1988; Clavin y col., 2007) y cuyo mecanismo de acción, determinado en este trabajo por primera vez, se basaría en inhibir la actividad de la COX-2.

Los resultados obtenidos en los ensayos para evaluar la actividad sobre el SNC, sugieren que la infusión de *A. copa* contiene principios activos con potencial actividad ansiolítica y anticonvulsivante mediada por una acción moduladora sobre el complejo canal GABA A / receptor a benzodiazepinas. Estos resultados justifican nuevos ensayos para evaluar en profundidad la actividad de los compuestos presentes en el extracto.

La infusión de *A. copa* mostró actividad espasmolítica en los ensayos realizados en yeyuno aislado de rata. Este efecto estaría mediado por el bloqueo de canales de calcio. Crisoeriol, luteolina y espinacetina mostraron efecto relajante sobre yeyuno, también por este mecanismo. Para espinacetina es la primera vez que se informa esta actividad.

El estudio fitoquímico realizado en esta investigación contribuye al conocimiento de la especie medicinal *Artemisia copa*, y los resultados obtenidos en los ensayos para determinar las actividades farmacológicas permiten avalar científicamente su uso tradicional.

Referencias bibliográficas

Bora, K.S.; Sharma, A. (2011). "The genus *Artemisia*: a comprehensive review". *Pharmaceutical Biology* 49(1): 101-109.

- Cabrera, A. (1978). "Flora de la provincia de Jujuy". Tomo XIII, parte X. *Colección científica del INTA*. Buenos aires: 451- 454.
- Carlson, R.P.; O'Neill-Davis, L.; Chang, J.; Lewis, A.J. (1985). "Modulation of mouse ear edema by cyclooxygenase and lipoxygenase and inhibitors and other pharmacological agents". *Agents and Actions* 17: 197-204.
- Clavin, M.; Gorzalczany, S.; Macho, A.; Muñoz, E.; Ferraro, G.; Acevedo, C.; Martino, V. (2007). "Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Eupatorium arnottianum*". *Journal of Ethnopharmacology* 112(3): 585-589.
- Collier, H.D.J.; Dinnin, L.C.; Johnson, C.A.; Schneider, C. (1968). "The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse". *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy* 32(2): 295-310.
- de Lima, T.C.M.; Morato, G.; Takahashi, R. (1993). "Evaluation of the central properties of *Artemisia verlotorum*". *Planta Medica* 59(4): 326-329.
- Eddy, N.B.; Leimbach, D. (1953). "Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines". *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 107: 385-393.
- Freire, S.E.; Ariza Espinar, L. (1999). "Asteraceae" en: Zuloaga, F.; Morrone O. (ed). *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II*. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, Missouri: 108-109.
- Giberti, G. (1983). "Herbal Folk medicine in Northwestern Argentina: Compositae". *Journal of Ethnopharmacology* 7(3): 321-341.
- Gorzalczany, S.; Moscatelli, V.; Acevedo, C.; Ferraro, G. (2012). "Spasmolytic activity of *Artemisia copa* aqueous extract and isolated compounds". *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, DOI:10.1080/14786419.2012.688049.
- Hunskar, S.; Hole, K. (1987). "The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain". *Pain* 30(1): 103-104.
- Miño, J.; Moscatelli, V.; Hnatyszyn, O.; Gorzalczany, S.; Acevedo, C.; Ferraro, G. (2004). "Antinociceptive and antiinflammatory activities of *Artemisia copa* extracts". *Pharmacological Research* 50(1): 59-63.
- Miño, J.; Moscatelli, V.; Acevedo, C.; Ferraro, G. (2010). "Psychopharmacological effects of *Artemisia copa* aqueous extract in mice". *Pharmaceutical Biology* 48(12): 1392-1396.

- Instituto de Botánica Darwinion, CONICET. <<http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/fa.htm>>. [Consulta: diciembre de 2014].
- Montes, M.; Wilkomirsky, T. (1985). *Medicina tradicional chilena*. Edición de la Universidad de Concepción, Santiago de Chile: 15.
- Pérez De Nucci, A. (1988). *La Medicina Tradicional del Noroeste Argentino*. Cap 6. Ediciones del Sol, Buenos Aires: 123.
- Moscatelli, V.; Hnatyszyn, O.; Acevedo, C.; Megías, J.; Alcaraz, M.J.; Ferraro, G. (2006). "Flavonoids from *Artemisia copa* with Anti-inflammatory activity". *Planta Medica* 72(1): 72-74.
- Ratera, E.L.; Ratera, M.O. (1980). *Plantas de la Flora Argentina empleadas en Medicina Popular*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 108.
- Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Petrovic, P.R. (2000). "Produtos de origem vegetal e o Desenvolvimento de medicamentos". En: *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Cap 15. Editora da Universidade Federal do Rio Grande do sul (2ªed.): 291-320.
- Schinella, G.R.; Giner, R.M.; Recio, M.C.; Mordujovich, D.B.; Ríos, J.L.; Manéz, S. (1988). "Anti-inflammatory effects of South American *Tanacetum vulgare*". *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 50: 1969-1974.
- Wagner, H.; Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. Second edition. Springer Verlag, Berlin.
- Winter, C.A.; Risley, E.A.; Nuss, G.W. (1962). "Carrageenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs". *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 111: 544-552.