

**INVESTIGACION ETNOFARMACOLOGICA  
DE 21 ESPECIES DE PLANTAS MEDICINALES NATIVAS USADAS POR LOS  
MAPUCHES DEL SUR DE CHILE**

**AUTORES**

**JEANNETTE LAURITSEN. M.Sc.**

**Química Farmacéutica**

**LENE JORGENSEN, M. Sc.**

**Química Farmacéutica**

Orientadores:

**Per Molgaard, Ph. D.**

**Anne Adsersen, Ph. D.**

**Alfonso Guzmán, Ph. D. (externo)**

Traducción: Alfonso Guzmán Cárcamo, Ph. D.

**FACULTAD DE FARMACIA QUIMICA  
DEPARTAMENTO DE FARMACOGNOSIA  
UNIVERSIDAD DE COPENHAGEN DINAMARCA**

**2001**





Es conocido que las Plantas Medicinales reúnen a un conjunto de especies que poseen principios químicos, conocidos como ingredientes activos, que proporcionan una utilidad diferente a la nutrición, en los campos de la medicina, la perfumería, la cosmética, la industria condimentaria y la creación de algunos productos de uso industrial y de aplicación en la agricultura u otras actividades económicas. Estos principios activos pueden encontrarse en las diversas partes botánicas de las plantas, que incluyen las hojas, las flores, los tallos, las semillas, las raíces u otras.

Su uso en cualquiera de las aplicaciones antes mencionadas, requiere en primera instancia conocer los principios activos de la planta y su utilidad. Por tal motivo, el doctor Alfonso Guzmán, propuso al Departamento de Farmacognosia del Instituto de Medicina Química, de la Universidad de Copenhague, Dinamarca, realizar una investigación etnofarmacológica de 21 plantas medicinales nativas utilizadas por la etnia mapuche en Chile.

Esta investigación fue realizada en Chile durante el año 2001, por las químicas farmacéuticas, Jeannette Lauritzen y Lene Jorgensen, bajo la supervisión del doctor Per Molgaard y la orientación del doctor Alfonso Guzmán. Investigación realizada en el marco del trabajo de obtención del título de magíster de las químicas farmacéuticas antes mencionadas.

Los resultados fueron publicados, mediante el documento de tesis de magíster, y debido al interés científico de este material, el doctor Alfonso Guzmán postuló a la Fundación para la Innovación Agraria, la cual aprobó el cofinanciamiento para la traducción y publicación de este documento en español.

La traducción del danés al español ha sido realizada por el Sr. Alfonso Guzmán, orientador externo y supervisor de la selección y colección de las plantas investigadas, con la correspondiente autorización de las autoras y del profesor Per Molgaard, Ph.D. del Departamento de Farmacognosia de la Universidad de Copenhague, Dinamarca.

La revisión técnica del documento en español fue realizada por la Sra. Ligia Morend, Ingeniero Agrónomo de la Universidad Católica de Valparaíso.

De acuerdo a lo anterior, cabe señalar que la traducción y publicación de este documento se ha realizado gracias al aporte de la Fundación para la Innovación Agraria, a través del programa de Promoción de la Innovación Agraria.

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue realizada durante el año 2001 en el Instituto de Medicina Química, Departamento de Farmacognosia, Facultad de Farmacia, Universidad de Copenhague, Dinamarca.

Agradecemos a los profesores Anne Adersen, Ph. D. y Per Molgaard, Ph. D. del Instituto de Medicina Química de la Universidad de Copenhague por su valioso apoyo y orientación.

Al profesor Alfonso Guzmán<sup>1</sup>, Ph. D. por su orientación externa en la selección y colección de las plantas medicinales y estadía en la Décima Región. Al profesor Jaime Zapata, M. Sc. de la Universidad de los Lagos, Osorno, Chile, por su valioso apoyo en la colección de las plantas medicinales y las facilidades otorgadas para el uso de los espacios universitarios bajo su responsabilidad.

Un agradecimiento a todas las personas que encontramos durante nuestra estadía en Chile, quienes nos mostraron su cultura, amabilidad y lo hermoso que es el sur de Chile. Ellos han colaborado con nuestro trabajo y hemos aprendido mucho de ellos.

Agradecemos, también al Instituto de Medicina Química, Departamento de Farmacognosia, por su apoyo para desarrollar esta investigación.

Jeannette Lauritzen, M. Sc.  
Química Farmacéutica

Lene Jorgensen, M. Sc.  
Química Farmacéutica

---

<sup>1</sup> La traducción del danés al español ha sido realizada por el Sr. Alfonso Guzmán, orientador externo y supervisor de la selección y colección de las plantas investigadas, con la correspondiente autorización de las autoras y del profesor Per Molgaard, Ph.D. del Departamento de Farmacognosia de la Universidad de Copenhague, Dinamarca.

## RESUMEN

Se realizó una investigación etnofarmacológica de 21 especies vegetales medicinales empleadas en la medicina tradicional Mapuche, en la zona Sur de Chile.

Las especies fueron seleccionadas de acuerdo al conocimiento ancestral que existe sobre el uso medicinal de estas plantas en la comunidad indígena. La investigación etnofarmacológica reúne la información etnobotánica y etnomedicinal y la complementa con estudios farmacológicos para validar su uso terapéutico e identificar los compuestos bioactivos.

Las plantas fueron recolectadas en la Décima Región de Chile. Se colectaron hojas, tallos, en algunos casos flores, frutos y raíces, durante la estación otoñal en el año 2001. Las muestras fueron secadas y trasladadas a la Universidad de Copenhague en Dinamarca, para su estudio *in vitro* en el Instituto de Medicina Química, Departamento de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia.

El objetivo de la investigación fue determinar el grado de actividad antimicrobiana, antioxidante y antihipertensiva de las especies seleccionadas e identificar tipos de compuestos responsables de esta actividad (compuestos bioactivos). Se analizaron extractos metanólicos de dos o más estructuras vegetales (hoja, tallo, cáscara, raíz, flor, fruto), dependiendo de la especie.

Para la búsqueda selectiva química y biológica de los extractos vegetales se realizaron ensayos Bioautográficos con Cromatografía de Capa Fina (actividad antimicrobiana y antioxidante), de Inhibición de la Xantinoxidasa (actividad antioxidante-antirreumática) y de Inhibición de la Enzima de la Conversión de Angiotensina - ECA (actividad antihipertensiva). Los microorganismos testados para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos, fueron: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* y *Penicillium expansum*. El método Bioautográfico Directo se empleó con *Penicillium expansum* y el método de Capa de Agar Bioautográfico se utilizó con *Candida albicans* y las bacterias.

Para medir la actividad antioxidante de los extractos vegetales se realizó Bioautografía Directa con DFPH (2,2-difenil-1-picrihidracil). Las plantas que presentaron mayor efecto antioxidante fueron posteriormente evaluadas en su capacidad de Inhibición de la Xantinoxidasa.

Los resultados obtenidos mediante la combinación de bioensayos con análisis químicos de los diferentes extractos vegetales, verificaron la actividad antimicrobiana, antioxidante y/o antihipertensiva de las especies seleccionadas y permitieron identificar los tipos de compuestos bioactivos.

La mayoría de las partes de las plantas medicinales usadas tradicionalmente para curar enfermedades bacterianas y fúngicas mostraron una importante actividad antimicrobiana. *Coriaria ruscifolia* presentó alta actividad sobre las bacterias. Los extractos de *Lomatia hirsuta* y de la cáscara de *Gevuina avellana* mostraron una completa inhibición sobre el hongo *Candida albicans*. Con el extracto de *Lomatia hirsuta* también se observó una alta actividad antimicrobiana sobre *Penicillium expansum*.

El extracto de la hoja de *Coriaria ruscifolia* presentó la más alta actividad antioxidante cuando fue medido por medio de un espectrofotómetro usando 2,2 difenil-1-picrihidracil (DFPH) y como inhibidor de la xantinoxidasa

A través de la Bioautografía Directa se observó la presencia de varios compuestos químicos como flavonoides, terpenoides, fenil propanoides y otros, presentes en las plantas medicinales, los cuales son responsables de la actividad antimicrobiana y antioxidante. Los extractos de tallos de *Acaena argentea* y *Chusquea quila* y el extracto de la hoja de *Pseudopanax laetevirens*, presentaron una total inhibición sobre la Enzima de Conversión de la Angiotensina (ECA), confirmando el uso tradicional de esas plantas cuando son consideradas como antihipertensivas y diuréticas.

Los análisis in vitro realizados verificaron la eficacia de las plantas medicinales usadas por los Mapuches sobre determinadas enfermedades, como infecciones urinarias, antihipertensivas o antioxidantes, ratificando el conocimiento tradicional de la etnia Mapuche sobre el uso medicinal de estas especies.

1.INTRODUCCIÓN.....	1
2 ANTECEDENTES GENERALES.....	2
2.1.Etnobotánica e investigaciones sobre medicamentos etnofarmacológicos .....	2
2.2.Chile: Mapuches en el sur de Chile y la medicina tradicional.....	5
2.3.Descripción de los grupos químicos presentes en las plantas.....	6
2.4.Aspectos farmacológicos.....	8
2.4.1.Actividad antimicrobiana.....	8
2.4.1.1.Resistencia.....	8
2.4.1.2.Compuestos antimicrobianos en las plantas.....	8
2.4.1.3.Formas de acción de medicamentos antimicrobianos .....	9
2.4.1.4.Métodos de búsqueda selectiva (screening) de la actividad antimicrobiana: .....	10
2.4.1.4.1.Método Bioautográfico Directo con Cromatografía de Capa Fina.....	10
2.4.1.4.2.Método de Capa de Agar Bioautográfico con Cromatografía de Capa Fina.....	10
2.4.2. Actividad antioxidante.....	10
2.4.2.1.Radicales libres.....	11
2.4.2.2.Compuestos Oxígeno-reactivos.....	11
2.4.2.3.Estrés oxidante.....	11
2.4.2.4.Enzima Xantinoxidasa .....	12
2.4.2.5.Formas de acción de los antioxidantes.....	12
2.4.2.6.Actividad antioxidante en las plantas.....	12
2.4.2.7.Métodos de búsqueda selectiva (screening) de la actividad antioxidante: .....	12
2.4.2.7.1.Método Bioautográfico Directo con Cromatografía de Capa Fina y aplicación .....	12
de DFPH (2,2-difenil-1-picrihidracil)	
2.4.2.7.2.Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Xantinoxidasa. ....	13
2.4.3.Actividad antihipertensiva.....	13
2.4.3.1.Desarrollo de la hipertensión .....	13
2.4.3.2.Tratamiento de la hipertensión.....	14
2.4.3.3.Inhibidor de la Enzima de Conversión de Angiotensina (Inhibidor-ECA) .....	14
2.4.3.4.Efectos laterales del Inhibidor-ECA.....	15
2.4.3.5.Método de búsqueda selectiva (screening) de la actividad antihipertensiva:.....	15
Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Enzima de Conversión de Angiotensina-ECA	
3.MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1.Equipos e Instrumentos.....	15
3.2.Materiales.....	15
3.2.1.Material vegetal.....	15
3.2.2.Obtención de Extractos.....	16
3.2.3.Búsqueda selectiva (screening) de la actividad antimicrobiana:.....	16
3.2.3.1.Bioautografía Directa - Cromatografía de Capa Fina.....	16
3.2.3.2.Capa de Agar Bioautográfico - Cromatografía de Capa Fina.....	17
3.2.3.3.Microorganismos requeridos para los bioensayos.....	17
3.2.4.Búsqueda selectiva (screening) de la actividad antioxidante:.....	18
3.2.4.1.Bioautografía Directa - Cromatografía de Capa Fina y aplicación de DFPH (2,2-.....	18
difenil-1-picrihidracil)	
3.2.4.2.Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Xantinoxidas.....	19

3.2.5. Búsqueda selectiva (screening) de la actividad antihipertensiva: Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Enzima de Conversión de Angiotensina - ECA	19
3.3. Métodos	20
3.3.1. Selección y colección del material vegetal	20
3.3.2. Obtención de Extractos	21
3.3.3. Búsqueda selectiva (screening) de la actividad antimicrobiana:	21
3.3.3.1. Bioautografía Directa - Cromatografía de Capa Fina con <i>Penicillium expansum</i> :	21
Introducción	21
3.3.3.2. Capa de Agar Bioautográfico - Cromatografía de Capa Fina con bacterias y <i>Candida albicans</i> : Preliminar	21
3.3.3.3. Bioautografía Directa - Cromatografía de Capa Fina con <i>Penicillium expansum</i> :	22
Continuación	22
3.3.3.4. Capa de Agar Bioautográfico - Cromatografía de Capa Fina con bacterias y <i>Candida albicans</i> : Continuación	22
3.3.4. Búsqueda selectiva (screening) de la actividad antioxidante: Medición de la capacidad de capturar radicales libres con ayuda de DFPH	22
3.3.4.1. Bioautografía Directa - Cromatografía de Capa Fina y aplicación de DFPH (2,2-difenil-1-picrihidracil)	23
3.3.4.2. Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Xantinoxidasa	23
3.3.5. Búsqueda selectiva (screening) de la actividad antihipertensiva: Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Enzima de Conversión de Angiotensina - ECA	24
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
4.1. Selección y colección del material vegetal	25
4.1.1. Resultados	25
4.1.2. Discusión parcial	25
4.2. Obtención de Extractos	27
4.2.1. Resultados	27
4.2.2. Discusión parcial	28
4.3. Búsqueda selectiva (screening) de la actividad antimicrobiana:	28
4.3.1. Resultados	28
4.3.2. Discusión parcial	33
4.4. Búsqueda selectiva (screening) de la actividad antioxidante	35
4.4.1. Resultados	35
4.4.2. Discusión parcial	38
4.5. Búsqueda selectiva (screening) de la actividad antihipertensiva: Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Enzima de Conversión de Angiotensina - ECA	39
4.5.1. Resultados	39
4.5.2. Discusión parcial	39
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	40
6. BIBLIOGRAFÍA	42
7. ANEXOS	46

## 1. INTRODUCCIÓN

El objetivo de esta investigación es determinar la actividad biológica de 21 especies de plantas medicinales, las cuales son usadas como medicina tradicional por los Mapuches en la X Región, sur de Chile. Se espera, además, que los resultados obtenidos permitan apoyar algún programa de desarrollo para comunidades indígenas de esa Región y así obtener un mejor bienestar socioeconómico para ellos.

La CONADI (Corporación Nacional de Desarrollo Indígena) trabaja para mejorar las condiciones de vida de las comunidades indígenas en Chile. Algunas comunidades indígenas que han iniciado proyectos sobre plantas medicinales, podrán comercializar las plantas con mayores antecedentes aportados por la investigación. De acuerdo con la investigación etnofarmacológica, se procedió a conversar con algunas personas, por ejemplo de la comunidad de Llahualco, Comuna de Río Negro, Provincia de Osorno, para conocer sus proyectos, experiencias, perspectivas y lo que desean para el futuro. Aún cuando tienen plantaciones de especies introducidas como la MENTA, no existe cultivo de plantas nativas chilenas.

Los resultados de la investigación permitirán optimizar el uso de las plantas medicinales nativas. A partir de los resultados se podrá recomendar el uso de una planta que las comunidades usan para una determinada enfermedad. La investigación se ha enfocado sólo en 21 especies, sin embargo, se espera continuar con proyectos de investigación con mayor cantidad de especies medicinales de manera que sirvan de base para desarrollar cultivos. El cultivo de especies medicinales permitiría entregar una producción segura al mercado tanto en cantidad como en calidad, aportando a la economía sustentable de las comunidades.

Para la selección de plantas se recurrió a la experiencia de los profesores Sr. Alfonso Guzmán y Sr. Jaime Zapata, quienes recomendaron plantas calificadas como las más interesantes de acuerdo a la etnomedicina y que se usan para diversas enfermedades en la Región. La principal limitación estuvo en la selección de las plantas, por lo que todas las especies coleccionadas se sometieron a una búsqueda selectiva (screening) de la actividad biológica, antioxidante y antimicrobiana.

Los extractos se sometieron a ensayos Bioautográficos con Cromatografía de Capa Fina (CCF) para detectar su posible actividad antioxidante y antimicrobiana y si cuenta con una determinada sustancia o grupo bioactivo. Las plantas que mostraron una alta actividad de antioxidantes o tienen un uso tradicional antirreumática, se usaron para testar su capacidad de Inhibir la Xantinaoxidasas. Luego, se continuaron las investigaciones con aquellas plantas medicinales que son usadas como diurética o reducen la presión sanguínea para conocer su actividad Inhibidora de ECA (actividad antihipertensiva).

En la investigación se espera encontrar una más alta frecuencia de la actividad biológica en las plantas usadas tradicionalmente como antimicrobianas que en aquellas plantas que no son usadas con fines antimicrobianos.

## 2. ANTECEDENTES GENERALES

Las plantas verdes son fundamentales para casi toda la vida existente en el mundo. Ellas tienen la capacidad de captar anhídrido carbónico desde la atmósfera y producir oxígeno cuando realizan la fotosíntesis. Esto permite crear alimentos para todos los organismos, desde las bacterias hasta los mamíferos. Además, desarrollan otras actividades importantes de carácter ambiental: reutilizan los nutrientes, estabilizan la tierra, protegen las zonas pantanosas y controlan las lluvias a través de la transpiración (Cotton, 1996). Las plantas verdes son muy útiles cuando se habla de investigaciones de nuevos y mejores medicamentos, porque representan la primera fase de la cadena trófica.

El uso de plantas medicinales tiene una historia de más de 4.000 años, de acuerdo a los documentos de las civilizaciones antiguas, como es el caso de China y la India. Hoy en día, el uso de medicamentos representa la única fuente para tratar enfermedades (Hamburger y Hostettmann, 1991). Alrededor del 64% de la población mundial es dependiente de la medicina tradicional (Cotton, 1996). Aproximadamente el 25% de los medicamentos comunes son derivados de plantas verdes (Hamburger y Hostettmann, 1991). Una parte de los medicamentos usados en la actualidad contienen compuestos que han sido aislados de las plantas y otros se han mejorado de distintas maneras. El 75% de los medicamentos derivados de las plantas son usados con la misma indicación tradicional (Farnsworth, 1994).

En el reino vegetal existen unas 500.000 especies, de las cuales una muy pequeña cantidad ha sido investigada sobre sus componentes fitoquímicos. El conocimiento sobre los aspectos biológicos y farmacéuticos de las plantas medicinales es muy escaso. Las plantas contienen una alta cantidad de metabolitos, y por ello son un potencial para encontrar otros compuestos químicos o bien alguna actividad biológica desconocida (Hostettmann et al., 1995). Alrededor de 90 especies de plantas de un total de 500.000 son usadas como medicamentos comerciales. Eso significa que existe un enorme potencial de investigación sobre las plantas para aislar nuevos compuestos químicos (Farnsworth, 1994).

Muchas plantas están siendo destruidas y otras han desaparecido, por lo tanto, es muy importante usar un método que sea rápido para seleccionar, aislar e identificar la sustancia bioactiva natural (Hostettmann et al., 1995). Por otra parte, muchos bosques naturales están siendo reemplazados por especies exóticas, el pino y eucalipto. Debido al riesgo de aumentar las plantaciones con especies exóticas, existe necesidad de proteger los lugares donde crecen las plantas medicinales para que no sean destruidas y así conservar el material genético.

### 2.1 Etnobotánica e investigaciones sobre medicamentos etnofarmacológicos.

El desarrollo de un medicamento es de alto costo y requiere de muchos años de investigación (Farnsworth, 1994). De acuerdo a la Compañía Merck existen 20.000 sustancias bioactivas y sólo una es autorizada por la Food and Drug Administration en USA y usada como medicamento.

La etnobotánica se define como el conocimiento botánico de las plantas por las comunidades indígenas y comprende una estrecha relación entre las plantas y dichas comunidades (Cotton, 1996). En ese concepto se encuentran todas las plantas usadas para la medicina, alimentación y construcción.

La etnomedicina se refiere al uso de productos provenientes de plantas, animales y minerales como un medicamento. Bajo ese concepto se encuentra la etnofarmacología, la cual se define como una disciplina científica que investiga sobre las sustancias bioactivas de las plantas usadas en la medicina tradicional. El concepto de medicina tradicional se usa para distinguir el tratamiento medicinal cultural y tradicional de la medicina científica (Farnsworth, 1994).

### **Investigación de medicamentos herbarios**

La investigación sobre plantas medicinales es un proceso largo e involucra las disciplinas: etnobotánica, farmacognosia, farmacología, química y toxicología. El proceso se puede dividir en:

1. Selección, colección e identificación botánica.
2. Extracción con solvente adecuado.
3. Selección biológica y farmacológica del extracto crudo.
4. Separación cromatográfica de componentes bioactivos basado en bioensayos.
5. Identificación de la estructura química.
6. Análisis y perfil farmacológico del componente aislado.
7. Investigación de toxicología.
8. Síntesis parcial o total.
9. Fabricación de derivados para investigar la relación actividad – estructura.
10. Investigación farmacológica.
11. Investigación clínica (modificado según Hostettmann et al., 1995)

La etnobotánica y la etnofarmacia constituyen la primera etapa, la cual sirve de base para el resto del proceso. La información obtenida de las comunidades indígenas se basa en la información oral o escrita que existe de un determinado lugar (Hostettmann et al., 1995). Este método de coleccionar la información ha sido el más exitoso hasta hoy día.

### **Métodos de colecta de plantas medicinales**

Para obtener buenos resultados es importante usar un adecuado método de colección de las plantas medicinales. Existen cinco (5) métodos de colecta, sin embargo solo dos (2) de ellos son métodos etnomedicinales.

1. Colecta dirigida. Consiste en coleccionar todas las plantas de un determinado lugar. Se selecciona las frutas o brotes de flores y los individuos estériles son eliminados.
2. Observación de plantas en su medio natural. Si un árbol o arbusto no muestra signos de daños de insectos u hongos significa que la planta contiene compuestos insecticidas o con capacidad antimicrobiana (Hostettmann et al., 1995).
3. Selección de plantas según su taxonomía química. Se usa cuando se necesita un determinado compuesto químico porque tiene una prometedor actividad biológica. Por ejemplo, si se desea buscar un terpeno porque es importante, se inicia la investigación en el ámbito de la familia botánica de la planta. El método es débil porque los investigadores dan énfasis en un determinado resultado y puede ser que no se encuentre el compuesto de interés. Al mismo tiempo, resulta muy raro encontrar ese nuevo componente, limitando la investigación a nivel de familia.

4. La selección de la planta está basada en la etnobotánica y la etnomedicina. Aquí se usa el conocimiento de las personas que es transmitido de generación en generación. Ellos conocen las plantas, las están usando y han sobrevivido con esos tratamientos tradicionales durante miles de años. Además, el tratamiento no tiene ningún costo o es muy poco para el paciente (Balick, 1990).
5. Combinación de literatura sobre la farmacología y etnomedicina de los extractos de plantas para buscar otras nuevas y continuar con los estudios. Aquí se necesita un banco de datos. Uno de esos es NAPRALERT (NATURAL PRODUCTS ALERT), el cual contiene 110.000 publicaciones científicas sobre 27.000 especies vegetales. Con la ayuda de este banco se puede buscar las especies de plantas y su uso etnomedicinal (Farnsworth, 1994.)

Cuando hay que identificar nuevos compuestos bioactivos el método de mayor éxito es la colección etnofarmacológica (Balick, 1990). Este método se basa en investigar las plantas que son utilizadas tradicionalmente por las comunidades indígenas para tratar sus enfermedades, por lo tanto ya existe un proceso de selección. La presente investigación se basó en el método etnofarmacológico mencionado por Balick, 1990.

Eso significa que los investigadores deben tener una comunicación fluida, buenas relaciones de mutuo apoyo y una estrecha cooperación con las comunidades indígenas y así lograr esa valiosa información sobre las plantas y sus usos. Por ejemplo, un etnobotánico puede facilitar la entrevista con las comunidades indígenas, la identificación de las plantas y sus usos.

Muchas veces se requiere el conocimiento del lenguaje indígena, pues una traducción a veces conduce a la pérdida de información ya que los traductores pueden omitir o interpretar mal el idioma (Cox, 1990). Para que un investigador etnofarmacológico obtenga buena información sobre las plantas medicinales de las comunidades indígenas, debe ser una persona que tenga simpatía, despierte confianza, brinde respeto y apoye los principios indígenas. Para lograr esa confianza entre los miembros de las comunidades, el investigador ya sea biólogo, ecólogo o antropólogo debe dedicar muchos años, convivir con ellos, tener paciencia para obtener la información y aceptar sus costumbres (Lipp, 1989).

Un destacado aspecto en muchos sistemas tradicionales de medicina es que ellos tienen una característica común para tratar una enfermedad: comprende un aspecto físico y síquico y el uso de las plantas medicinales va junto a un ritual (Cotton, 1996).

Así mismo, es muy importante que la persona que participa en la selección y colección de las plantas tenga un amplio conocimiento sobre botánica, etnografía, farmacología y plantas medicinales. Esto impide coleccionar plantas ya conocidas y no útiles. Además, las plantas a coleccionar deben ser identificadas correctamente (Cox, 1990). Existe una amplia información que debe ser considerada al coleccionar las plantas, tales como cantidad de luz y sombra, tipo de substrato y humedad, lo que puede dar una variación química en la planta.

### **Identificación de las plantas**

Se debe confeccionar un herbario de todas las plantas coleccionadas. Los investigadores deberían tener dos (2) herbarios de manera que su informante posea uno. También se debe tener fotos de cada planta (Cox, 1990). Las plantas se colectan lo más frescas posible y se incluye su flor, fruto, hoja u otra parte de la planta necesaria para su identificación. Es muy fácil coleccionar una planta cuando tiene su flor o fruto (Balick, 1999)

## **Secado de las plantas**

De acuerdo a las condiciones ambientales de crecimiento existen variaciones de las concentraciones de los componentes bioactivos. Ya que una planta fresca puede tener mayor bio-actividad que una planta seca, para retener el máximo de actividad biológica es necesario hacer con mucho cuidado el proceso de secado.

Las hojas deben ser recolectadas cuando la planta está con flor en un tiempo seco, en la mañana, una vez que el rocío se ha secado. Las flores se cosechan justamente cuando se abren, mientras que su semilla se colecciona al madurar. Los tubérculos y raíces se extraen después de la caída de las hojas. Antes de transportar las plantas, se deben secar cuidadosamente para evitar el crecimiento de hongos y microorganismos. La luz y la alta temperatura aceleran la reacción catalítica de la planta y provoca un cambio en la composición química; de allí que la planta debe ser secada en un lugar fresco y a la sombra. La planta debe estar totalmente seca para ser colocada al interior de un plástico, de otro modo se produce una evaporación que la daña.

Chile, ubicado al oeste en el cono sur americano, es un país largo recorrido por la Cordillera de los Andes y que se extiende 4.300 kilómetros de Norte a Sur, con un ancho que llega a los 300 km. Los picos más altos se elevan hasta los 8.000 metros sobre el nivel del mar. En consecuencia posee una gran variedad de climas y flora, desde lo semi-tropical hasta lo antártico.

Geográficamente el país se divide en 12 regiones y la Región Metropolitana. En la Región de los Lagos o Décima Región, donde se efectuaron las colectas de plantas medicinales, existen el Parque Nacional Puyehue y el Parque Nacional Vicente Pérez Rosales; aquí encontramos cipreses y araucarias. Más del 90% de su flora es endémica, lo que le da un relieve interesante desde un punto de vista etnomedicinal (Bernharson, 2000).

El lugar donde se realizó la colecta de plantas medicinales tiene un clima templado húmedo con más de 2500 mm al año de lluvia y temperaturas promedio de 25°C en el verano y alrededor de 6.5°C en el invierno y que incluso descienden a bajo cero (-5° C) en algunas zonas de la Décima Región. En Chile viven más de 15 millones de personas, donde un alto porcentaje es mestizo (español e indígena). En el sur de Chile se concentra la mayor parte de los Mapuches (Bernhardson, 2000).

## **2.2 Chile: Mapuches en el sur de Chile y la medicina tradicional**

### **El pueblo originario del sur de Chile**

Chile se caracteriza por una gran diversidad de climas y geografía, lo que favorece a las comunidades indígenas para adaptarse a esas diversas condiciones ambientales. Los Diaguitas se encuentran el Norte de Chile y ellos están adaptados a un clima cálido. Los Mapuches se adaptan mejor en el sur de Chile por su clima húmedo y lluvioso, donde esas comunidades trabajan en la crianza y agricultura. El término Mapuche significa gente de la tierra.

Antes de la llegada de los españoles a Chile, existían más de 2 millones de Mapuches en el sur de Chile. El pueblo Mapuche se constituía de comunidades nómadas que se dedicaban a la caza, colecta, agricultura y pesca.

Antes de la llegada de los europeos, la población Mapuche se encontraba habitando desde Copiapó, norte de Chile, hasta la isla Grande de Chiloé. A la llegada de los españoles, los Mapuches se concentraron alrededor de los ríos Bío-Bío y Toltén. Los Mapuches viven en comunidades familiares donde su jefe es un Lonko (lonko significa cabeza). En general se agrupan entre 15 a 20 familias.

En el siglo XIX el territorio Mapuche quedó bajo el control del estado chileno. Desde esa época, los Mapuches han sufrido en forma sistemática la pérdida de sus territorios. Alrededor de Temuco se encuentra una gran concentración de Mapuches, por lo general aislados y rodeados de plantaciones forestales.

Sin embargo este aislamiento les ha permitido mantener en parte sus formas tradicionales de vida. La progresiva explotación de los bosques nativos ha llevado al deterioro de recursos madereros no forestales, entre ellos las plantas medicinales nativas.

A pesar de la división social entre los Mapuches, ellos han conservado su cultura. Sin embargo, últimamente están corriendo un enorme riesgo al reducir sus valores culturales y conocimientos lo que significa pérdida de su identidad (Houghton y Manby, 1985).

### **Medicina tradicional Mapuche: concepto de enfermedad**

Los Mapuches al igual que otros pueblos indígenas tienen un concepto sobre la enfermedad donde el ser humano, naturaleza y los hechos sobrenaturales forman una unidad integrada. Los Mapuches consideran que la salud de las personas depende del medio ambiente y de las fuerzas sobrenaturales. El uso tradicional de la medicina se basa en el modelo holístico. El concepto de la enfermedad se basa en la falta o una ruptura del equilibrio entre las fuerzas sobrenaturales y la persona enferma, su familia y lo que rodea a su comunidad.

La enfermedad es entendida no solo en lo físico sino también en lo socio - religioso.

Una de las bases esenciales de la lucha contra la enfermedad, es crear un equilibrio y así alejar la enfermedad. La persona llamada Machi, que puede ser un hombre o una mujer, juega un importante papel para crear un equilibrio y así alejar la enfermedad del cuerpo. Ella o él realiza un ritual conocido como Machitún, el cual comprende, canciones, ofrenda de un animal y quemar o tomar un té de una planta.

### **Utilización de las plantas medicinales**

Las plantas medicinales se usan de diversas formas para curar una determinada enfermedad. Es muy importante que la persona que prepara el medicamento con plantas deba conocer la forma de preparación y el método para tomarla. Los extractos de plantas son a veces bebidos como té o aplicadas como cataplasmas, entre otros.

## **2.3 Descripción de los grupos químicos presentes en las plantas**

### **Compuestos fenólicos**

Algunas de sus funciones son proteger la planta de algún tipo de enfermedad causada por bacterias u hongos. Es posible ver la presencia de indicadores fluorescentes y reacciones con reactivos específicos de pulverización. Con CCF se puede observar los componentes que pertenecen a diversos grupos fenólicos (Smitt y Schottlander, 2000; Wagner y Bladt, 1996).

### **Flavonoides**

Se encuentran presentes en casi todas las plantas. En las hojas, por ejemplo, son co - pigmentos para las antocianinas y cumplen la función de protegerlas de los rayos ultravioleta. Los flavonoides se encuentran, a veces, como glucósidos. Son comunes los quercetol, camferol y miricetol. Existen más de cien glucósidos diferentes donde el quercetol-3-rutósido es el más común. Los flavonoides se dividen según su estructura en diversos subgrupos: flavonoides, flavones, flavonoles, chalconas, isoflavonas y dihidrochalconas (Smitt y Schottlander, 2000).

Los flavonoides son sustancias incoloras o de color amarillo. Se observan como manchas absorbentes a la luz ultravioleta. Con reactivos naturales podemos obtener sustancias de color amarillo a anaranjado en presencia de luz natural y se muestran de amarillo a verde a la luz ultravioleta (365 nm) (Smitt y Schottlander, 2000; Wagner y Blatt, 1996).

### **Cumarines**

Son sustancias muy conocidas en las plantas. La sustancia más común es la cumarina, que representa una estructura básica en todos los otros cumarines. Las más comunes de estas sustancias son la umbeliferona, el esculetol y el escopolectol (Smitt y Schottlander, 2000). Los cumarines muestran un color azul oscuro fluorescente a la luz ultravioleta (365 nm) (Smitt y Schottlander, 2000; Wagner y Blatt, 1996).

### **Quinonas**

El benzo - naphtoquinona y antraquinona son pigmentos, que a veces se encuentran en la corteza y semillas de las plantas y contribuyen a una pigmentación de colores no visibles en las plantas superiores. Las sustancias de colores son débiles, de amarillo a rojo o negro (Smitt y Schottlander, 2000). A la luz ultravioleta (365 nm) da un color fluorescente amarillo, naranja o rojo, los cuales se intensifican en color con la presencia de 10% de hidróxido de potasio (Smitt y Schottlander, 2000; Wagner y Blatt, 1996).

### **Fenilpropanoides**

Los fenilpropanoides son compuestos de C<sub>6</sub> – C<sub>3</sub>, que se encuentran en las plantas como aceites etéricos. Ellos se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas tanto como ácido libre o glucósidos. El ácido cafeico, p-ácido cumarino, ácido ferúlico y ácido sinápico son los más ligados a las plantas. El ácido clorogénico es un éster del ácido cafeico y quínico presente a veces en las hojas. Los fenilpropanoides muestran una luz azul fluorescente a la luz ultravioleta (365 nm) (Smitt y Schottlander, 2000).

### **Taninos**

Se dividen en taninos hidrolizables y condensables. Cuando se aplica cloruro de fierro a un extracto de planta se pueden separar ambos tipos de taninos. El primero da un color azul, mientras el otro es de color verde (Smitt y Schottlander, 2000). Los taninos son a veces responsables de la actividad biológica de las plantas. Sin embargo, son difíciles de aislar y a veces significa un enorme trabajo para las pequeñas cantidades que se encuentran presentes. Por lo tanto, no son interesantes para la industria farmacéutica.

### **Terpenos**

Muchas sustancias naturales pertenecen a los llamados terpenoides. Significa que todos tienen el mismo origen biogenético y que se forman por vía del acetato-mevalonato, dando así unidades de isopreno. Los terpenoides se clasifican según la cantidad de átomos de carbono en la molécula, por ejemplo, monoterpenos (C<sub>10</sub>), sesquiterpenos (C<sub>15</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>), triterpenos (C<sub>30</sub>), etc.

Los mono y sesquiterpenos se encuentran comúnmente en las plantas, componiendo el aceite etérico. Es poco frecuente la presencia de diterpenos en las plantas, con excepción de las giberelinas, que son un grupo de hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas. Los triterpenos son comunes, se encuentran libres, como ésteres o como glucósidos donde el último actúa como saponina. Algunos de los triterpenos más comunes son: alfa y beta - amirine, el ácido ursólico y el ácido oleanólico. Esas sustancias se encuentran

como una capa de cera que protege las hojas y frutos contra los ataques de insectos y microorganismos. Ellas se encuentran en la corteza, en la resina y savia de las plantas.

### **Carotenoides**

Los carotenoides son pigmentos apolares y el beta caroteno se encuentra en todas las plantas. Los carotenoides tienen dos funciones principales para la planta: colaboran en la fotosíntesis y son los que le dan el color a las flores o a la fruta. Los terpenoides son compuestos apolares e incoloros. No se encuentra ningún reactivo específico, a veces se usa ácido sulfhídrico, anisaldehído o ácido clorhídrico, para obtener un color rojo o violeta después de calentarlos (Smitt y Schottlander, 2000).

## 2.4 Aspectos farmacológicos

### 2.4.1 Actividad antimicrobiana

#### 2.4.1.1 Resistencia

Los medicamentos antibióticos pueden ser divididos en antibióticos que provienen de microorganismos, medicamentos quimioterapéuticos (producidos artificialmente) y antibióticos de compuestos químicos de plantas (inferiores y superiores) o de animales. La mayoría de los antibióticos comerciales provienen de bacterias u hongos, como es el caso de la estreptomina (Evans, 1996).

Las enfermedades infecciosas a nivel mundial están en continuo crecimiento, porque muchas bacterias están desarrollando resistencias a los antibióticos sintéticos. Eso significa que las infecciones con o sin microorganismos dañinos pueden amenazar la vida del ser humano. Es un problema especialmente para las personas que se hospitalizan o están gravemente enfermas con su sistema inmunitario defectuoso. Por lo tanto, hay necesidad de nuevos y mejores antibióticos. Por ejemplo, el *Staphylococcus aureus*, el cual representa una infección común por hongos patógenos nosocomiales en los hospitales en USA, ofrece resistencia a la metilina. El *Enterococcus* presenta resistencia a la vancomicina. La tuberculosis, que ha estado bajo control durante muchos años, ha desarrollado resistencia sobre diversos medicamentos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) anticipa que para el año 2005 la tuberculosis provocará la muerte a más de 4 millones de personas al año; actualmente mueren unos 2,5 millones. Se dispone de pocos o escasos antibióticos que efectivamente ataquen esta infección existiendo la urgente necesidad de buscar nuevos y efectivos antibióticos.

Desde 1980 a 1990 se ha duplicado la cantidad de infecciones por hongos de *Cándida* en los pacientes hospitalizados en U.S.A. El *C. albicans* es el cuarto hongo patógeno nosocomial que provoca el 40% de las muertes de pacientes en los hospitales. Los pacientes que tienen un sistema inmunológico debilitado adquieren rápidamente esas infecciones. Sobre el 90% de los pacientes de SIDA manifiestan infecciones por hongos y muchos de ellos mueren. Eso demuestra la necesidad de buscar en forma sistemática nuevos medios desinfectantes, no tóxicos, para combatir esas enfermedades (Borris, 1997).

#### 2.4.1.2 Compuestos antimicrobianos en las plantas

Las plantas también desarrollan infecciones de bacterias, hongos y virus. Los organismos específicos que los infectan son similares a los que encontramos en animales y seres humanos. Las plantas no tienen un sistema inmunológico como los seres humanos, pero utilizan otros mecanismos de defensa. Las plantas tienen la capacidad de producir sustancias antimicrobianas antes de iniciarse la infección y de producir fitoalecscinas después de ser infectados (Mitscher y Rao, 1984).

Las fitoalecscinas son compuestos relacionados con el estrés de la planta y se producen como una respuesta a estímulos químicos, físicos o microbiológicos destructivos. Entre estos tenemos los isoflavonoides producidos por algunas especies de leguminosas (Evans, 1996). Los compuestos generados por estrés son de gran interés para la industria farmacéutica. Los compuestos antimicrobianos, hasta ahora encontrados en las plantas, son del grupo de los flavonoides, quinonas, cumarines, compuestos alifáticos, terpenos y compuestos fenólicos.

Los componentes antimicrobianos de las plantas son a veces poco fuertes y tienen un campo limitado. Muchos antibióticos comerciales son efectivos en concentraciones bajo 1Ug/ml, indicando con ello que los antibióticos de las plantas pueden competir con aquellos comerciales. Las infecciones ofrecen resistencia a los antibióticos comerciales, favoreciendo a que los antibióticos de las plantas, por sus compuestos naturales, tengan un campo de aplicación específico y así puedan actuar sobre un microorganismo patógeno concreto y mostrar un menor riesgo al desarrollo de resistencia (Mitscher y Rao, 1984).

#### 2.4.1.3 Formas de acción de medicamentos antimicrobianos

Para que un antibiótico tenga éxito debe matar o controlar el crecimiento de los microorganismos que están produciendo daño al organismo. Por ejemplo, para eliminar o matar una bacteria es importante destruir su pared celular, la biosíntesis de proteínas, el ácido nucleico y su metabolismo. Para eliminar un hongo es importante destruir su membrana citoplasmática. Tanto las bacterias y los hongos tienen una pared celular y una membrana citoplasmática para proteger y controlar la transmisión de las sustancias hacia dentro y hacia fuera del citoplasma. Un antibiótico puede influir en ese proceso de manera que puede detener la infección provocada por el hongo o bacteria.

La pared celular de un hongo es similar a las de las plantas superiores, mientras que en la bacteria presenta diferencias. Basado en la construcción de la pared celular y su coloración de Gram, las bacterias se pueden dividir en bacterias Gram positivas y Gram negativas. La pared celular Gram negativa es más compleja que la Gram positiva, lo cual significa que las bacterias Gram negativas aumentan su resistencia sobre algunos antibióticos (Húgo y Russel, 1997). La pared celular es permeable para sustancias con bajo peso molecular como el agua y iones e impermeable para moléculas grandes. La membrana del citoplasma no es polar, pero es impermeable para moléculas polares, excepto cuando tiene que transportar una proteína. Algunas bacterias usan esas proteínas para entrar a la célula. De allí se dice que una determinada bacteria interactúa con las proteínas (Brock y Madigan, 1991). El antibiótico más efectivo es el que interfiere la pared celular de la bacteria. Ese antibiótico tiene un alto índice terapéutico.

Además, la pared celular de la bacteria tiene una estructura que no se encuentra presente en la célula eucariótica, en consecuencia, el antibiótico no puede destruir la pared de una célula eucariótica. Otros antibióticos pueden inhibir la síntesis de la proteína y así logran obtener un alto índice terapéutico. El antibiótico que destruye la síntesis del ácido nucleico o destruye la membrana celular, no es selectivo. Ello significa que no hay gran diferencia entre una célula procariótica y una eucariótica. Algunos antibióticos son antimetabolitos, eso significa que bloquean el metabolismo inhibiendo las enzimas (Prescott et al., 1996).

#### 2.4.1.4 Métodos de búsqueda selectiva (screening) de la actividad antimicrobiana:

Para investigar la actividad antimicrobiana en las plantas se usa a menudo los métodos bioautográficos. Esos métodos permiten localizar y en algunos casos identificar diferentes grupos de sustancias que cumplen una determinada finalidad una vez hecha la separación por cromatografía en capa fina (CCF) (Saxena et al., 1995).

Se encuentran diversos métodos bioautográficos. Usando en forma directa la bioautografía se pueden hacer crecer los microorganismos en forma directa en una placa de cromatografía en capa fina (CCF). Al entrar en contacto directo con el método Bioautográfico se transfieren los compuestos antimicrobianos a la placa de CCF con un agar inoculado y luego se cubre la placa de CCF con este mismo agar (Rahalison et al., 1991).

Después de la incubación se pulveriza la placa con una solución de dimetiltiazolidifeniltetrazoliumbromido (MTT) por la cual la zona inhibida, después de 15- 30 minutos, presenta una mancha amarilla con un fondo azul. Este influye sobre la bacteria y puede reducir la sal amarilla MTT-tetrazolium a un fondo azul MTT-formazan con la ayuda de la enzima succinildeshidrogenasa, que se encuentra en las mitocondrias de las bacterias (Santa María et al., 1997). Hay investigaciones sobre el uso de la capa de agar Bioautográfico y la Bioautografía directa, elaboradas por el Instituto de Medicina Química, Departamento de Farmacognosia de la Universidad de Copenhague, Dinamarca (Oversesvejledning, 2001).

##### 2.4.1.4.1 Método Bioautográfico Directo con Cromatografía de Capa Fina

La bioautografía directa es aplicable a microorganismos que pueden crecer directamente en la placa de cromatografía en capa fina (CCF).

##### 2.4.1.4.2 Método de Capa de Agar Bioautográfico con Cromatografía de Capa Fina

Es una combinación de la difusión en agar con el Método Bioautográfico Directo y es aplicable a un amplio espectro de microorganismos.

Como ya se mencionó, produce bien definidas zonas de inhibición y no es sensible a la contaminación. Por un proceso de difusión los compuestos activos son transferidos desde la fase estacionaria a la capa de agar la cual contiene los microorganismos, se incuba y luego pulveriza con MTT, apareciendo las zonas de inhibición.

#### 2.4.2 Actividad antioxidante

Un antioxidante es una sustancia que se encuentra en pequeñas concentraciones comparado con el sustrato antioxidante (Symens y Gutteridge, 1998). La principal actividad de un antioxidante es regular, inhibir, evitar o reparar daños asociados con el proceso oxidativo o bajo un estrés oxidante (Maxwell, 1995).

El aumento de radicales libres significa un estrés oxidante. Todas las personas están propensas a experimentar diversas formas de estrés oxidante. En el cuerpo humano existen diversos mecanismos antioxidantes para prevenir o inhibir un proceso oxidante, el cual está estrechamente relacionado con las etapas patogénicas de diversas enfermedades de la persona. En muchas enfermedades existen mecanismos naturales de defensa antioxidante y que, en la mayoría de los casos, es deficiente. En tal caso, al inhibirse el antioxidante natural del cuerpo humano, se favorece en cuadro más propicio para desarrollar una enfermedad.

Enfermedades como la diabetes mellitus, otras de tipo inflamatorias y de procesos lentos como la arterioesclerosis y el cáncer se pueden prevenir al suplementar un antioxidante natural al organismo humano (Maxwell, 1995).

#### 2.4.2.1 Radicales libres

Un radical libre se define como un compuesto químico que está en un estado independiente e inestable, con uno o varios electrones no apareados. Esta situación de inestabilidad energética induce a producir radicales libres, los cuales son más activos, pero de corta duración. Los radicales libres logran su estabilidad cuando reciben un electrón de alguna molécula vecina y de esa forma reducen su actividad. Esas reacciones permiten interactuar con otras moléculas y crear una cadena de reacciones (Maxwell, 1995). Una cadena de reacción con radicales libres puede dividirse en tres etapas:

- 1. Iniciación:** la cadena de reacción libera un radical libre en acción.
- 2. Propagación:** el radical libre creado reacciona sobre otro para estimular la creación de nuevos radicales libres.
- 3. Término:** se produce la interrupción de la cadena de radicales libres (McDermott, 2000)

El resultado de la cadena de reacciones es dependiente de la clase de radical libre que ha iniciado esa cadena y de las otras moléculas que se agregan. Es decir, nunca se va a encontrar una cadena de reacción idéntica (Bors et al., 1992). El término de la cadena de reacciones puede ocurrir con un antioxidante, el cual interfiere para producir un producto de baja reacción y así la secuencia se destruye (Maxwell, 1995).

#### 2.4.2.2 Compuestos Oxígeno-Reactivos

La existencia de un organismo en un ambiente aeróbico permite crear un compuesto de oxígeno reactivo (COR). El COR puede ser un radical libre, donde los radicales más comunes son el peróxido, el óxido de nitrógeno, un ión radical superóxido y un radical hidroxilo. El COR también puede ser un compuesto no radical como el oxígeno simple y el peróxido de oxígeno (Pietta, 2000). El COR de radicales libres favorece la creación de radicales en forma constante, ya sea bajo el efecto de factores internos o externos.

Los factores externos que pueden iniciar la formación de radicales son: sustancias contaminantes presentes en el aire, el metabolismo de un medicamento simple, el humo de cigarrillos, los rayos X, los rayos ultravioleta. Un factor interno puede ser una reducción de oxígeno en la mitocondria, el cual libera un radical iónico superoxidante para la célula. Estos radicales son poco reactivos, pero pueden reaccionar con iones metálicos (iones de transición) como fierro y cobre bajo la formación de un radical activo, como el hidroxilo. Otro factor interno es la inflamación, que activa los fagocitos, quienes liberan radicales para combatir el ingreso de patógenos. Esos radicales libres también pueden producir daños a las células (Maxwell, 1995)

#### 2.4.2.3 Estrés oxidante

Se necesitan pequeñas cantidades de radicales libres para el funcionamiento del cuerpo humano, pero se produce una inestabilidad cuando hay un aumento de radicales libres con relación a la cantidad de antioxidantes, generando el estrés oxidativo (Symes y Gutteridge, 1998). Un aumento de las sustancias oxidantes produce perturbaciones en el balance del sistema biológico e incluso pueden causar la muerte. Las lipoproteínas y los ácidos grasos insaturados en la membrana celular son especialmente afectados por la acción oxidante (peroxidación de lípidos).

La presencia de oxígeno puede iniciarse de un radical libre simple, para luego transformarse en una cadena de reacciones de radicales libres y que al final van a producir una cadena

de peroxidación de lípidos. Eso crea serias perturbaciones en el funcionamiento de la membrana celular. Si la proteína es atacada por radicales libres puede dividirse, puede formar anillos mezclados o agregaciones. Como consecuencia de eso se produce una perturbación de los iones, oscilaciones en las células receptoras y de la fosforilización oxidante. Además, los radicales libres pueden provocar daño al ADN y por consiguiente, causar una mutación, muerte o cáncer celular (Maxweel, 1995).

#### 2.4.2.4 Enzima Xantinoxidasa

La enzima xantinoxidasa cataliza la oxidación de la hipoxantina y xantin para formar el ácido úrico (Cos et al., 1998). El ácido úrico llega a las articulaciones y provoca la artritis, la cual es una inflamación dolorosa (Sweeney, et al., 2001). Durante la formación del ácido úrico, hay una catalización de la xantinoxidasa, el cual influye sobre la molécula oxidante como un aceptador de electrones, dando como resultado la formación de un radical superoxidante y peróxido de hidrógeno. De este modo, la xantinoxidasa es una importante fuente para la formación de radicales superoxidantes (Cos et al., 1998).

#### 2.4.2.5 Formas de acción de los antioxidantes

Los antioxidantes pueden funcionar de diversas formas. En la fase de iniciación y propagación se catalizan enzimas antioxidantes reduciendo los radicales libres, las cuales son en general, intracelulares. Los antioxidantes preventivos permiten unir los iones metálicos como fierro y cobre para impedir la reacción con el peróxido de hidrógeno o la reacción del radical hidroxilo. El antioxidante captador de radicales, detiene la cadena de radicales libres antes que las estructuras vitales del organismo comiencen a ser dañadas. Algunos ejemplos son la vitamina C y E y otros compuestos flavonoides.

La inhibición de la enzima xantinoxidasa evita la formación de aniones superóxidos, los cuales aparecen durante el metabolismo del ácido úrico y de la xantinoxidasa. Ejemplos de inhibidores de la xantinoxidasa son los Allopurinol y Oxypurinol (Maxwell, 1995). El Allopurinol es usado en Dinamarca como medicamento para la artritis.

#### 2.4.2.6 Actividad antioxidante en las plantas

El cloroplasto en las plantas verdes produce oxígeno durante la fotosíntesis. Durante ese proceso hay una inevitable entrada de electrones libres, los cuales son la base para la formación de radicales en la planta. Los radicales en la planta son tóxicos, de allí que la planta desarrolla un mecanismo de defensa. La defensa química de las plantas contra los radicales libres es conocida como antioxidante (Bors et al., 1992).

#### 2.4.2.7 Métodos de búsqueda selectiva de la actividad antioxidante:

##### 2.4.2.7.1 Método Bioautográfico Directo con Cromatografía de Capa Fina y aplicación de DFPH (2,2-difenil-1-picrihidracil)

El método esta basado en el radical 2,2 difenil-1-picrihidracil (DFPH) que forma radicales estables en solución acuosa y metanol, reduciéndose a un amarillo difenilhidracina en presencia de un antioxidante. El efecto del antioxidante y de allí la capacidad de capturar radicales se puede observar en espectrofotometría cuando la solución de DFPH de color violeta fuerte, se colorea y queda amarillento por la presencia de antioxidantes (Lindberg Madsen et al., 2000).

#### 2.4.2.7.2 Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Xantinoxidasa.

La enzima xantinoxidasa oxida la xantina a ácido úrico en un pH 7.8 y la inhibición de la enzima permite una producción menor de ácido úrico. La cantidad de ácido úrico se puede investigar con espectrofotometría, cuando el máximo de absorción de ácido úrico es 295 nm.

Cuando se compara la formación de ácido úrico en una solución tamponada, xantina y xantinoxidasa con la cantidad de formación de ácido úrico en solución del extracto de planta, xantina y xantinoxidasa se observa que el extracto de la planta inhibe la xantinoxidasa (Método modificado según Sweeney et al., 2001).

#### 2.4.3 Actividad antihipertensiva

La hipertensión es una enfermedad crónica a nivel mundial. En general, los expertos no indican a la hipertensión como una enfermedad, pero el riesgo de vida especialmente con ataques cardiacos e inestabilidad en los riñones, es grande. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la hipertensión como una presión diastólica por sobre 95 mm Hg y /o una sistólica sobre los 160mm. Hg (Walker, 1999).

La hipertensión influye entre el 10% y 20% de la población en Dinamarca. La causa esencial es desconocida en el 95% de los casos. Sin embargo, la causa de hipertensión es conocida en personas obesas y con diabetes que no necesitan insulina, en quienes consumen enormes cantidades de sal, de alcohol y por factor hereditario.

En otros casos la causa puede ser alguna enfermedad al riñón, el embarazo, el uso de píldoras anticonceptivas, un exceso de caramelos con lakrids o alcohol y el uso de medicamentos antiinflamatorios sin esteroides. Para esos casos, muchos pacientes pueden ser tratados y recuperan su salud (Pedersen y Lundgren, 1998).

##### 2.4.3.1 Desarrollo de la hipertensión

La causa principal para el desarrollo de la hipertensión es un aumento de la contracción de la arteriola o un aumento del contenido de agua en el organismo. Fisiológicamente hay dos mecanismos que controlan la presión arterial. El sistema nervioso simpático y el sistema renina-angiotensina - aldosterona (Rang et al., 1995). El sistema nervioso simpático captura el boro receptor de la periferia, que permite cambiar la presión arterial y envía impulsos para el centro cardiovascular en la médula. Este influye en los nervios para cambiar la presión sanguínea. Estímulos como Beta 1 adrenoreceptor en el sistema nervioso simpático aumenta el ritmo del corazón, estimulando Beta 2 adrenoreceptor, el cual influye en la dilatación de los vasos sanguíneos y el estímulo de Beta adrenoreceptor, que influye en el vaso contractor (Walker y Edwards, 1999).

Los riñones juegan un importante papel en regular la presión sanguínea a través del sistema renina – angiotensina - aldosterona. El boro receptor de la arteria de los riñones reacciona a un cambio de la presión sanguínea.

Cuando la presión cae, se libera la hormona renina. La renina se difunde por la sangre y descompone la proteína angiotensinogena, que se sintetiza en el hígado. Aquí se forma la angiotensina - I que en los pulmones se transforma en angiotensina II, bajo la presencia de la enzima convertidora angiotensina (Simonsen y Aabakke, 1999). Sobre esa actividad se inactiva la enzima convertidora angiotensina bradiquinina y otros vasodilatantes de péptidos, inhibiéndola y cayendo la presión (Rang et al., 1995).

La angiotensina II tiene las siguientes cualidades: es una de las más potentes sustancias para poder contraer las pequeñas arterias. Es un importante regulador de la presión sanguínea en los riñones y en la filtración de glomérulos. Estimula la liberación de aldosterona de la glándula suprarrenal. La aldosterona aumenta la retención del ión sodio ( $\text{Na}^+$ ) y de allí hay retención de agua, la cual es reabsorbida en los riñones junto con el ión sodio ( $\text{Na}^+$ ) bajo la concentración de orina. Aquí hay un aumento de volumen en los canales sanguíneos, lo que permite que aumente la presión arterial, como también hay un aumento de la sed (Simonsen y Aabakke, 1999).

#### 2.4.3.2 Tratamiento de la hipertensión

La hipertensión debe ser tratada cuando el aumento de la presión puede causar daños en el corazón, cerebro y riñones. Como regla general se desarrollan diversos síntomas, los cuales reducen la capacidad de los órganos del cuerpo. Esto acontece porque la hipertensión daña directamente las pequeñas arteriolas del organismo o la hipertensión acelera el desarrollo de la arterioesclerosis. Esos síntomas demoran varios años para lograr su desarrollo, de allí que muchas personas pueden vivir con esos síntomas gran parte de su vida sin que presenten algún tipo de enfermedad (Pedersen y Lundgren, 1998). Una vez que se logra reducir la hipertensión en los pacientes, hay una buena señal para seguir el tratamiento. A veces puede tomar casi toda la vida del paciente y lograr estar libre de dichos síntomas. El uso de medicamentos sin efectos laterales es muy importante, de allí que existe la necesidad de descubrir nuevos medicamentos para esos pacientes (Rang et al., 1995).

El tratamiento medicinal para esos pacientes se inicia con la reducción de la presión arterial, realizando cambios de estilos de vida como una dieta adecuada, ejercicios físicos, eliminar el hábito de fumar y disminuir el consumo de alcohol. Si con ese régimen no se logra reducir la presión, puede significar que la hipertensión es complicada y se debe tratar con medicamentos.

Existen diversos medicamentos para reducir la presión sanguínea, pero aquí sólo se tratará el inhibidor - ECA (Enzima para la Conversión de Angiotensina).

#### 2.4.3.3 Inhibidor de la Enzima de Conversión de Angiotensina (Inhibidor - ECA)

El inhibidor - ECA funciona bloqueando la formación de angiotensina I a angiotensina II y de allí influye en los vasos contractores de la angiotensina II, reteniendo el efecto del sodio de la aldosterona. De ese modo se reduce una serie de estímulos, que en forma directa o indirecta cooperan en aumentar la resistencia y el volumen de la sangre. De esa forma se reduce la presión sobre los ventrículos y el bombeo quitándole una sobrecarga al corazón. Además, reduce la degradación de la inhibición del péptido del vaso dilatador bradiquinina.

De esta forma podemos decir que la inhibición en la formación de angiotensina II, permite ser responsable del efecto clínico del inhibidor ECA (Simonsen y Aabakke, 1999). Hay tres grupos de inhibidores ECA usados hoy en día. Se trata del captopril, que tiene un grupo sulfhídrico (-SH), el fosinopril que tiene un grupo fosfórico y el último, que es uno que posee un grupo ácido dicarboxilo (- $2\text{COOH}$ ), los cuales son vendidos en el mercado danés. Esos medicamentos han mostrado efectos favorables sobre diversas enfermedades del corazón como insuficiencia cardiaca, infarto del miocardio, hipertrofia del ventrículo izquierdo e hipertensión, además, inhiben el efecto de la nefropatía crónica.

El inhibidor ECA es el primer medicamento que se usa cuando hay problemas de ritmo cardíaco. Cuando el corazón comienza con las oscilaciones en la distribución de la sangre, se concentra sólo en bombear sangre a los órganos vitales. Esto acontece porque algunas paredes de las arterias se juntan y aumenta la resistencia para vaciarse y de este modo se produce una sobrecarga para las paredes musculares del corazón y para las paredes de las arterias. Eso provoca una hipertrofia a las células de los músculos del corazón. Un tratamiento permite disminuir esas oscilaciones del corazón para un bombeo normal de sangre a todo el cuerpo (Simonsen y Aarbakke, 1999).

#### 2.4.3.4 Efectos laterales del Inhibidor-ECA

Se ha observado que los pacientes que usan pequeñas cantidades del inhibidor ECA manifiestan una tos seca y que en algunos pacientes su presión cae con pequeñas cantidades. Eso se observa especialmente cuando hay un tratamiento con diuréticos y/u otros dilatadores de vasos. Por esto se recomienda comenzar el tratamiento con muy pequeñas cantidades de inhibidor ECA para evitar que exista un aumento de suero de potasio, especialmente en los pacientes que tienen una función renal disminuida, y en algunos casos se observa alopecia y edema angioneurótico, hay alergia hinchándose la cara y las vías aéreas.

#### 2.4.3.5 Método de búsqueda selectiva de la actividad antihipertensiva: Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Enzima de Conversión de Angiotensina - ECA

Más allá de la transformación de Angiotensina - I a Angiotensina - II, la enzima de conversión de la angiotensina, ECA, puede descomponer dipéptidos de carboxi – terminales de otras sustancias de péptidos a Angiotensina - I. Por ejemplo, Hipuril-L-histidil-L-leucina (Hip-His-Leu) se descompone a ácido de hipúrico + His-Leu. His-Leu puede usarse en ensayos *in vitro* para mostrar el inhibidor ECA.

El uso de ese bioensayo permite determinar la cantidad de ácido hipúrico por medio de la espectrofotometría, la cual se forma de Hip-His-Leu ACE. La reacción óptima cae alrededor de un pH 8,1 a 8,3 en concentración de NaCl de 300 mM y en una concentración de Hip-His-Leu en 5-10 mM. El ácido de hipúrico tiene una máxima absorción en 228 nm. El método ha sido modificado por el Laboratorio de Farmacognosia de la Universidad de Copenhague basado en Cushman y Cheung, 1971.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Equipos e Instrumentos

Para analizar los extractos de plantas medicinales fue usado un espectrofotómetro, tipo Spectronic Unicam, Helios. Para la tamización del inhibidor de xantinoxidasa e inhibidor ACE se usó una jeringa filtradora del tipo Osmonics Inc. Batch. Nr 143451, filtro del tipo AGF 651-14 mm y cubeta de cuarzo del tipo Hellma, SUPRASIL. Se emplearon sobres para envolver del tipo Plastibrand, con las dimensiones 12,5 x 12,5 x 45 mm.

#### 3.2 Materiales

##### 3.2.1 Material vegetal

Las especies fueron seleccionadas de acuerdo al conocimiento ancestral que existe sobre el uso medicinal de estas plantas en la comunidad Mapuche. El material vegetal estudiado proviene de cuatro diferentes lugares de la Décima Región.

Siguiendo el método de investigación etnofarmacológica descrito por Balick en 1990, y de acuerdo a las sugerencias del profesor Alfonso Guzmán, las especies elegidas para la

investigación fueron:

- (a) Sector de Ensenada, cerca del Parque Nacional Vicente Pérez Rosales, hacia la cordillera de los Andes, Provincia de Llanquihue:

*Tristeris tetrandus*  
*Laurelia sempervirens*  
*Laureliopsis philippiana*  
*Bechnum chilensis*  
*Gevuina avellana*  
*Polypodium feuillei*  
*Gunnera chilensis*  
*Pseudopanax laetevirens*  
*Coriaria ruscifolia*  
*Fuchsia magellanaica*  
*Chusquea quila*  
*Buddleja globosa*

- (b) Sector de Tril Tril, cerca del Océano Pacífico, Osorno:

*Amomyrtus meli*  
*Latua pubiflora*  
*Acaena argentea*  
*Ugni molinae*  
*Corynabutilon vitifolium*  
*Cissus striata*

- (c) Sector Rahue, Osorno:

*Cestrum palqui* (Rahue Alto)  
*Durvillea antarctica* (fue comprada en un mercado la Feria Libre Rahue Bajo)

- (d) Sector del Río Gol- Gol, Ruta 215, camino de Puyehue, Osorno:

*Lomatia hirsuta*

La recolección fue realizada por el profesor Jaime Zapata, Alfonso Guzmán, Lene Jorgensen y Jeannette Lauritsen.

Los lugares de colecta se caracterizan por un clima húmedo y temperado donde precipita 200 días al año con un promedio de 3000 mm anuales. La temperatura media alcanza a 16,5° C en verano y 6,5 ° C en invierno. Todas las plantas medicinales fueron empleadas para hacer el estudio antimicrobiano, antioxidante y antihipertensor dependiendo del uso medicinal dado por los Mapuches. Por ejemplo, si el cadillo (*Acaena argentea*) es usado como un desinfectante urinario, en el laboratorio se observó si esa especie contenía alguna sustancia bioactiva actuando como antibiótico. El melí (*Amomyrtus meli*) es usado para bajar la presión y en el laboratorio el melí fue testado para verificar si actúa como hipotensor.

### 3.2.2 Obtención de Extractos

Solvente: metanol

### 3.2.3 Búsqueda selectiva de la actividad antimicrobiana:

Soluciones, reactivos y sustancias de referencias empleadas en los puntos:

#### 3.2.3.1 Bioautografía Directa - Cromatografía de Capa Fina

### 3.2.3.2 Capa de Agar Bioautográfico - Cromatografía de Capa Fina

#### **Soluciones de sales**

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	7,00 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	3,76 g
KNO <sub>3</sub>	4,00 g
MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	2,05 g
NaCl	1,00 g
Agua destilada hasta	1 L.

#### **30% solución de glucosa**

D-(+)- glucosa-monohidratada (MERCK 1.08346.1000)  
7,5 g /25 ml de agua destilada

#### **Estándar**

Estreptomina (Sigma-Aldrich S-0890)  
0,5 mg/ml solución fisiológica tamponada  
Amfotericina B-soluble (ICN Biomedicals 16-723-46)  
0,25 mg /ml solución fisiológica tamponada

#### **Reactivos**

Anisaldehido-sulfurado pulverizados  
0,5 ml 4 – metoxibenzaldehído  
10,0 ml vinagre al hielo  
85,0 ml Metanol  
5,0 ml Ácido sulfúrico concentrado

NSTpulverizados  
Difenilboriloxietilamina, 1 g/100 ml Metanol

MTT pulverizados  
Dimetiltiazolildifeniltetrazolium bromido (ICN Medicals 102227)  
2,5 mg/ml de agua destilada

Etilacetato (calidad HPLC)  
Metanol (calidad destilada)  
Tolueno (calidad HPLC)

#### **Sustancias de referencias**

Ácido clorogénico	0,5 mg/ml MeOH
Hiperósido	0,5 mg/ml MeOH
Quercetina	0,5 mg/ml MeOH
Rutin	0.5 mg/ml MeOH

#### **Placa para cromatografía de capa fina (CCF)**

DC-papel de aluminio, gel de alga 60 F254 (MERCK 1.05554)

### 3.2.3.3 Microorganismos requeridos para los bioensayos

Organismos usados para los bioensayos

Bacterias: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Hongos: *Candida albicans* y *Penicillium expansum*.

Las bacterias usadas son microorganismos estandarizados del American Type Culture Collection (ATCC) (USA) y los hongos del International Mycological Institute (IMI) Inglaterra

### **Agar y bouillón**

Bacterias a usar con bouillón (aprox.  $6 \times 10^8$  CFU/ml)

Mueller Hinton Broth II, 21 g/l de agua destilada (Lab. MTM Q21984)

### **Bacterias**

CASO – agar (1,5% como capa), 15 g/L de agua destilada (MERCK 1,05458)

*C. albicans*: Sabouraud con 4% glucosa agar, 32,5 g/L de agua destilada (MERCK 1.054438).

3.2.4. Búsqueda selectiva de la actividad antioxidante:

3.2.4.1 Bioautografía Directa - Cromatografía de Capa Fina y aplicación de DFPH (DPPH = 2,2-difenil-1-picrihidracil)

### **Medición de la capacidad de captura del radical con ayuda de DFPH**

#### **Solución de DFPH**

2,2-difenil-1-picrihidracil (90%) (Sigma – Aldrich)

0,04 mg/ml Metanol

#### **Reactivos pulverizados para DFPH**

2,2-difenil-1-picrihidracil (90%)

0,2% de metanol

#### **Reactivo pulverizado para anisaldehido- ácido sulfúrico**

0,5 ml 4-metoxibenzaldehido

10,0 ml vinagre al hielo

85,0 ml metanol

5,0 ml ácido sulfúrico concentrado

#### **NST reactivos pulverizados.**

Difenilboriloxietilamina, 1 g/100 ml Metanol

#### **Estándar**

Rutin, 2mM, Quercetina- 3-\_\_-D-rutinoside (95%)

Trihidrato cristalizado, 24,3 mg/20ml MeOH (Sigma- Aldrich)

#### **Solución base**

Etilacetato (calidad HPLC)

Metanol (calidad destilada)

Tolueno (calidad HPLC)

#### **Sustancias de referencia**

Quercitina (3,3,4,5,7-pentahidroxi flavona, dihidrato) (Sigma- Aldrich)

Rutin (Quercitina -3-\_\_-D-rutinoside (95%), Trihidrato cristalizado) (Sigma-Aldrich)

Hiperósido (ROTICHROM)

### **Placa CCF**

Papel de aluminio, gel de alga 60 F254 (MERCK 1.05554)

#### 3.2.4.2 Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Xantinaoxidasas.

Soluciones, reactivos y sustancias de referencia:

Acido clorhídrico 1N

Hidroxido de sodio 2N

### **Fosfato neutralizado (buffer) 1M**

A:  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  (99.0 – 102,0%) (MERCK 1.06346)

2,78 g/100ml agua destilada

B:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , libre de agua (min. 99%) (MERCK 1.06586)

7,17 g/100 ml agua destilada

Mezcla de 8,5 ml de A y 91,5 ml de B con 100 ml de agua destilada, pH en 7,8

### **Xantín neutralizado 17 $\mu\text{M}$**

A: xantín, 2,6-dihidroxipurina (min. 90%) (Sigma- Aldrich)

2,6 mg disuelto en 10 ml de fosfato neutralizado

100  $\mu\text{l}$  de A se mezcla con 9,9 ml de fosfato neutralizado, pH usado es 7,8

### **Xantinaoxidasas 0,5 U/ml**

XO: oxigenoreductasa, 1U/1,2 ml (Sigma – Aldrich)

12  $\mu\text{L}$  de XO en solución de 488  $\mu\text{L}$  de fosfato neutralizado

### **Estandar**

Allupurinol (0,5  $\mu\text{M}$ )

4-hidroxipirazolo (3,4-d) pirimidin (limpio) (Sigma- Aldrich).

A: 3,4 mg solución en 5 ml de fosfato neutralizado

50  $\mu\text{l}$  A se mezcla con 5 ml de fosfato neutralizado

#### 3.2.5 Búsqueda selectiva de la actividad antihipertensiva: Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Enzima de Conversión de Angiotensina - ECA

Soluciones, reactivos y sustancias de referencia:

NaCl neutralizado

NaCl (min. 99,5%) 1,75 g (MERCK 106404)

Ácido bórico (min. 99,8%) 0,62 g (MERCK 1157194)

Agua destilada arriba de 100 ml

Se mezcla hasta que el ácido bórico quede completamente disuelto, el pH debe ser de 8,25

NaOH 2M

### **Hip-His-Leu neutralizado**

(N-benzoil-Gli-His-Leu) (Sigma- Aldrich)

6,12 mg/2,5 ml NaCl neutralizado

### **Solución de ECA 0,1 U/mL NaCl neutralizado**

Enzima de la conversión de angiotensina (ECA) peptidil-dipeptidasa A, 0,1 U (Sigma- Aldrich)

Ácido sulfúrico, 1N  
Hidróxido de sodio, 2M  
Acetato de etilo, (HPLC calidad)

### **Estándar**

Captopril 5,15 nM (solución) (FLUKA)

A: 1,68 mg se disuelve en 10 ml buffer

B: 10 µl de A en 10 ml buffer

C: 1 ml de B en 10 ml buffer

D: 1 ml de C en 3 ml buffer

### 3.3 Métodos

#### 3.3.1 Selección y colección del material vegetal

Las plantas medicinales fueron colectadas durante el día (1-16 de abril del 2001). Las partes que se utilizaron fueron: la hoja, el tallo, a veces la flor, raíces y frutas, las cuales se lavaron muy bien con agua. Luego, fueron secadas a temperatura fresca colocándolas sobre papel de diario. Muchas plantas o partes de ellas no fueron muy bien secadas antes del viaje a Dinamarca. Para el viaje, todas las partes de las plantas fueron envueltas cuidadosamente en forma separada, en papel de diario y luego colocadas dentro de una bolsa plástica con sus respectivos datos. Una vez en el laboratorio en la Universidad de Copenhague, todo el material fue secado nuevamente a 40° C en un horno con aire circulante.

Para cada especie se coleccionaron dos herbarios. Las plantas fueron secadas entre papel de diario y prensadas. Una copia del herbario fue dejada en la Universidad de los Lagos, en la oficina del Profesor Jaime Zapata. En Dinamarca las plantas fueron pegadas y etiquetadas con fecha, lugar, colector, especie y nombre común. Luego se colocaron sobre un papel blanco y se guardaron en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Copenhague, Dinamarca.

#### **(a) Selección de plantas para evaluar la actividad antimicrobial:**

El material investigado fue dividido en tres grupos según su prioridad:

- (1) Plantas que según los métodos tradicionales son usadas como remedio antimicrobiano (contra infecciones)
- (2) Plantas tradicionalmente usadas para enfermedades que pueden estar relacionadas con microorganismos
- (3) Plantas no usadas tradicionalmente como remedio antimicrobiano

#### **(b) Selección de plantas para evaluar la actividad antioxidante:**

**Material vegetal para medir el DFPH:** El efecto antioxidante se puede observar para un gran número de enfermedades, siendo ese un método barato, rápido y simple de ejecutar, y seleccionando los ensayos de todas las partes de la planta.

**Material vegetal para evaluar la inhibición de la xantinoxidasa:** Se seleccionan las plantas que muestran el mayor efecto antioxidante en DFPH. Luego, se hacen las mediciones en las plantas que tienen un uso tradicional específico como antirreumático.

### (c) Selección de las plantas para evaluar la actividad antihipertensiva (inhibidor - ECA)

Las plantas seleccionadas fueron aquellas que se usan tradicionalmente como remedios para disminuir la presión de sanguínea y como diuréticos.

#### 3.3.2 Obtención de Extractos

Todas las partes de las plantas medicinales fueron molidas en una licuadora. Las estructuras duras como raíces y tallos fueron molidas en un pequeño molino. Diez (10) gramos de extracto de plantas pulverizadas y secas se colocaron en 150 ml de metanol destilado en un baño de ultrasonido por 30 minutos. Luego el extracto se filtró y el substrato remanente fue nuevamente colocado en 100 ml de metanol destilado en un baño de ultrasonido por 30 minutos. Después se filtraron y juntaron los extractos colocándolos en un secador a 40 ° C. El porcentaje de ganancia de la condensación se calculó en proporción de la cantidad de extracto evaporado y la cantidad que corresponde al material de la planta secada.

#### 3.3.3 Búsqueda selectiva de la actividad antimicrobiana:

El extracto del material vegetal se disuelve en metanol. Cinco (5) µl de estándar y diez (10) µl de cada solución se colocan en una placa CCF y se examina su efecto antimicrobiano. Se anota si el extracto actúa completamente, parcialmente o si tiene efecto en ese determinado microorganismo. Continúa el trabajo en una proporción 1:1 de extracto diluido, lo que da una completa inhibición de un microorganismo dado hasta alcanzar una concentración donde el extracto deja de actuar.

##### 3.3.3.1 Bioautografía Directa - Cromatografía de Capa Fina con *Penicillium expansum*:

El extracto de la planta medicinal se coloca sobre una placa CCF (10x10 cm) en diferentes cantidades. Se colocan 5 µl de amphotericina-B (0,25 mg/ml fisiológicamente neutralizado) como una sustancia estándar positiva. A las placas se les deja caer unas gotas de la suspensión de esporas de *P. expansum*. La suspensión se produce agitando con una cuchara en el cultivo del hongo y de allí se extrae un poco de los 25 ml de la solución de glucosa al 30%. El resto de los 25 ml se mezcla con 150 ml de solución de nutrientes autoclavados. La suspensión se traslada a un envase especial donde la placa CCF se introduce. Luego se saca la placa CCF y se introduce en una caja plástica bien cerrada con vapor de agua. Después de 4 -5 días se observan las zonas inhibidas.

Los extractos de las plantas medicinales son medidos en su capacidad para una total, parcial o ninguna inhibición de un determinado microorganismo. Se trabaja hasta que el extracto actúe completamente con una proporción de 1:1 de extracto diluido, hasta alcanzar la disolución que no influye más en el microorganismo. La cantidad de extracto de plantas usadas en la placa CCF para inhibir completamente a las bacterias era de 0,5 mg y de los hongos era de 1 mg

##### 3.3.3.2 Capa de Agar Bioautográfico - Cromatografía de Capa Fina con bacterias y *Candida albicans*:

Preliminar

En una placa CCF de 10x10 cm se coloca extracto de la planta en diferentes cantidades. Cinco (5) µl de sustancia estándar son usados como control positivo. Dicha sustancia estándar es estreptomina (0,5 mg/ml fisiológicamente neutralizado) se coloca sobre la bacteria y amfoterecina-B (0,25 mg/ml fisiológicamente neutralizada) sobre el hongo *C. Albicans*. La placa CCF se coloca en una placa petri cuadrada y se cubre con agar a 45° C de calor con los microorganismos. El agar se coloca sobre la placa CCF y se distribuye sobre ella, con una pequeña espátula para cubrir toda la placa. Las placas se envuelven con papel enparafinado y se incuban a 37° C, en un mínimo de 20 horas. Después de la incubación se coloca sobre la placa el compuesto dimetiltiazolildifeniltetrazoliumbromido (MTT) (2,5 mg/ml agua esterilizada). Las zonas inhibidas se leen después de un lapso de tiempo de 15 a 30 minutos como manchas amarillas con fondo azul.

Para las bacterias se usaron 10 ml de agar-CASO al 1,5% como medio de crecimiento mezclado con 1 ml de bacteria-bouillon. Para *C. Albicans* se usó 10 ml Sabouraud-4% glucosa con agar y se colocaron 40 µl de suspensión de las esporas de la bacteria. La suspensión de la bacteria se produce con la agitación de una cuchara de cultivo de agar de *C. Albicans* con 4 ml de solución esterilizada de NaCl (0,9%).

3.3.3.3 Bioautografía Directa - Cromatografía de Capa Fina con *Penicillium expansum*:  
Continuación El extracto de la planta medicinal y la sustancia de referencia se colocan en 2 placas CCF 10 x 20 cm. Las placas son untadas con *P. expansum*.

3.3.3.4 Capa de Agar Bioautográfico - Cromatografía de Capa Fina con bacterias y *Candida albicans*:

Continuación

Los extractos de plantas medicinales y las sustancias de referencia son colocadas en una parte de la placa CCF de 10x20 cm. La misma cantidad se coloca en la otra parte de la placa. Dentro de la placa se coloca con A: tolueno-etilacetato-metanol (proporciones 30:8:1) y B: etilacetato-metanol-agua (proporción de 100:13,5:10). Las soluciones A y B son seleccionadas en base a la experiencia preliminar.

Después de secar el contenido de la placa es dividido en la mitad. Una parte es observada en luz ultravioleta con marcadas zonas de fluorescencia y absorbancia. Luego la placa es untada con solución de NST y anisaldehído. Posteriormente son usadas como referencia del cromatograma. A la otra parte de la placa, se le coloca 5 µl estándar como un control positivo y se agrega 10 µl del extracto de la planta. Esto se hace cuando hay dificultad en detectar la actividad si la solución a testar muestra una combinación de varios compuestos con poca actividad biológica y hay posibilidad de adicionar efectos sinérgicos entre los contenidos de las sustancias. Las placas observadas son descritas bajo una capa de agar con bacteria o *C. Albicans*. Las zonas inhibidas se anotan con un valor R<sub>f</sub> y se comparan con los cromatogramas de referencias.

3.3.4 Búsqueda selectiva de la actividad antioxidante: Medición de la capacidad de capturar radicales libres con ayuda de DFPH

Los extractos de las plantas de efecto antioxidante se miden de modo introductorio con un método DFPH en concentraciones 100 y 50 µg/ml. Los extractos son diluidos 1:1 hasta que el método DFPH muestra un efecto antioxidante de 50% o menor. Los

extractos de las plantas medicinales que muestran un efecto mayor que 50% en concentraciones de 12,5 µg/ml, se calcula con un valor IC50, y se investigan e identifican los compuestos con actividad antioxidante con la ayuda de CCF. Además, esos extractos son usados para inhibir la xantinoxidasa.

### **Medición de la capacidad de capturar radicales libres con ayuda del DFPH**

El extracto seco de las plantas se diluye en metanol. La absorbancia  $A_{inicial}$  se mide a 517 nm en una cubeta conteniendo 2,85 ml de solución de DFPH. Se colocan 150 µl de solución de teste, después de 30 minutos se mide la absorbancia  $A_{final}$ . Se hacen duplicados de las muestras a medir.

La capacidad de captura del radical se mide con la fórmula:

$$100x (A_{inicial} \times 0,95 - A_{final}) / (A_{inicial} \times 0,95)$$

donde  $A_{inicial}$  es la absorbancia de la solución medida en 517 nm antes de colocar el extracto de la planta y  $A_{final}$  es la absorbancia de la solución medida en 517 nm 30 minutos después de haber colocado el extracto. El factor 0,95 entra, cuando la solución DFPH alcanza 95% de la solución, después de haber colocado 150 µl de solución de teste.

El extracto de plantas, que muestra un efecto sobre el 50% en concentraciones 12,5 µg/ml, se puede graficar como sigue: en el eje X se coloca la concentración en logaritmo. La capacidad de captura del radical es el promedio del valor obtenido del duplicado de la muestra y se coloca en el eje Y. Aquí obtenemos una curva sigmoidal, donde hay una línea recta en un área de 20-80% (Thygesen, 1999). El valor IC50 es para el extracto más activo de la planta y la correlación se calcula por regresión lineal. Ambos valores del duplicado de las muestras se toman en cuenta y se usan de manera que no es un promedio cuando se fabrica una curva de inhibición.

#### **3.3.4.1 Bioautografía Directa - Cromatografía de Capa Fina y aplicación de DFPH (2,2-difenil-1-picrihidracil)**

A ambas partes de una placa CCF de 10 x 20 cm se les coloca la misma cantidad de extracto. Se colocan placas

A: tolueno-etilacetato-metanol en proporción 30:8:1

B: etilacetato-metanol-agua en proporción de 100:13,5:10

C:etilacetato- ácido myre-vinagre-agua en proporción de 100:11:11:27 después se seca y se separa en la mitad.

Una parte se observa en luz ultravioleta y fluorescente y se marcan las zonas absorbentes, después se pulveriza con un líquido adecuado. La otra parte se pulveriza con 0,2% de 2,2-difenil-1-picrihidracil en metanol (DFPH) y se observa después de 15 minutos. La sustancia con actividad antioxidante se observa con manchas amarillas y fondo violeta. Compuestos que muestran manchas amarillas después de 30 minutos, se consideran que no son sustancias activas (Burits y Bucar, 2000). La sustancia activa se trata de identificar comparando las dos partes de la placa CCF.

#### **3.3.4.2 Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Xantinoxidasa.**

El extracto de la planta seca se pesa y se disuelve en un baño de

ultrasonido en 100 µl MeOH. Se le agrega 900 µl de fosfato neutralizado. El extracto se filtra y centrifuga hasta que la solución queda lista. El líquido sobrenadante es usado como una solución de teste. Se hace duplicado de la muestra.

**TEST+ (con enzima):**

- (1) 10 µl solución de teste
- (2) 2 µl de enzima
- (3) 988 µl xantina neutralizada
- (4) 200 µl 1N HCL

**TEST- (sin enzima):**

- (1) 10 µl solución de teste
- (2) 2 µl fosfato neutralizado
- (3) 988 µl xantina neutralizada.
- (4) 200 µl 1 N HCL

(1), (2) y (3) se incuban durante 30 minutos a 25° C. Luego se detiene la reacción para agregar el (4). La absorbancia  $Abs_{Test+}$  y  $Abs_{Test-}$  de acuerdo a la solución Test + y Test – se mide en 295 nm. La solución sin enzima se mide para ver al más alto contenido de las otras sustancias que el ácido úrico en la solución, que se absorbe en 295 nm.

La inhibición de xantinoxidasa se expresa en % como:

$$\text{Efecto de inhibición} = (1 - (\Delta Abs_{Test} / \Delta Abs_{max})) * 100\%$$

$\Delta Abs_{Max} = Abs_{Max+} - Abs_{Max-}$  es una expresión de la cantidad máxima de ácido úrico que se forma. Para medir ese valor se usa 10 µl buffer como solución de teste.

$\Delta Abs_{Test} = Abs_{Test+} - Abs_{Test-}$  es una expresión de la cantidad de ácido úrico formado presente en la solución testada.

**3.3.5. Búsqueda selectiva de la actividad antihipertensiva: Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Enzima de Conversión de Angiotensina - ECA**

El extracto de la planta seca se diluye en un baño de ultrasonido en 100 µl MeOH. Se agregan novecientos (900) µl NaCl neutralizado, se filtra y se centrifuga hasta que quede listo. El líquido sobrenadante se usa como solución de teste. La fabricación de la solución de teste se hace en 5 mg/ml de extracto de la planta seleccionada, lo que da una concentración del extracto de 1,33 mg/ml. Aquí se mide el valor  $A_{Max}$  cada vez que se usa un nuevo depósito con ECA. La enzima disuelta se usa el mismo día cuando la actividad de la enzima cae hasta detenerse. Para cada medida se fabrican tres soluciones A, B, y C en tubo Hounissen.

**Solución A:**

- 160 µl Hip-His-Leu tampón
- 80 µl solución de teste

Se mezcla y se agrega 60 µl de solución ECA. Esta prueba se prepara para medir la cantidad de ácido hipúrico, que se forma en la presencia de la solución de teste.

**Solución B:**

- 160 µl Hip-His-Leu tampón
- 80 µl NaCl-tampón.

Se mezcla y agrega 60 µl de solución de ECA. Esta prueba se prepara para medir la máxima cantidad de ácido hipúrico que se forma y muestra su máxima absorción.

### **Solución C:**

160 µl Hip-His-Leu tampón

80 µl solución de teste

Se mezcla y se agrega 60 µl de NaCl tampón. Esta prueba se elabora para compensar la sustancia que posiblemente se pierde durante la extracción de las plantas y son absorbidas en 228 nm.

Las mezclas A, B y C se colocan en un baño de agua a 37 °C durante una hora, luego esa reacción se detiene colocando 250 µl de HCL 1M. Se trasladan 500 µl de mezcla de la reacción a un tubo Hounissen, se agrega 1700 µl de etilacetato y se mezcla agitando fuerte durante 10 segundos. El tubo se traslada a un envase de centrifuga de 10 ml y se centrifuga cerca de 10 minutos a 5000 revoluciones por minuto, hasta que el etilacetato queda homogéneo.

Se trasladan 700 µl de la fase orgánica a un tubo Hounissen, se lleva a un baño de agua a 90 °C para que todo quede evaporado. Una sustancia gris, el ácido hipúrico, se ve en el interior del vidrio. Se agrega 1000 µl de agua, la muestra se coloca en un baño de ultrasonido por 15 minutos, donde se disuelve el ácido hipúrico y la absorción se mide en 228 nm con agua para compensar el líquido.

El porcentaje de inhibición de ECA, que sigue de la solución de teste se calcula como:

$$100 * (A_{Max} - (A +_{enzima} - A -_{enzima})) / A_{Max}$$

donde:

$A +_{enzima}$  es la absorción de la solución A

$A_{Max}$  es la absorción de la solución B

$A -_{enzima}$  es la absorción de la solución C

El extracto de la planta que muestra un efecto de inhibición sobre el 100% se interpreta como correspondiente a un total inhibidor en una concentración dada. Similarmente se interpreta que si el extracto de la planta da un efecto negativo de inhibición, corresponde a una sustancia sin poder de inhibición en una determinada concentración.

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1 Selección y colección del material vegetal**

#### **4.1.1 Resultados**

Las 21 plantas medicinales coleccionadas pertenecen a 17 familias Botánicas. El material fue seleccionado de acuerdo al uso tradicional de los Mapuches en la X Región del sur de Chile y no para un determinado uso medicinal. La información sobre las plantas medicinales: nombre científico, nombre común, familia botánica, parte empleada y su uso tradicional se presenta en el Cuadro N° 1. Esta información fue sometida al método de búsqueda selectiva. La información adicional sobre el uso tradicional de plantas medicinales en el mundo, de los contenidos químicos y el conocimiento de la actividad biológica fue obtenida en Dinamarca.

Para complementar los antecedentes se recurrió al banco de datos Medline.

#### **4.1.2 Discusión parcial**

Muchos de los criterios usados por el método etnofarmacológico durante

la investigación se han logrado aplicar tanto en la selección de las plantas medicinales como en la colección del material vegetal. Para obtener una buena colección etnofarmacológica es muy importante que las personas que participan en la selección y colección tengan un amplio conocimiento de botánica, de etnografía y de plantas medicinales.

La selección de las plantas medicinales fue realizada según los antecedentes proporcionados por el Sr. Alfonso Guzmán y el Sr. Jaime Zapata. Tal como lo plantea Balik, 1990, "los investigadores deben tener una comunicación fluida y buenas relaciones de mutuo apoyo con las comunidades indígenas y así lograr esa valiosa información sobre las plantas y sus usos", el Sr. Alfonso Guzmán ha dedicado muchos años para ganarse la confianza y buena voluntad de los Mapuches y le ha permitido reunir información sobre diversas plantas medicinales empleadas en su medicina tradicional. Las comunidades Mapuches han vivido cientos de años en la Décima Región desarrollando un sistema medicinal tradicional que todavía se utiliza para el tratamiento de la salud primaria, en los sectores rurales y en las partes periféricas urbanas de las ciudades.

La información fue obtenida a través de conversaciones con personas nativas que coleccionan, preparan medicamentos y usan las plantas y comparada con diversos informantes independientes en la Décima Región. Esto permitió dar una objetividad a la información reunida sobre el uso tradicional de las plantas medicinales.

La colecta del material vegetal fue hecha en otoño, lo que no permitió encontrar plantas con flores en estas especies, con la excepción del quintral *Tristerix tetrandus*. Sin duda, la presencia de flores en las plantas ayuda a una correcta identificación, lo que significa idealmente coleccionar estas especies en el verano, para guardarlas en el herbario. Por otra parte, cabe señalar que no fue posible pesar el material fresco en la Universidad de los Lagos, Osorno.

CUADRO 1. PLANTAS MEDICINALES SELECCIONADAS Y SU USO TRADICIONAL

Especie	Familia	Nombre común	Partes usadas	Uso tradicional *
<i>Acaena argentea</i> R. et P.	Rosaceae	Cadillo	hoja tallo	Diarrea, heridas, infección urinaria
<i>Amomyrtus meli</i> (Phil.)	Myrtaceae	Meli	hoja tallo	Mejora la digestión, mejora el hígado y baja la presión y el colesterol
<i>Blechnum chilense</i> (Kauf.)	Polypodiaceae	Costilla de vaca	Hoja	Mejora la digestión, alivia enfermedades al hígado, baja la presión y el colesterol
<i>Buddleja globosa</i> Hope	Buddlejaceae	Matico	Hoja flor tallo	Heridas del estómago, intestinos, hemorroides, resfriado y comezón
<i>Cestrum parqui</i> L'Her	Solanaceae	Palqui	hoja flor tallo	Baja la fiebre, desinfección de la piel, resfrío y picazón
<i>Chusquea quila</i> (Mol.) Kunth	Gramineae	Quila	Raíz tallo jugo	Para diabetes y desinfección de ojos
<i>Cissus striata</i> R. et P.	Ampelidaceae	Voqui colorado	hoja tallo	Mejora enfermedades de la piel, baja la fiebre, detiene la hemorragia, astringente
<i>Coriaria ruscifolia</i> L.	Coriariaceae	Deu	toda la planta	Astringente, mata ratones, mejora heridas
<i>Corynabutilon vitifolium</i> (Cav.) Kearney	Malvaceae	Huella	corteza tallo hoja	Mejora la menstruación, mejora enfermedades al hígado y ayuda a expulsar la placenta

<i>Durvillea antarctica</i> (Cham) Arito	Durvilleae	Cochayuyo	toda la planta	Contra el reumatismo, inflamación de la piel, mejora el apetito, combate heridas estomacales, para adelgazar, baja la presión, laxante, contra la tos y resfriado, mineraliza el cuerpo
<i>Fuchsia magellanica</i> Lam. Var.	Onagraceae	Chilco	fruta hoja corteza flor	Diurético, regula menstruación, baja la fiebre, controla la orina
<i>Gevuina avellana</i> Mol.	Proteaceae	Avellana	fruta hoja corteza aceite	Contra el cáncer, heridas estomacales, gonorrea, cataratas y enfermedad de vesícula biliar
<i>Gunnera chilensis</i> Lam.	Gunneraceae	Nalca	Tallo Raíz	Mejora menstruación y dolores del útero, baja la fiebre, refresca, disminuye la hemorragia, contra enfermedades de la boca y garganta
<i>Latua pubiflora</i> (Griseb.) Phil.	Solanaceae	Latue	Hoja corteza fruta	Sicopática, alucinógena, contra el reumatismo, baja la fiebre
<i>Laurelia sempervirens</i> (R. et P.) Tul.	Monimiaceae	Laurel	Hoja corteza flor	Estimula el apetito, expectorante, contra el resfrío
<i>Laureliopsis philipiana</i> (Looser) Schodde	Monimiaceae	Tepa	Hoja corteza flor	Estimula la digestión, baja la fiebre, expectorante, contra el resfrío
<i>Lomatia hirsuta</i> (Lam.) Diels. ex Macbr.	Proteaceae	Radal	Hoja corteza	Laxante, expectorante, disminuye la tos, baja la fiebre
<i>Polypodium feuillei</i> Bertero	Polypodiaceae	Calahuala	Raíz	Expectorante, astringente, contra enfermedad de pulmón, heridas estomacales, ayuda a la transpiración, contra tumores internos y sífilis
<i>Pseudopanax laetevirens</i> (Gay) Frenchet	Araliaceae	Sáuco	Hoja fruta corteza	Baja la fiebre, laxante, diurético, contra infecciones de los ojos, e inflamación de la piel
<i>Tristerix tetrandus</i> (R. et P.)	Lorantaceae	Quintral	Hoja	Astringente, mata lombrices, reduce los calambres, disminuye la hemorragia, mejora heridas estomacales, contra la hemorroide y epilepsia
<i>Ugni molinae</i> (Turcz)	Myrtaceae	Murta	Fruta	Estimulante, refrescante, astringente

\* Partes usadas y su uso tradicional según Guzmán y Nelian, 2000

## 4.2 Obtención de Extractos

### 4.2.1 Resultados

El Cuadro 2 A y 2 B muestra el rendimiento de los extractos. La flor de *Tristerix tetrandus* (2-B) dio el mayor rendimiento, de 35 % (p/p).

#### 4.2.2 Discusión parcial

Cuando existe poco conocimiento de los contenidos de los bioactivos, se usa metanol como un medio de extracción para así observar si los compuestos presentes son polares o apolares. Aquí observamos que la mayoría son compuestos apolares. Cuando muchas de las plantas medicinales son empleadas tradicionalmente con agua, se puede realizar investigaciones adicionales usando el agua como un medio de extracción, lo cual permitiría tener más claro la actividad biológica de los extractos usado en la medicina tradicional.

#### 4.3 Búsqueda selectiva de la actividad antimicrobiana:

##### 4.3.1 Resultados

Un total de 16 de los extractos probados muestran una inhibición total sobre uno o varios organismos testados usando 1 mg (CUADRO 2 A y 2B). En los extractos de plantas que tienen la más alta prioridad, se observa una alta frecuencia de actividad antimicrobiana. Para estas, el 69% de los extractos de plantas tiene actividad antimicrobiana sobre uno o varios organismos testados, de la misma forma esto es válido para el 20% de los extractos de plantas del segundo grupo de prioridades y para el 12% de los extractos de plantas del tercer grupo de las prioridades.

También se observa que no existe una comparación entre las partes de las plantas y la actividad que ellas presentan. El 45% de las plantas tiene un efecto inhibitorio total o parcial y se presenta en dos o más partes de la planta de la misma especie. Hay que destacar que la más alta actividad biológica se observa en la hoja y el fruto.

*Coriaria ruscifolia* es la especie que presenta la más alta actividad biológica sobre las bacterias. Especial actividad se observa en el extracto de hoja, con un rendimiento de extracción del 23% (p/p), el cual muestra un buen potencial como medicamento antimicrobiano. Los extractos de la cáscara de la *avellana Gevuina avellana* y de la hoja de *Lomatia hirsuta* inhiben totalmente a *C. Albicans*. La hoja de *Lomatia hirsuta* da el mayor rendimiento de extracto de las dos y se presenta como la más potente.

El extracto de hoja de *Acaena argentea*, *Laureliopsis philipiana* y *Lomatia hirsuta* muestra una total inhibición sobre *P. expansum*. El extracto de hoja de *Lomatia hirsuta* es el más efectivo y el que da mayor rendimiento.

Los resultados e interpretaciones de CCF en agar se muestran en el CUADRO 3.



*Acaena argentea*  
(Cadillo)



*Polypodium Feuillei*  
(Calahuala)



*Durvillea antarctica*  
(Cochayuyo)



*Fuchsia magellanica*  
(Chilco)



*Ugni molinae*  
(Murta)



*Amomyrtus meli*  
(Meli)



*Blechnum chilense*  
(Costilla de Vaca)



*Coriaria Rustifolia*  
(Deu)



*Gevuina avellana*  
(Avellana)



*Latua pubiflora*  
(Latue)



*Corynabutilon vitifolium*  
(Huella)



*Gunnera chilensis*  
(Nalca)



*Cestrum parquii*  
(Palqui)



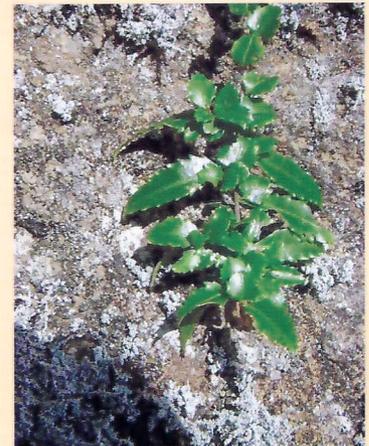
*Chusquea quila*  
(Quila)



*Lomatia hirsuta*  
(Radal)



*Tristerix tetrandus*  
(Quintral)



*Pseudopanax laetevirens*  
(Sauco)



*Cissus striata*  
(Voqui Colorado)



*Laureliopsis philippiana*  
(Laurel)



*Laurelia sempervirens*  
(Laurel)



*Buddeja globosa*  
(Matico)

CUADRO 2-A. ACTIVIDAD DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS: ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE (DFPH e INHIBICIÓN DE LA XANTINOXIDASA) Y ANTIHIPERTENSIVA (INHIBICIÓN DE LA ECA)

NOMBRE DE LA PLANTA <sup>a</sup>		REND. DEL EXTRACT p/p%	ANTIMICROBIAL <sup>b</sup>						DFPH (50µg/ml)	XANTIN OXIDASA <sup>c</sup> (100µg/ml)	ECA <sup>c</sup> (1.33mg/ml)
			E. coli	S.aureus	P.aeruginosa	B.subtilis	C. albicans	P.expansum			
1. <i>Acaena argentea</i> (1)	hoja	12	-	++	-	+	-	++++	++	-	++
	tallo	9	+	+++	+	+	-	+	+++	-	+++
	raiz	10	+	++	+	+	-	+	++	-	-
2. <i>Amomyrtus meli</i> (3)	hoja	13	-	-	-	-	-	-	++	-	+
	tallo	7	-	-	-	-	-	-	+++	-	++
3. <i>Blechnum chilense</i> (3)	hoja	4	-	+	-	+	-	-	++	-	-
	tallo	4	+	+	-	-	-	-	++	-	-
	raiz	3	++	++	++	+	-	+	++	-	-
4. <i>Buddleja globosa</i> (3)	hoja	11	-	-	-	-	-	-	++	-	-
	tallo	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5. <i>Cestrum parqui</i> (2)	hoja	5	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	tallo	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6. <i>Chusquea quila</i> (3)	hoja	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	tallo	5	-	+	-	-	-	-	-	-	+++
7. <i>Cissus striata</i> (2)	hoja	20	-	+	-	-	-	-	++	-	-
	tallo	7	++	-	-	-	-	-	+++	+	-
8. <i>Coriaria ruscifolia</i> (1)	hoja	23	+++++	+++++	+++	++++	-	-	++	++	-
	tallo	10	++	++	-	++	-	-	+++	-	-
	fruto	10	++	+++++	++	++	-	-	+++	-	-
9. <i>Corynabutilon Vitifolium</i> (3)	hoja	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	tallo	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10. <i>Durvillea antarctica</i> (1)	tallo	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11. <i>Fuchsia magellanica</i> (1)	hoja	9	+	+++++	-	-	-	-	++	-	-
	tallo	3	+	++	-	+	-	-	+++	-	-

<sup>a</sup> (1) Más alta prioridad (2) Alta Prioridad (3) La más baja prioridad en relación a la búsqueda selectiva antimicrobiana

<sup>b</sup> Antimicrobial: - : Sin Inhibición con 1mg. de extracto.

++: Cesación total de la inhibición con 0.5-1mg. de extracto

++++: Cesación total de la inhibición con 0.125-0.25mg.de extracto

+++++: Cesación total de la inhibición con ≤ 0,0625mg.de extracto

+ :Inhibición parcial con 1mg. de extracto

+++ :Cesación total de la inhibición con 0.25-0.5mg. de extracto.

+++++: Cesación total de la inhibición con 0.0625-0.125mg de extracto.

<sup>c</sup>DFPH + xantinoxidasa + ECA: Efecto (%) - : <50%; +:50-70%; ++:70-90%; +++:>90%

CUADRO 2-B. ACTIVIDAD DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS: ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE (DFPH e INHIBICION DE LA XANTINOXIDASA) Y ANTIHIPERTENSIVA (INHIBICIÓN DE LA ECA)

NOMBRE DE LA PLANTA <sup>a</sup>	REND. DEL EXTRACT p/p%	ANTIMICROBIAL <sup>b</sup>						DFPH (50 µg/ml)	XANTIN OXIDASA <sup>c</sup> (100 µg/ml)	ECA <sup>c</sup> (1.33mg/ml)
		E. coli	S.aureus	P.aeruginosa	B.subtilis	C. albicans	P.expansum			
12. <i>Gevuina avellana</i> (1)	hoja	9	-	+++	++	+++	-	-	+++	
	tallo	6	-	++	-	+	-	-	++	
	cáscara	7	++	++	++	+	++	+	+++	
13. <i>Gunnera chilensis</i> (2)	hoja	16	+	-	-	-	-	-	+++	+
	Pedazo hoja	14	-	+	-	-	-	-	-	-
	tallo	16	+	+	+	+	-	-	+++	-
14. <i>Latua pubiflora</i> (3)	hoja	14	-	-	-	-	-	-	-	
	tallo	5	-	-	-	+	-	-	-	
15. <i>Laurelia sempervirens</i> (1)	hoja	16	-	-	-	-	-	-	-	
	tallo	6	-	+	-	-	-	-	-	
16. <i>Laureliopsis philippiana</i> (2)	hoja	9	++	++	+++	++	-	++++	-	
	tallo	6	-	-	-	-	-	-	-	
17. <i>Lomatia hirsuta</i> (2)	hoja	20	-	-	-	-	++	++++	-	
	tallo	10	-	-	-	-	-	-	-	
18. <i>Polypodium feullei</i> (3)	hoja	8	-	-	-	-	-	-	+	
	tallo+raiz	11	-	-	-	-	-	-	-	
19. <i>Pseudopanax laetevirens</i> (2)	hoja	16	-	-	-	-	-	-	-	+++
	tallo	4	-	-	-	-	-	-	-	++
20. <i>Tristerix tetrandus</i> (3)	hoja	14	-	-	-	-	-	-	+++	++
	tallo	6	-	+	-	-	-	-	+++	-
	raiz	5	-	-	-	-	-	-	-	-
	flor	35	-	-	-	-	-	-	+++	+
21. <i>Ugni molinae</i> (2)	hoja	16	-	-	-	-	-	-	++	-
	tallo	6	-	-	+	-	-	-	+++	-

<sup>a</sup> (1) Más alta prioridad (2) Alta Prioridad (3) La más baja prioridad con relación a la búsqueda selectiva antimicrobiana

<sup>b</sup> Antimicrobial: - : Sin Inhibición con 1mg. de extracto.

++ : Cesación total de la inhibición con 0.5-1mg. de extracto

++++ : Cesación total de la inhibición con 0.125-0.25mg.de extracto

+++++ : Cesación total de la inhibición con ≤ 0,0625mg.de extracto

+ :Inhibición parcial con 1mg. de extracto

+++ :Cesación total de la inhibición con 0.25-0.5mg. de extracto.

+++++ : Cesación total de la inhibición con 0.0625-0.125mg de extracto.

<sup>c</sup>DFPH + xantinoxidasa + ECA: Efecto (%) - : <50%; + :50-70%; ++:70-90%; +++:>90%

CUADRO 3. IDENTIFICACION DE LOS COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (CCF)

Especies	Microorganismos	valor R <sub>f</sub> de la zona inhibida <sup>1</sup>	Tonalidad <sup>2</sup>	Identificación <sup>3</sup>
<i>Acaena argentea</i> tallo	<i>P.expansum</i>	0 (A) ninguna zona (B)		
	<i>S.aureus</i>	0 (A) 0 (B)	Café (Anís) Café (Anís)	
<i>Coriaria ruscifolia</i> hoja	<i>S.aureus</i>	0 (A) 0 (B) 0,05-0,25 (B) 0,3 (B) 0,45 (B)	Café (Anís) Café Gris (vis) Violeta, abs. (Anís) Amarillo (vis) Amarillo (vis), abs., Amarillo Fluorescente (NST)	Terpeno Flavonoide
	<i>P.aeruginosa</i>	0 (A) 0,20 (B) 0,30 (B)	Amarillo Fluorescente, Café vis. Violeta, abs. (Anís) Amarillo (vis)	Terpeno
	<i>B.subtilis</i>	0 (A) 0 (B) 0,01-0,27(B) 0,48 (B)	Café (Anís) Café Gris (Anís) Violeta, abs. (Anís) Amarillo Fluorescente, abs., Amarillo vis. (NST)	Terpeno Flavonoide
	<i>E.coli</i>	0 (A) 0 (B) 0,21(B) 0,48 (B)	Café (Anís) Café Verdoso (vis) Violeta, abs. (Anís) Amarillo vis, abs., Amarillo Fluorescente (NST)	Terpeno Flavonoide
	Fruto	<i>S.aureus</i>	0 (A) 0 (B) 0,21 (B)	Café (Anís) Café (Anís) Violeta, abs. (Anís)
<i>Fuchsia magellanica</i> Hoja	<i>S.aureus</i>	0 (A) 0 (B)	Café Amarillo (vis) Amarillo Fluorescente, Amarillo vis., abs. (NST)	Flavonoide
<i>Gevuina avellana</i> Hoja	<i>S.aureus</i>	0 (A) 0 (B)	Café Oscuro (vis) Café Oscuro (vis)	
	<i>B.subtilis</i>	0 (A) 0 (B)	Café (vis) Café (vis)	
	cáscara	<i>C.albicans</i>	0 (A) 0 (B)	Café Oscuro (vis) Café Oscuro (vis)
<i>Laureliopsis Phillipiana</i> hoja	<i>P.aeruginosa</i>	Ninguna Zona (A) Ninguna Zona (B)		
	<i>P.expansum</i>	0 (A) 0,91 (B)	Café (vis) Amarillo vis., Amarillo Fluorescente, abs. (NST)	Flavonoide
<i>Lomatia hirsuta</i> Hoja	<i>P.expansum</i>	0 (A) 0,51-0,72 (A) 0 (B) 0,90-1(B)	Amarillo Fluorescente, Café (vis) Zona 4; blanco fluorescente, abs. Café (vis) Zona 3; 1 amarillo fluorescente; 1 anaranjado fluorescente; 1 blanco fluorescente	Varios Compuestos Fenil Propanoide, flavonoide y evt. clorofila
	<i>C.albicans</i>	0,91(B)	Amarillo vis, Amarillo fluorescente, abs.	Flavonoide

<sup>1</sup>(A):solución base con tolueno-etilacetato-metanol (30:8:1), (B):solución base con etilacetato-metanol-agua (100:13.5:10)

<sup>2</sup>(NST): después de pulverizar con reactivo natural, (Anís): después de pulverizar con anisaldehido

<sup>3</sup> Identificación compuestos

#### 4.3.2 Discusión parcial

Se observa una diferencia muy nítida de la actividad antimicrobiana con respecto a las plantas usadas tradicionalmente para determinadas enfermedades y las que no son usadas para esos fines. Eso significa que, en general, las plantas medicinales con uso tradicional para tratar las enfermedades bacterianas y de hongos muestran mayor actividad antimicrobiana que el resto de plantas.

Los resultados muestran que las bacterias Gram positivas son más sensibles que las bacterias Gram negativas, lo que coincide con otras investigaciones científicas en el mundo (Brock y Madigan, 1991). Los resultados de la presente investigación muestran que hay una total o parcial inhibición con 1 mg de extracto de las plantas sobre *E. Coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *B. subtilis* correspondiendo al 29%, 21%, 44% y 31% de los 48 extractos de plantas, respectivamente. Se ha encontrado en esta investigación que muchos extractos muestran una actividad sobre *E. coli*, lo cual no es común puesto que esta bacteria es una de las más resistentes. La alta actividad biológica se debe a que las plantas son coleccionadas bajo un método etnofarmacológico.

En la presente investigación se muestra que hay parcial o total inhibición de la actividad con 1 mg del extracto de la planta sobre *C. albicans* y *P. expansum* correspondiendo al 4% y 17% de los 48 extractos de plantas, respectivamente. Los hongos son menos sensibles que las bacterias, lo que se ratifica con la literatura (Hugo y Russel, 1997).

En la solución base B el extracto de hoja de *Coriaria ruscifolia* muestra actividad antimicrobial sobre todas las bacterias en el valor Rf (~0,25) (CUADRO 3). En el mismo valor Rf fue observada actividad antimicrobial con el extracto del fruto de *Coriaria ruscifolia* sobre *S. aureus*. Esto demuestra que en la fruta y la hoja se encuentran uno o varios compuestos que son activos sobre las bacterias testadas. La sustancia tiene absorción y después de pulverizar con anisaldehído se observa color violeta, y puede significar la presencia de terpenos. En investigaciones anteriores desde las plantas fueron aislados el sesquiterpeno lactona tutina (Hegnauer, 1964) y coriamirtina (Reyes et al., 1980), pero no tenían actividad antimicrobiana.

Simultáneamente se observa que las zonas inhibidas por el extracto de hoja de *Coriaria ruscifolia* tienen un valor de Rf (~0,48) sobre *S. aureus*, *B. subtilis* y *E. coli*. Pulverizado con reactivo natural da como resultado que un flavonoide es el responsable de la actividad. La planta contiene una serie de flavonoides entre ellos quercetina, quercitrina, avicularina, hiperina y camferol – conteniendo glicósidos (Reyes et al., 1980; Hegnauer, 1966; Bohm y Orndruff, 1981), todos tienen conocida actividad antimicrobiana (Harborne et al., 1999) y puede ser que uno o varios de ellos sean responsables de esta actividad. La presente investigación ratifica el uso tradicional de esta especie medicinal para esos fines (Guzmán y Nelian, 2000). Así mismo, los resultados verifican el uso tradicional que emplea toda la planta. La planta contiene gran cantidad de taninos, que también pueden ser antimicrobianos. Mediante la búsqueda selectiva (screening) se observa que otros compuestos, en el grupo de los taninos, pueden ser responsables de la actividad antimicrobiana, por eso un aislamiento e identificación del compuesto activo sería relevante.

El extracto de hoja de *Lomatia hirsuta* contiene un compuesto con un valor de  $R_f = 0,90$ , presentando actividad sobre *P. expansum* y *C. albicans*. Se interpreta como la presencia de un flavonoide. El extracto de hoja de *Laureliopsis philipiana* tiene un compuesto con las mismas características y actividad antimicrobiana, con un valor  $R_f$  similar. Eso significa que ambas plantas tienen el mismo compuesto con actividad antimicrobiana. En plantas que no fueron usadas en la misma placa CCF, no se puede hacer un paralelo sobre su actividad. Cuando el extracto de hoja de *Laureliopsis philipiana* no muestra actividad sobre *C. Albicans*, se puede interpretar que los compuestos activos se encuentran en más alta concentración en *Lomatia hirsuta* y que *P. Expansum* es más sensible sobre compuestos que *C. albicans*. Para *Laureliopsis philipiana* no se identifica ningún flavonoide mientras que *Lomatia hirsuta* contiene flavonoides como quercitina, ramnetina, iso-ramnetina, flavonoide glicósido quercitrina más cumarino umbelliferona y escopoletin (Erazo et al., 1997).

Todos esos compuestos son conocidos por su actividad antimicrobiana y es posible encontrar uno o varios de esos que actúan como bioactivos (Harborne et al., 1999). Además es común encontrar quercitina y quercitrina en muchas plantas y es posible que *Laureliopsis philipiana* también contenga uno o varios de esos compuestos. Hoja, corteza y flores de ambas plantas son usadas tradicionalmente para bajar la fiebre y como expectorantes, lo que no pudo ser ratificado en estas investigaciones (Guzmán y Nelian, 2000). Aquí sólo se ha estudiado la hoja y no la flor. Basado en el efecto sobre *P. expansum* es muy importante realizar otras investigaciones para aislar e identificar el compuesto en *Laureliopsis philipiana* y *Lomatia hirsuta*.

Los extractos de la cáscara y de la hoja de *Gevuina avellana* y el extracto de la hoja de *Fuchsia magellanica* tienen actividad en  $R_f = 0$ . Eso significa que los compuestos antimicrobianos son compuestos polarizados. *Fuchsia magellanica* no es usada tradicionalmente como antimicrobial. Pero la hoja, el fruto, la corteza y la flor de *Gevuina avellana* se emplean contra la diarrea y heridas estomacales, lo que con esta investigación es ratificado (Guzmán y Nelian, 2000).

Para la hoja de *Laureliopsis philipiana* y la hoja de *Acaena argentea* no se observa ninguna presencia de inhibición sobre algunos organismos testados. Eso significa que la concentración del compuesto activo es pequeña para detectarlo, porque hay una serie de compuestos que pueden separarse uno del otro. Luego, puede existir un efecto sinérgico o aditivo. La hoja de *Acaena argentea* se usa tradicionalmente para curar, lo que la presente investigación sólo ratifica parcialmente, porque no se ha encontrado actividad sobre *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. albicans* (Guzmán y Nelian, 2000).

#### 4.4 Búsqueda selectiva de la actividad antioxidante

##### 4.4.1 Resultados

De un conjunto de 12 especies de plantas, 27 partes botánicas presentan capacidad para capturar un radical cuyo valor sobrepasa el 50% en una concentración de 50  $\mu\text{g/ml}$ . Para obtener una curva sigmoideal es necesario colocar un punto de medida y así tener como referencia al 20% de la actividad de captura del radical. Éste se obtiene por línea de regresión en los puntos medidos a intervalos 20–80%, bajo la aceptación que el intervalo es lineal. La aceptación funciona correctamente cuando el valor de la correlación se observa de acuerdo a los puntos obtenidos. El punto no se usa para calcular el valor de correlación  $IC_{50}$ . El extracto de hoja de *Coriaria ruscifolia* muestra la mayor capacidad de captura de radicales de las plantas seleccionadas en el valor  $IC_{50}$  con 6,2  $\mu\text{g/ml}$  (CUADRO 4).

CUADRO 4. IC<sub>50</sub> para los más activos capturadores de radicales con ayuda de DFPH.

Nombre de la planta		IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>Acaena argentea</i>	tallo	11,1
	raíz	10,1
<i>Cissus striata</i>	tallo	11,0
<i>Coriaria ruscifolia</i>	hoja	6,2
<i>Fuchsia magellanica</i>	hoja	10,5
<i>Gevuina avellana</i>	cáscara	7,7
<i>Gunnera chilensis</i>	hoja	7,0
	tallo	6,8
<i>Tristerix tetrandus</i>	hoja	9,5
	tallo	8,3
	flor	8,9

Para la mezcla A hay toda una actividad antioxidante de Rf=0. Para la mezcla B y C se muestran varias manchas con actividad antioxidante, pero muchas manchas son coincidentes. En el CUADRO 5 se observan manchas que ocupan el mismo lugar que la actividad antioxidante.

La concentración del extracto de la planta en la búsqueda selectiva se selecciona para 100 µg/ml, cuando sabemos que esa concentración muestra una capacidad de captura del radical mayor de 90% al medirse con DFPH.

El material vegetal es por primera vez, diluido en fosfato con tampón. La disolución base queda resuelta, primero se usa el material vegetal seco en 100 µl de metanol colocado en un baño de ultrasonido durante 15 minutos y luego se agrega 900 µl de fosfato neutralizado (tampón). El estándar allopurinol es investigado primero para evitar que la enzima se destruya por el metanol. El extracto de hoja de *Coriaria ruscifolia* muestra la más alta actividad para inhibir la xanthinoxidasa. (CUADRO 6).

CUADRO 5. IDENTIFICACION DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (CCF)

NOMBRE DE LA PLANTA	R <sub>f</sub> para Actividad Antioxidante	Observaciones			Identificación <sup>2</sup>	
		Pulverizado	Reactivo natural	Anis-Aldehido		
<i>Acaena argentea</i>	Tallo	0-0,57(B) 0,77(B) 0-0,56(C) 0,79(C)	Absorbancia Absorbancia 3 abs., 3blanco fluorescente Absorbancia	Amarillo vis, amarillo Fluorescente Amarillo vis, amarillo Fluorescente	Café, azul café	Flavonoides Flavonoide Varios compuestos
	Raíz	0-0,48(B) 0,76(B) 0-0,48(C) 0,63(C) 0,83(C) 0,92(C)	Absorbancia Absorbancia 3 Absorbancia Absorbancia Absorbancia Absorbancia	1 amarillo fluorescente, 2abs. Amarillo vis, amarillo Fluorescente		Varios compuestos Flavonoide
<i>Cissus striata</i>	Tallo	0-0,58(B) 0,72(B) 0-0,56(C) 0,78(C)	3 Absorbancia Absorbancia 4 abs., blanco fluorescente Absorbancia	Amarillo o blanco fluorescente 2 amarillo fluorescente amarillo vis, amarillo fluorescente		Varios compuestos Varios compuestos Flavonoide
	Hoja	0,27-0,44(B) 0-0,57(C)	3 Absorbancia Absorbancia	Amarillo o blanco fluorescente	Amarillo café	Varios compuestos Varios compuestos
<i>Fuchsia magellanica</i>	Hoja	0-056(B) 0-0,13(C) 0,32-0,48(C)	6 Absorbancia 2 Absorbancia 3 Absorbancia	1 blanco fluorescente	Amarillo café café	Varios compuestos Varios compuestos Varios compuestos
<i>Gevuina avellana</i>	Cáscara	0-0,46(B) 0,81(B) 0,98(B) 0(C) 0,79(C)	Absorbancia Amarillo fluorescente Amarillo fluorescente Blanco fluorescente	4 amarillo fluorescente amarillo vis, amarillo fluorescente		Varios compuestos Flavonoide
	Hoja	0-0,48(B) 0-0,58(C)	3 abs., blanco fluorescente 3 abs., amarillo fluorescente			Fenilpropanoide Varios compuestos
<i>Gunnera chilensis</i>	Tallo	0-0,36(B) 0-0,42(C)	blanco fluorescente 2 abs., blanco fluorescente	1amarillo vis, amarillo fluorescente		Fenilpropanoide Varios compuestos
	Hoja	0-0,62(B) 0-0,91(C)	2 Absorbancia 4 abs., blanco fluorescente	3 a. fluorescente, 1 amarillo vis 2 amarillo vis, 4 amarillo fluorescente		Varios compuestos Varios compuestos
<i>Tristerix tetrandus</i>	Tallo	0-0,61(B) 0-0,86(C)	2 Absorbancia 3 abs., blanco fluorescente	3 amarillo fluorescente, 1 amarillo vis 3 amarillo fluorescente, 1 amarillo vis		Varios compuestos Varios compuestos
	Flor	0-0,74(B) 0-0,86(C)	2 Absorbancia 3 abs., 1blanco fluorescente	2 amarillo fluorescente 2 amarillo vis, 2 amarillo fluorescente		Varios compuestos Varios compuestos

<sup>1</sup>(B): solución base con etilacetato-metanol-agua (100:13,5:10), (C): solución base con etilacetato-acido mirina- vinagre-agua (100:11:11:27)

CUADRO 6. Extractos de plantas con más alta actividad para inhibir la xantinoxidasa.

Nombre de la planta		Inhibición de xantinoxidasa (%)
<i>Acaena argentea</i>	tallo *	0,9
	raíz *	25
<i>Coriaria ruscifolia</i>	hoja	87
<i>Cissus striata</i>	tallo	55
<i>Fuchsia magellanica</i>	hoja	14
<i>Gevuina avellana</i>	cáscara *	-8
<i>Latua pubiflora</i>	hoja *	4
	tallo *	4
<i>Gunnera chilensis</i>	hoja	60
	tallo	30
<i>Tristerix tetrandus</i>	hoja	74
	tallo	42
	flor	65

\* Concentración del extracto en bioensayo: 100 µg/ml  
Resto del extracto: 50 µg/ml

#### 4.4.2 Discusión parcial

Los extractos de tallo y raíz de *Acaena argentea* en el preparado B muestran actividad antioxidante en lugares con los mismos valores (0,76 y 0-0,50) (CUADRO 5). Significa que el tallo y la raíz contienen los mismos compuestos con actividad antioxidante y los flavonoides son responsables de esa actividad. No se conoce ningún componente en la especie. Tradicionalmente son usadas la hoja y el tallo de *Acaena argentea* (Guzmán y Nelian, 2000). El hecho de que el tallo demuestre una alta actividad antioxidante, permite recomendar mayores investigaciones sobre esta planta.

El extracto de la cáscara de la avellana muestra varias zonas marcadas con actividad antioxidante. El preparado B muestra dos zonas de actividad, donde una tiene un valor  $R_f=98$  y puede presentar un compuesto flavonoide. En el preparado C se observa una zona marcada con un valor  $R_f=90$ . Lugares donde aparece fluorescente blanco muestran que no hay absorbancia. La cáscara de avellana ha sido investigada sobre su actividad antioxidante con apoyo de DFPH. Se observa que ella contiene una actividad antioxidante similar a un antioxidante sintético (Moure et al., 2000).

En la mayoría de las plantas investigadas se observa que entre las diversas partes de la misma planta hay gran igualdad de valores  $R_f$  para la actividad antioxidante. Eso significa que en la misma planta hay gran extensión de uno o varios componentes, que son responsables de la actividad antioxidante.

La literatura describe que la enzima y extracto de planta funciona 10 minutos cuando se agrega tamponado xantin (Sweeney et al., 2000). En los ensayos se observa que cuando una enzima es expuesta por un corto período a una mayor concentración de extracto de planta que la concentración de una solución a testar, el resultado es muy variado. Al colocar simultáneamente el tampón de xantin con la enzima y la solución a testar, se verifica que la enzima y extracto de la planta se mantienen hasta el final de la solución testada desde su inicio.

El mecanismo de la actividad antioxidante con el método DFPH y el método de inhibición de la xantinoxidasa son diferentes. La investigación mediante búsqueda selectiva permite observar que el extracto de la planta presenta actividad usando ambos métodos. Sin duda, se debe dejar en claro que el simple extracto de planta que se selecciona por el método DFPH es un potencial para inhibir la xantinoxidasa.

#### 4.5 Búsqueda selectiva de la actividad antihipertensiva:

Evaluación de la capacidad de Inhibición de la Enzima de Conversión de Angiotensina - ECA

##### 4.5.1 Resultados

Los extractos del tallo de *Chusquea quila* y de la hoja de *Pseudopanax laetevirens* muestran un alto efecto inhibidor ECA y eso determina medir el efecto inhibidor de ECA en los extractos de esas plantas con la mitad de la concentración del extracto: 0,67 mg/ml.

Los extractos del tallo de *Acaena argentea* y de *Chusquea quila* y de la hoja de *Pseudopanax laetevirens* muestran una total inhibición de ECA. De esos extractos, la hoja de *Pseudopanax laetevirens* da el mayor rendimiento de extracto y, por lo tanto, puede ser considerado como el mayor potencial inhibidor de ECA en los extractos testados (CUADRO 2 y CUADRO 7)

CUADRO 7. Selección de extractos de plantas y su efecto inhibidor sobre ECA

Parte de la planta		Concentración (mg/ml)	Efecto (%)
<i>Acaena argentea</i>	hoja	1,33	85
	tallo	1,33	123
	raíz	1,33	7
<i>Amomyrtus meli</i>	hoja	1,33	62
	tallo	1,33	87
<i>Chusquea quila</i>	hoja	1,33	-14
	tallo	1,33	195
	tallo	0,67	-51
<i>Durvillea antarctica</i>	tallo	1,33	10
<i>Fuchsia magellanica</i>	hoja	1,33	-60
	tallo	1,33	-24
<i>Pseudopanax laetevirens</i>	hoja	1,33	185
	hoja	0,67	-122
	tallo	1,33	82
<i>Ugni molinae</i>	hoja	1,33	-36
	tallo	1,33	-2

No existe ninguna relación de la actividad inhibidora entre las estructuras de una misma planta.

##### 4.5.2 Discusión parcial

La alta actividad de inhibición sobre ECA de la hoja de *Acaena argentea*

y el tallo de *Chusquea quila* y la hoja de *Pseudopanax laetevirens* verifica su uso tradicional como diurético (Muñoz et al., 1981; Guzmán y Nelian, 2000) y antidiabético (Guzmán y Nelian, 2000). El tallo de *Acaena argentea* también es usado tradicionalmente, por lo que debería hacerse una investigación sobre su toxicidad antes de recomendarla como antihipertensiva. Basado en estos resultados para *Pseudopanax laetevirens*, se recomienda el tallo y la hoja de la planta. El tallo de la *C. Quila* muestra actividad antihipertensiva y se desconoce si los Mapuches la usan para esos fines.

Se desconoce algún tipo de compuestos de esas tres especies, por lo que hay necesidad de aislar y conocer su estructura química para identificar sus compuestos activos.

Al medir la actividad inhibidora ECA de la hoja y tallo de *Amomyrtus meli*, esta investigación revalida el conocimiento tradicional de su uso como hipotensiva, sin embargo se desconocen los componentes químicos relacionados. La alta actividad de tallo y hoja apoya su uso tradicional (Guzmán y Nelian, 2000).

El simple extracto de la planta no muestra ser antihipertensiva. Según los resultados de la investigación es posible que exista un efecto lateral o aditivo que inhibe el ECA. Se observa una gran diferencia al medir el valor  $A_{max}$  (0,273 –0,779) para cada depósito con ECA. Al calcular el efecto inhibidor ECA se encuentra que una gran parte del porcentaje de la enzima, se inhibe y esa aparente gran variación en los tests o pruebas no tiene por consiguiente significado.

El efecto inhibidor del extracto del tallo de *Chusquea quila* y extracto de hoja de *Pseudopanax laetevirens* cae totalmente cuando se usa la mitad de la concentración. De allí que el efecto inhibidor de ambas concentraciones esté fuera del intervalo 1-100%; es extraño que el efecto caiga drásticamente con la mitad de la concentración. Además, se muestra que otros extractos para inhibir el efecto ECA se encuentran fuera del intervalo 1-100%. Eso significa que el método de búsqueda selectiva no funciona óptimamente para los extractos de plantas, eso se puede mejorar investigando la sustancia aislada del extracto. Investigaciones anteriores sobre la actividad inhibidora de *Gunnera chilensis* muestran que su actividad es alrededor de 50% en solución de etanol-agua (7:3), etilacetato- y n-extracto de butanol. Sería muy importante también hacer una investigación de la actividad inhibidora ECA en un extracto de metanol.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De los 48 extractos de plantas investigados solo 16 presentan una total actividad sobre uno o varios organismos testados con 1 mg de extracto. Los resultados de los ensayos demuestran que, en muchos de los extractos de plantas medicinales empleadas en forma tradicional contra enfermedades bacterianas u hongos, se encuentran compuestos bioactivos que no son usadas para esos fines.

Estos resultados muestran que existe una total o parcial actividad inhibidora en la cantidad de 1 mg de extracto para combatir *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. subtilis* en una proporción de 29%, 21%, 44% y 31% respectivamente. Además, hay una total o parcial inhibición sobre *C. albicans* y *P. expansum* usando 1 mg lo que da una proporción de 4% y 17% respectivamente.

*Coriaria ruscifolia* es la especie que en forma completa verifica la más alta actividad sobre las bacterias. El extracto de la cáscara de la *Gevuina avellana* y de la hoja de *Lomatia hirsuta* presentan una total inhibición sobre *C. albicans*. Extractos de hojas de *Acaena argentea*, *Laureliopsis philipiana* y *Lomatia hirsuta* demuestran una total inhibición sobre *P. expansum* durante la evaluación de los extractos. El extracto de hoja de *Lomatia hirsuta* es el más efectivo. Dado el efecto de *Laureliopsis philipiana* y *Lomatia hirsuta* sobre *P. expansum*,

sería muy importante aislar e identificar sus grupos químicos.

Los resultados de la búsqueda selectiva de antioxidantes con DFPH indican que 27 partes de plantas pertenecientes a 12 especies medicinales, muestran capacidad de captura de radicales cuyo valor sobrepasa el 50% en una concentración 50 µg/ml. En general se observa que partes de una misma especie tienen la misma capacidad de capturar radicales. El extracto de hoja de *Coriaria ruscifolia* presenta la más alta actividad antioxidante, con el más bajo valor IC50 y la más alta capacidad para inhibir la xantinoxidasa.

El extracto del tallo de *Acaena argentea* y *Chusquea quila* y el extracto de hoja de *Pseudopanax laetevirens* verifican una total inhibición de ECA, el cual coincide con el uso tradicional como antihipertensivo. No existe ninguna relación para inhibir ECA en diversas partes de la misma especie. Eso significa que, en este caso, el método de búsqueda selectiva no funciona óptimamente para extractos de plantas, pero una cantidad de la sustancia aislada puede dar buen resultado.

Una serie de plantas usadas tradicionalmente como antihipertensiva o antimicrobiana en esta investigación no demuestran ese efecto. Eso puede ser porque la época de colecta no fue la más indicada y que pudo influir en una disminución del contenido del bioactivo, el método de extracción y el método de búsqueda empleado, o algún efecto aditivo o lateral adverso.

Es recomendable estudiar la toxicidad de las plantas y esto es especialmente válido para las plantas que muestran actividad y que no son usadas tradicionalmente. También sería importante ampliar la investigación por ejemplo para ver su efecto antihelmíntico, efecto en reducción del colesterol o antiinflamatorio y complementar la investigación de la actividad antihipertensiva.

Las plantas fueron recolectadas en otoño, lo que significa que muchas plantas no tenían flores y algunos estaban sin fruto. Sería muy importante investigar esas plantas en otras estaciones del año para conocer su actividad biológica y así tener una información más completa y comparativa.

Además, sería importante conocer más detalles de como son usadas las plantas en su forma tradicional. Es posible que algunas sustancias bioactivas no soporten su preparación. Para otros usos, como la cataplasma, se usa material fresco y muestra su actividad biológica, pero como en esta investigación se utilizó sólo material seco, es posible que mucho material se haya destruido al secarse.

La investigación de los extractos fue hecha *in vitro*, lo que puede significar que el efecto encontrado no sea igual que *in vivo*. También hay riesgo que la sustancia no sea absorbida en el intestino, sea degradada en el hígado en su primera etapa metabólica y que no penetre en la barrera sangre-cerebro. Para evitar una enfermedad con esas sustancias bioactivas, todos esos factores deben ser investigados (Williams y Gordon, 1996). Para tener una visión más concreta de las actividades biológicas de las plantas medicinales es esencial hacer investigación *in vivo*.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Backhouse, N; Delporte, C; Negrete, R; Salinas, P; Pinto, A; Aravena, S; Cassels, B.K. 1996. Antinflammatory and antipyretic activities of *Cuscuta chilensis*, *Cestrum parqui* and *Psoralea glandulosa*. *International Journal of Pharmacognosy*. vol.34(1):53-57.
- Balick, M.J. 1999. Good Botanic Practices. In: *Botanical Medicine Efficacy. Quality Assurance and Regulation*. Edited by Daniel Eskinazi, Mary Ann Liebert Inc.
- Barton, H. B. 1994. Ethnobotany and intellectual property rights. In: *Ethnobotany and the search for new drugs*. Ciba Foundation Symposium 185:214-224. John Wiley & Sons.
- Bernhardson, W. 2000. *Chile & Easter Island*. Lonely Planet Publications Ltd. 5 Edition.
- Bohm, B; Ornduff, R. 1981. Leaf flavonoids and ordinal affinities of *Coriariaceae*. *Systematic Botany*. 6(1):15-26 (abstract)
- Borris, R.P. 1997. The quest for new biologically active natural products. In: *Hostettmann, K; Gupta, M.P.; Marston, A. Chemistry, biological and pharmacological properties of medicinal plants from Americas*. Proceedings of the IOCD/CYTED symposium, Panama City, Panama, 23-26 february, 1997. Harwood academic publishers.
- Bors, W; Saran, M; Elstner, E.F. 1992. Screening for plants antioxidants. In: *Modern methods of plant analysis*. Vol. 13 *Plant Toxin Analysis*. Edited by Linskens, H.F. Jackson, J. F. Springer - Verlag.
- Brock, T. D; Madigan, M. T. 1991 *Biology of Microorganisms*. 6 Edit. Prentice -Hall Inc.
- Burits, M; Bucar, F. 2000 Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14: 323-328
- Cos, P; Ying, L; Calomme, M; Hu, J.P; Cimanga, K; Peol, B.V; Pieters, L. Vlietinck, A.J.; Berghe, D.V. 1998. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xantin oxidase and superoxide scavengers.
- Cotton, C.M. 1996. *Ethnobotany. Principles and applications*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- Cox, P.A. 1990 *Ethnofarmacology and search for new drugs*. In: *Bioactive compounds from plants*. Ciba Foundation simposium 154. John Wiley & Sons Ltd.
- Cushman, D.W.; Cheung, H. S. 1971 Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme and rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, Vol 20:1637-1648.
- Dutchie, G.; Crozier, A. 2000. Plant-derived phenolic antioxidants. *Current Opinion in Lipidology* , 11:43-47.
- El-Eman, M; Al-min, S; Ahmed, W. 1990 Molluscicidal properties of the plants *Cestrum parqui* (Fam. Solanaceae) and *Hedera canariensis* (Fam. Araliaceae). *Egyptian Journal of Bilharziasis*, 12(1-2) 185-195
- Eloff, J. N. 2000 On expressing the antibacterial activity in plant extracts - a small first step in applying scientific knowledge to rural primary health care. *South African Journal of science*. 96:116-118
- Erazo, G; Garcia, R; Backhouse, N; Lemus, I; Delporte, C. Andrade, C. 1997 *Phytochemical and biological study of radial Lomatia hirsuta*

- (Proteaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 57:81-83
- Evans, W.C. 1996 *Trease and Evans Pharmacognosy*. Fourteenth edition. WB Saunders Company Ltd.
- Farnsworth, N.R. 1984 The role of medicinal plants in drug development. 1984. Natural products and drug development. proceeding of the Alfred Benzon symposium 20 held at the premises of the Royal Danish Academy of sciences and Letters. Edited by Krogsgaard-Larsen; P; Brøgger Christensen, S. Kofoed, H. Munksgaard, Copenhagen.
- Guzmán, A. & Nelian, S. 2000 Medicinal plants used by Mapuches indians, Southern Chile. CD Viking Books, Denmark.
- Halliwel, B; Aeschbach, R; Löliker, J; Aruoma, O.L. 1995 The characterization of antioxidants. *Fd. Chem.Toxi.*:33(7)601-617.
- Halloy, S; Grau, A. McKenzie, B. 1996. Gevuina nut (*Gevuina avellana*, Proteaceae), a cool climate alternative to macadamia. *Economic Botany* 50(2):224-235
- Hamburger, M.; Hostettmann, K. 1991 Bioactivity in plants: The link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry* 30(12):3864-3874
- Hansen, K; Nyman, U; Wagner, U.S. Adsersen, A; Gudiksen, L. Rajasekharan, S. Pushpangadan, P. 1995 In vitro screening of traditional medicines for anti-hypertensive effect based on inhibition of the angiotensin converting enzyme (ACE). *Journal of Ethnopharmacology* 48:43-51
- Harborne, J.B; Baxter, H; Moss, G.P; 1999 *Phytochemical dictionary: A handbook of bioactive compounds from plants*. Second edition, Taylor & Francis, Ltd.
- Hegnauer, R. 1964 *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Band 3. Dicotyledoneae: Acanthaceae - Cyrillaceae. Birkhäuser Verlag.
- Hegnauer, R. 1966 *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Band 4. Dicotyledoneae: Daphniphyllaceae - Lythraceae. Birkhäuser Verlag
- Hegnauer, R. 1973 *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Band 6. Dicotyledoneae: Rafflesiaceae -Zygophyllaceae. Birkhäuser Verlag.
- Hegnauer, R. 1986 *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Band 7. Nachträge zu 1 und Band 2 (Acanthaceae bis Lythraceae) Birkhäuser Verlag.
- Hegnauer, R. 1990 *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Band 9 Nachträge zu band 5 und band 6 (Monoliaceae bis Zygophyllaceae) Birkhäuser Verlag.
- Hoffmann, A. 1982 *Flora silvestre de Chile, zona Central*. Ediciones Fundación Claudio Gay.
- Hoffmann, A. 1982 *Flora silvestre de Chile, zona Araucana*. Ediciones Fundación Claudio Gay.
- Hoffmann, A; Farga, C. Lastra, J; Veghazi, E. 1992 *Plantas medicinales de uso común en Chile*. Ediciones Fundación Claudio Gay.
- Hostettmann, K; Marston, A; Wolfender, J.L. 1995. Strategy in the search for new biological active plant constituents. In: *Phytochemistry of plants used traditional medicine*. Edited by Hostettmann, K. Marston, A. Maillard, M. Hamburger, M. Oxford Science Publications.
- Houghton, P. Hikino, H. 1989 Anti-hepatotoxic activity of extracts and constituents of *Buddleja* species. *Planta medica* 55(2):123-126
- Houghton, P.J. Manby, J. 1985 Medicinal plants of the Mapuche. *Journal of Ethnopharmacology* 13:89-103
- Houghton, P; Woldemarian, T; Candau, M; Barnardo, A. Khen, Alafun, O; Shangxio, L. 1996 *Buddleione*, a diterpene from *Buddleja albiflora*. *Phytochemistry*. Oxford 42(2):485-488.

- Hugo, W.B.; Russel. A.D. 1997. *Pharmaceutical microbiology*. Fifth edition  
Blackwell Science.
- Jørgensen, L. V. Flavonoids and other naturally antioxidants, physicochemical aspects and their antioxidant mode of action. 1998. The Danish Veterinary and Food Administration. København.
- Liao, Y.H; Houghton, P.J; Hoult, J. R. 1999 Novel and known constituents from *Buddleja* species and their activities against leucocyte eicosanoid generation. *Journal of Natural Products* 62(9):1241-1245(abstract)
- Lindberg Madsen, H; Møller Andersen, C; Viborg Jørgensen, L. & Skibsted, L.H. 2000 Radical scavenging by dietary flavonoids. A kinetic study of antioxidants efficiencies. *Eur. Food Res. technology* 211:240-246
- Lipp, F. 1989 Methods for ethnopharmacological field work. *Journal of Ethnopharmacology* 25:139-150
- Maxwell. S.R.J. 1995 Prospect for the use of antioxidants therapies. *Drugs* 49(3):345-361.
- McDermott, J.H. 2000 Antioxidant nutrients: current dietary recommendations and research. *Journal of the American Pharmaceutical Association* 40(6):785-799.
- Mensah, A. Houghton, P.J; hughes, M; Cherry, G.W;1998 In vitro - investigation of the wound healing properties of *Buddleja globosa*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 50(suppl) 83.
- Mensah, A.Y; Houghton, P.J; Blommfield, S; Vlietinck,A. Vanden Berghe, D.2000 Known and novel terpenes from *Buddleja globosa* displaying selective antifungal activity against dermatophytes. *Journal of Natural Products*. 63:1210-1213
- Mitscher,L.A; Rao, G.S. 1984 The search for new antimicrobial agents: unusual sources. In: *Natural products and drug development*. Edited by Krogsgaard, P, Brøgger-Christensen, S; Kofod, H. Munksgaard, Copenhagen.
- Moure, A; Franco, D.; Sineiro, J; Dominguez, H; Nunez, M.J.; Lema, J.M. 2000 Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.48(9):3890-3897(abstract)
- Muñoz, M. S.; Barrera, E.M.; Meza, I.P. 1981 El uso medicinal y alimenticio de plantas nativas y naturalizadas en Chile. *Publicación ocasional N° 33 Museo Nacional de Historia Natural, Santiago de Chile*.
- Muñoz, O. 1992 *Química de la flora de Chile*. Serie Programas de Desarrollo, Vol.1 Departamento Técnico de Investigación. Universidad de Chile.
- Pardo, F; Perich, F. Villarroel, L. Torres, R. 1993 Isolation of verbascoide, an antimicrobial constituent of *Buddleja globosa* leaves. *J. Ethnopharmacology* 39(3):221-222.
- Pearce, C.M; Skelton, N.J; Naylor, S. Kanaan, R; Kelland, J; Oelrichs, P.B. Sanders, J; Willians, D.H. 1992 Paraquin and carboxyparaquin, toxic kaurene glycosides from the shrub *Cestrum parqui*. *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions I*(5) 593-600
- Pedersen, C; Lundgren, J. D. 1998 *Medicinske sygdomme*. 11 udgave. Nyt Nordisk Forlag Arnold Busck.
- Pietta, P.G. 2000 Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*. 63:1035-1042.
- Prescott, L. M.; Harley, J.P; Klein, D.A. 1996 *Microbiology*. Second edition. Wm. C. Brown Publishers.
- Rahalison, L; Hamburger; Hostettmann, K. 1991 A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants. *Phytochemical analysis* 2:199-203

- Riet, C; Schild, A; Mendez, M; Pinheiro, M. 1987 Poisoning by *Cestrum parqui* (Solanaceae) in cattle in southern Brazil. *Pesquisa veterinaria brasilerira*. 6(4)111-116 (abstract).
- Ruberto, G; Baratta, M.T. 2000 Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food chemistry*, 69:167-174.
- Santa Maria, A. 1997 Evaluation of the toxicity of *Uncaria tomentosa* by bioassays in vitro. *Journal of Ethnopharmacology* 57:183-187.
- Sampson, J; Houghton, P; Mensah, A.Y; Hyllands, P.J; Westbrook, J; Dunn, M.J. 2000 Determination of the potential wound healing effects of *Buddleja globosa* and *B. Davidii* leaves using an in vitro human dermal fibroblast assay. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 52(suppl.)308.
- Saxena, G; Farmer, S; Towers, G.H.N; Hancock, R.E.W 1995 Use of specific dyes in the detection of antimicrobial compounds from crude plant extracts using thin layer chromatography agar overlay technique. *Phytochemical analysis* 6:125-129.
- Schmeda-Hirschmann, G.; Loyola, J.I; Sierra, J.; Retamal, R.; Rodriguez, J. 1992 Hypotensive effect and enzyme inhibition activity of Mapuche medicinal plant extracts. *Phytotherapy research* 6:184-188
- Schmeda-hirschmann, G; Dutra-Behrens, M; Habermehl, G; Jakupovic, J. 1996 Seco-isotetrandine from *Laurelia sempervirens*. *Phytochemistry* 41:339-341
- Simonsen, T; Aarbakke, J. 1999 *Farmakologi - Sygdomme og behandling*. 1 udgave. 1 oplag Nordisk Forlag A/S København
- Smitt, U. W.; Schottländer, B. 2000 *Øvelsesvejledning for fytokemisk screening*. Institut for medicinskemi, Farmakognosi. De studerendes Råds Forlag. København
- Symens, M.C.R; Gutteridge, J.M.C. 1998 *Free radicals and iron: Chemistry, biology and medicine*. Oxford University Express, Oxford, New York, Tokyo.
- Sweeney, A.P; Wyllie, S.G; Shalliker, R.A; Markham, J.L. 2001 Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 75:273-277.
- Thygesen, P. 1999 *Farmakodynamik*. Danmarks Farmaceutiske Højskole, 2 udgave. De studerendes Råds Forlag, København.
- Valencia, E; Valenzuela, E.; Barros, E; Aedo, V; Gebauer, M. T. García, C.; Gonzalez, A.G. Bermejo, J. 2001 Constituents of *Coriaria ruscifolia* fruit. *Fitoterapi* 72:555-557.
- Walker, R; Edwards, C. 1999 *Clinical Pharmacy and therapeutics*. Second edition. Churchill Livingstone.
- Wagner, H; Bladt, S. 1996 *Plant drugs analysis. A thin layer chromatography atlas*. Second edition Springer verlag.
- Weyerstahl, P; Marschall, H; Landrum, L. 1992 Constituents of the leaf extract of *Amomyrtus meli*(R.A.Philippi) , *Amomyrtus luma*(Molina) Legrand et Kausel and *Amomyrtus guili* (Speg.) Kausel.. *Flavour and Fragrance Journal* 7(5).247-251 (abstract)
- Williams, M; Gordon, E.M. 1996 *Drugs discovery: An overview*. In: *A textbook of drugs design and development*. Edited by Krogsgaard-Larsen, P; Liljefors, T; Madsen, U. Second edition. Overseas Publisher Association, Amsterdam.
- Zegers, D. C; Garcia, C. R. 1994 *Arbustos nativos de Chile. Chilean bushes – identification guide*. Segunda edición. Marisa Cúneo Ediciones.
- Øvelsesvejledning til M-353, *Etnofarmakologi 2001*. Institut for Medicinskemi, Farmakognosi. Danmarks Farmaceutiske Højskole. DFH's forlag. København.

## 7. ANEXOS

### Descripción botánica

(según Hoffmann, 1982 y Hoffmann et al. 1992)

1. *Acaena argentea* R et Pav.

Nombre común: cadillo. Familia Rosaceae.

Distribución: desde Curicó a Chiloé. Planta rastrera con grandes raíces. Sus hojas son elípticas de 4 a 7 partes.

2. *Amomyrtus meli* (Phil) Loeg, et Kausel.

Nombre común: melí. Familia Myrtaceae.

Distribución: de Valdivia a Chiloé. Árbol hasta 20 m. Su corteza presenta un color blanco algo plateado. Hojas ovales, siempre verde, olorosas. Flor blanca y perfumada.

3. *Blechnum chilensis* (Kaulf) Mett.

Nombre común: costilla de vaca. Familia Polypodiaceae.

Distribución: de los Vilos hasta la Patagonia. Helecho parecido a un pequeño árbol, las raíces de la planta se asemejan a un tronco de árbol, puede alcanzar hasta 1.50 m de alto, crece en lugares húmedos, siempre verde.

4. *Buddleja globosa* Hope.

Nombre común: Matico. Familia Buddlejaceae.

Distribución: de Santiago hasta Chiloé. Arbusto o pequeño árbol, su altura alcanza hasta 2 metros, hoja simple, de 10 a 15 cm de largo, opuestas, aovado-lanceoladas, de borde entero.

5. *Cestrum parqui* L'hér.

Nombre común: palqui. Familia solanáceae.

Distribución: de Concepción hasta Osorno. Arbusto de tallos delgados, corteza cenicienta. Hojas lanceoladas, agudas, de olor fétido, de 6 a 8 cm de largo, con borde entero.

6. *Chusquea quila* Kunth.

Nombre común: quila. Familia Gramíneae.

Distribución: de Valparaíso a Chiloé. Los tallos de quila son cañas, crecen arqueados y ramificados. Tienen rizoma grueso y ramificado. Hojas lineares con el ápice agudo, de 10 a 12 cm de largo.

7. *Cissus striata* R. et P.

Nombre común: voqui colorado. Familia Ampelidáceae.

Distribución: de Coquimbo a Chiloé. Es arbusto voluble, trepador, siempreverde, de 3 a 5 m de altura. Hojas alternas, pecioladas, palmeadas, compuestas por 5 hojuelas.

8. *Coriaria ruscifolia* L.

Nombre común: deu. Familia Coriariaceae.

Distribución: de Curico a Palena. Arbusto flexible, con ramas angulosas, de 0,6 a 3 m de altura. Hojas simples, opuestas muy poco pecioladas, de 6 a 7 cm de largo.

9. *Corynabutilon vitifolium* (Cav) Kearney.

Nombre común: huella. Familia Malvaceae. Distribución: de Arauco hasta Chiloé. Arbusto de 2 a 4 m de altura, hojas perennes y ramas afelpadas. Hojas pecioladas, anchas, acorazonadas-palmadas, de 3 a 5 lóbulos y bordes dentados.

10. *Durvillea antarctica* (Cham.) Hariot.

Nombre común: cochayuyo. Familia Phaephyteae.

Distribución: de zona Central hasta Tierra del Fuego. Alga café, hasta 6 m de largo, tallo sólido y crece sobre las rocas.

11. *Fuchsia magellanica* Lam Var.

Nombre común: chilco. Familia Onagraceae.

Distribución: de Coquimbo a Tierra del Fuego. Arbusto siempreverde, de 1 a 2 m de altura con ramas delgadas, largas y frágiles. Hojas de 5 cm de largo, pecioladas, enteras, oval-lanceoladas, borde dentado.

12. *Gevuina avellana* Mol.

Nombre común: avellana. Familia Proteaceae.

Distribución: de Valparaíso hasta Islas Guaitecas. Árbol hasta de 20 m de altura, tronco recto y ramas delgadas. Corteza gris, hojas siempreverde, compuestas, imparipinadas, borde aserrado, coriáceas, nervadura reticulada.

13. *Gunnera chilensis* Lam.

Nombre común: nalca. Familia Gunneraceae.

Distribución: sur de Chile. Planta con una enorme hoja, su tallo es robusto, espinoso, raíz fuerte, especie de rizoma.

14. *Latua pubiflora* (Griseb) Phil.

Nombre común: latúe. Familia Solanaceae.

Distribución: de Valdivia a Chiloé. Pequeño árbol o arbusto hasta 6 m de altura con tallos espinosos, delgado, hoja ovalada, color verde,. Flor hermosa y grande de color azul oscuro.

15. *Laurelia sempervirens* (R. etP.) Tul.

Nombre común: laurel. Familia Monimiaceae.

Distribución: de Colchagua hasta Puerto Montt. Árbol fuerte y frondoso, alcanza hasta 40 m de altura y unos 2 m de diámetro. Hojas aromáticas, siempreverde, opuestas, coriáceas, de color verde brillante, oblongo -lanceolada., borde aserrado.

16. *Laureliopsis philippiana* (Looser) Schodde.

Nombre común: tepa. Familia Monimiaceae.

Distribución: de Cautín hasta Llanquihue. Árbol semejante al laurel pero de ramas más colgantes. Alcanza hasta 30 m de altura. Tronco recto y cilíndrico, de 1 m de diámetro. Hojas siempreverde, aromática, opuestas, simples, de borde aserrado.

17. *Lomatia hirsuta* (Lam.) Diels. Ex Macbr.

Nombre común: radal. Familia Proteáceae.

Distribución: de Coquimbo hasta Chiloé. Alcanza hasta 15 m de altura y entre 75 y 80 cm de diámetro. Corteza gris, con manchas oscuras. Hojas grandes de 12 cm de largo por 12 de ancho. Simples, alternas, coriácea, ovalada, borde aserrado.

18. *Polypodium feuillei* Bertero.

Nombre común: calahuala. Familia Polypodiáceae.

Distribución: de Coquimbo hasta Aysén. Helecho epífita que crece sobre los árboles. Raíz delgada que se extiende sobre los troncos de los árboles. Hoja alargada, opuesta.

19. *Pseudopanax laetevirens* (Gay) Frenchet.

Nombre común: sauco. Familia Araliaceae. Distribución: de Linares hasta Tierra del Fuego. Árbol elegante, tronco esbelto y ramas largas, corteza gris, alcanza hasta 6 m de altura. Hojas perennes y olor desagradable al triturarlas con la mano. Pecíolo largo de 4 a 8 cm. Borde aserrado, color verde.

20. *Tristerix tetrandus* (L.) Kuijt.

Nombre común: quintral. Familia Lorantáceae.

Distribución: zona Central y sur de Chile. Especie parásita sobre diversos árboles y arbustos. Siempreverde, ramificado de 1 a 2 m de largo. Hojas ovadas, enteras, pedadas, pecioladas.

21. *Ugni molinae* Turcz.

Nombre común: murta.

Familia Myrtaceae. Distribución: de Talca hasta Palena. Arbusto siempreverde, muy polimorfo, alcanza hasta 2 m de altura. Pequeño en condiciones de sequía. Hojas pecioladas, opuestas, ovaladas con ápice agudo, hojas aromáticas.

### Divulgación de los resultados

Los resultados de la presente investigación sobre plantas medicinales se pueden usar en la industria medicinal para que después dicha información vuelva a su origen (Eloff, 2000). Es muy importante que las comunidades Mapuches reciban la información, porque ellos viven y hacen tratamiento primario de sus enfermedades con sus plantas medicinales. Además, han contribuido a esos conocimientos durante muchos años. Los resultados sobre las plantas medicinales investigadas y su actividad biológica van a ser devueltos a nuestros colaboradores en Chile y a las comunidades de Mapuches. El Profesor Alfonso Guzmán es el contacto directo con esas comunidades y personas que han colaborado con él. Además, esa información debería encontrarse a disposición de las escuelas u otras instancias educacionales.

Para las Comunidades indígenas posiblemente no tiene un alto significado el conocer el tipo de compuesto químico que posee una determinada planta, porque ellos han usado eso durante miles de años y no muestra ninguna toxicidad para ellos mismos. Una parte de las plantas muestra resultados, lo que significa realizar mayores investigaciones como conocer sus componentes activos, aislarlos o si posee otra actividad biológica. Pero la pregunta es ¿quién tiene los derechos de esos conocimientos? Hasta el día de hoy no existe ninguna protección sobre el conocimiento de las plantas medicinales para las comunidades indígenas. El World Intellectual Property Organization tiene reglas generales, las cuales protegen a las comunidades indígenas, pero eso pocas veces ocurre.

Las Naciones Unidas dentro de la Comisión de los Derechos Humanos declara respetar los derechos sobre las plantas medicinales de las comunidades indígenas, pero eso se encuentra sólo en el papel. Teóricamente las comunidades indígenas tienen control sobre las plantas medicinales y su uso, pero ¿quién tiene cooperación con ellos?. Las comunidades indígenas deberían formalizar un contrato con aquellas personas que desean la información (Barton, 1994), pero eso no es posible ante la división que existe entre las comunidades. Una posibilidad sería canalizarse con CONADI u otros organismos del estado para fortalecer las comunidades indígenas, ya que el gobierno chileno tiene un programa para desarrollar sus actividades con pequeños agricultores y comunidades indígenas.

Registro de propiedad intelectual  
Fundacion para la Innovacion Agraria  
Viking Books Denmark  
Inscripcion N° 137731

Puerto Montt, Chile  
Mayo de 2004

Impreso por Grafica Andina Ltda.

CENTRO DE DOCUMENTACION FIA



3 5625 00005 2418