GT 1: Etnobotánica

# Etnobotánica medicinal: oportunidad para el diálogo de saberes

Ana Bertucci, Ana González, Jorge Rasner, Vilma Castro

Ana Bertucci, Facultad de Química, bertucci@fq.edu.uy

Ana González, Facultad de Agronomía, anacel@fagro.edu.uy

Jorge Rasner, Licenciatura en Ciencias de la Comunicación, jrasner@gmail.com

Vilma Castro, Escuela de Bibliotecología y Ciencias Afines/Archivología, castrovilma@gmail.com

## Introducción

Los hongos potencialmente patógenos para el ser humano constituyen un pequeño grupo de pocos centenares entre los cientos de miles de especies del Reino Fungi. Son capaces de producir infecciones denominadas micosis, aunque en menor grado se dan también procesos alérgicos o intoxicaciones por ingestión. Los principales hongos patógenos están distribuidos en casi la totalidad de los phyla de su Reino, diversificando estrategias de patogenicidad y virulencia (James 2006).

La expresión clínica de una infección fúngica también varía con el tejido infectado y la profundidad de la lesión. Existen micosis superficiales, cutáneas, subcutáneas, profundas e invasivas o sistémicas.

Entre las infecciones fúngicas reportadas a comienzos del siglo XXI entre los uruguayos participan los agentes etiológicos *Candida albicans* y *Aspergillus niger* (Calegari 2004; Conti Díaz 2006; SNVIIH 2008; MSP 2011), entre otros.

La terapia antifúngica en que se apoya actualmente la quimioterapia presenta limitaciones relativas a efectos adversos, interacciones medicamentosas y el desarrollo de resistencia, justificando la búsqueda de nuevos antifúngicos (Carlson 2010; Denning 2012).

En esa búsqueda, la investigación en productos naturales posee dos fortalezas:

- en el caso particular de los fármacos antimicrobianos (antifúngicos, antibacterianos, antivirales, antiparasitarios) ha constituido su origen principal (Tietze L 2003; Newman D 2007). La revisión de Newman y Cragg correspondiente a 230 drogas antiinfecciosas para el período enero 1981- junio 2006 muestra 29 antifúngicos distribuidos en 22 drogas sintéticas -19 de las cuales están relacionadas (azoles)- y el resto son productos naturales o sus derivados o drogas miméticas de estructuras muy diversas. A este importante aporte químico estructural cabe agregar el conocimiento de la biología fúngica, el relacionamiento de los distintos sistemas biológicos por utilización de organismos

genéticamente modificados y la química combinatoria, que constituyen avances en otras direcciones.

- el universo de muestras de origen natural se encuentra apenas explorado dada la gran diversidad de organismos y compuestos (FAO 2008). En el caso particular de las especies vegetales, se presume que menos del 20% poseen información química o biológica registrada en bases de datos científicas (Sati S 2011).

Esta aproximación para la investigación involucra metabolitos secundarios de plantas que pueden ser aislados en cantidades muy pequeñas que además varían con la ubicación geográfica, suelo, factores climáticos, momento de colecta, sanidad vegetal y parte de planta utilizada (Dewick 2002; Alonso Paz E 2009; Wetzel S 2010). La pérdida acelerada de biodiversidad debido a prácticas agrícolas intensivas e introducción de especies invasoras constituye un problema, se reduce rápidamente el área de bosques naturales aunque existen loables esfuerzos de conservación como la protección de áreas y la formación de consorcios y organizaciones internacionales para la preservación (SNAP 2012; UICN 2012). Se ha demostrado que las plantas poseen varios grupos de compuestos con capacidad antifúngica que pueden ser útiles para el desarrollo de nuevos fármacos, por lo que la pérdida de biodiversidad es la pérdida de oportunidades de investigación farmacéutica. También los extractos vegetales o aceites esenciales pueden utilizarse como materia prima en la fabricación de fitoterápicos, con menor costo y menor tiempo de desarrollo para su colocación en mercado (FUNDAQUIM 2005; ANVISA 2012). Puede resultar difícil el abordaje industrial de la síntesis total de un compuesto de origen natural en caso de estructuras complejas (Avendaño 2001). Estos argumentos hacen necesario todo esfuerzo comunitario a favor de la preservación.

## Objetivos

De acuerdo a las estrategias mencionadas, se estableció el siguiente objetivo general de investigación: realizar una búsqueda de extractos vegetales de especies de la flora nativa uruguaya con actividad antifúngica contra hongos patógenos humanos que afectan a la población en la actualidad. Para su cumplimiento se realizaron las siguientes actividades: colectar plantas e identificarlas, acondicionarlas y preparar sus extractos vegetales, aplicar un ensayo sencillo y rápido que permita el cribaje de los extractos vegetales. De esta manera es posible contribuir al conocimiento científico de la biodiversidad y posibilidades de aprovechamiento farmacéutico de la flora nativa.

## Materiales y Métodos

### *Selección de especies vegetales*

Para preparar una biblioteca de extractos vegetales con mayor probabilidad de aciertos en la propiedad buscada, se tuvo en cuenta el criterio de selección etnobotánico ya que ha sido el más eficaz según numerosos antecedentes bibliográficos (Verpoorte 2006; Heinrich 2009; Mc Clatcheya

2009; Shelley 2009; Svetaz 2010), existiendo profusa literatura regional (Argentina, Brasil, Paraguay, Bolivia) para elaborar una base de datos de especies útiles en la medicina popular, de aplicación particular en casos de infecciones, quemaduras, heridas, picaduras o mordeduras, picazón, manchas o lavados, para hacer más eficiente el hallazgo de antimicrobianos.

Las plantas colectadas fueron seleccionadas de acuerdo a información etnobotánica que relacionara sus especies con el tratamiento de infecciones, heridas o quemaduras (Goyeneche 1906; Copetti 1918; Lombardo 1928; Lombardo 1937; Arrillaga de Maffei 1969; Cabrera 1978; Ratera 1980; Toursarkissian 1980; Jozami 1983; Gupta 1995; Arrillaga de Maffei 1997; Lahitte 1998; Piastri 1998; Alonso 2005; Alonso Paz 2009; Chifa 2011). También fueron colectadas plantas al azar por su abundancia en el sitio o relaciones taxonómicas, por ej. varias especies del mismo género.

El material vegetal se colectó en dos zonas del Departamento de Paysandú (ROU): a) áreas linderas al río Uruguay frente a la isla Guaviyú en abril y diciembre 2006, y b) la ribera del río Queguay desde Paso Andrés Pérez hacia la desembocadura del Queguay en el Uruguay en Marzo 2008 y Febrero 2009.

Bosque ribereño del río Queguay

Todas las plantas fueron identificadas por el Lic. Federico Haretche y un *voucher specimen* de cada ejemplar fue depositado en el *Herbarium* del Museo y Jardín Botánico «Prof. Atilio Lombardo» (MVJB) de la ciudad de Montevideo.

Hojas, partes aéreas, fruto o corteza de cada planta fueron secados en oscuridad a temperatura ambiente sin ventilación. Se realizó una molienda gruesa del material vegetal con molino de martillos.

Cada extracto vegetal se obtuvo a partir de 10 g de material vegetal molido y 100 mL de solvente mediante maceración en frío 48 horas, filtración y reposición del solvente, unificación de extracciones y concentración a vacío en rotoevaporador a temperatura menor a 40°C. Concentración final aproximada: 1mg/mL. Los solventes utilizados con el fin de extraer compuestos de distinta polaridad fueron: diclorometano (HPLC, JTBaker), acetona (ppa, Dorwil) y etanol/agua 70:30 a partir de etanol 95° (ANCAP) bidestilado.

***Metodología para el cribaje de extractos vegetales***

Acerca de la metodología a emplear para el cribaje de los extractos vegetales por su bioactividad, existe consenso entre los autores respecto a las características generales deseables para su realización: alto rendimiento, que requiera pequeñas cantidades de muestras, técnicamente sencillo, económico, sin ambigüedades en sus resultados, lo suficientemente sensible para no perder potenciales positivos (Albuquerque 2006; Sangamwar 2008).

La *Bioautografía en capa de agar* (Agar Overlay) posee las características mencionadas; sobre un soporte de silica o papel con una o varias muestras de extractos vegetales se deposita medio de cultivo inoculado con la cepa de interés, se incuba en las condiciones y tiempo requeridos por el microorganismo y se observan halos de inhibición directamente o por tinción. Se utilizan cepas fúngicas perfectamente identificadas y sensibles, de colección internacional y se incluye positivos (antifúngicos comerciales) y negativos (solventes de extracción utilizados).

Los ensayos de capacidad antifúngica por *Bioautografía en capa de agar* fueron realizados con cultivos frescos de las siguientes cepas fúngicas: *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus niger* ATCC 2601, en concentración $10^8$ ufc/mL en tween 80 0,05%, a razón 1:100 en agar Sabouraud (Difco). Los antifúngicos utilizados en los ensayos microbiológicos fueron: Anfotericina B y Ketoconazol (Sigma-Aldrich). El colorante para tinción de levaduras fue cloruro de p-iodonitrotetrazolium (INT Violet) (Fluka).

El ensayo se consideró positivo (extracto vegetal que produce inhibición) si se observó halo claro.

Bioautografía en capa de agar de Candida albicans ATCC 10231.

## Resultados y discusión[1]

Se ensayaron extractos vegetales de 56 especies por Bioautografía en capa de agar contra *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus niger* ATCC 2601. No se produjo inhibición de las cepas mencionadas utilizando 19 extractos vegetales (1 mg/mL).

De las 37 especies que resultaron bioactivas por lo menos en uno de sus extractos, respecto a la información etnobotánica se obtuvo el siguiente relacionamiento:

- Se confirmó el conocimiento popular de su posible utilidad como antiséptico en 11 especies, constituyendo el 79% de los casos de correcto uso específico.
- Se confirmó actividad antifúngica en 14 especies (54%) utilizadas por la población con otros fines que no incluyen propiedades antiinfecciosas o relacionadas.
- Se probó actividad antifúngica en 10 especies no informadas en la biblioteca tradicional revisada (59%). En sólo 3 casos se encontró reportes en bases científicas pero no relacionados a esta bioactividad. Para 7 especies se publicó por primera vez información relativa a su utilidad.

En relación a resultados negativos del ensayo bioautográfico:

- No se confirmó actividad antifúngica en las cepas estudiadas en extractos de 3 especies (21%), a pesar de ser citadas por conocedores tradicionales como apropiadas para tratamientos relacionados a procesos infecciosos, y se valora como el mayor desacierto del saber popular.

*Arrabidaea selloi* (Spreng.) Sandwith,

1

*Mitracarpus megapotamicus* (Spreng.) Kuntze,

*Sebastiania commersoniana* (Baill.) L.B. Sm. & Downs

**Resultados bioautográficos**

El número de aciertos en la búsqueda de extractos vegetales antifúngicos fue 20% mayor cuando se tuvo en cuenta información etnobotánica para la colecta de plantas (b) que en el caso de no poseer dicha información (a).

Numerosos reportes avalan el criterio etnobotánico o etnofarmacológico para hacer más eficaz la colecta de plantas. En particular, un estudio de siete países latinoamericanos con un universo de 144 plantas colectadas con información de utilidad antiinfecciosa por parte de distintas comunidades y 183 plantas colectadas al azar, cuyos extractos etanólicos fueron ensayados por Microdilución contra 11 cepas fúngicas, demostró que existe una diferencia estadísticamente significativa del orden de 20% a favor del empleo de dicho criterio (Svetaz 2010). La tendencia en la presente investigación coincidió con los resultados de dicho estudio.

**Conclusiones y perspectivas**

La curación por plantas forma parte del *modus vivendi* de pueblos de todas las culturas, del nivel primario de salud de los sistemas nacionales y para algunas personas o comunidades es la única solución frente al problema sanitario (WHO 2002; FAO 2008); por ello es tan importante realizar una devolución de resultados de investigaciones científicas que confirme o descarte su utilización (Calixto 2005; Chifa 2011).

El trabajo a seguir consistirá en la elaboración de una base de datos actualizada de especies vegetales utilizadas por conocedores tradicionales en tratamientos antiinfecciosos, su forma de preparación y de utilización. Se establecerá vínculos con estos actores sociales y se realizará una entrevista semi-estructurada. Las entrevistas y observaciones tenderán a identificar posibles tratamientos para luego contrastar la información con Bases de Datos científicas. Se procederá a identificar taxonómicamente las plantas utilizadas, evitando errores de nomenclatura. Se realizará ensayos microbiológicos para confirmar su eficacia.

Al finalizar la investigación habrá una devolución a los yuyeros o herboristas, para esclarecer situaciones, errores, niveles de beneficio, toxicidad, ajustar el «valor de uso» de la especie vegetal.

También se estudiará aspectos epistemológicos relacionados con la generación del conocimiento popular sobre plantas medicinales, y del tejido social alrededor de la comunidad de conocedores tradicionales, su relación con la población y con otros agentes sanitarios.

Este equipo de investigación promoverá la resolución de un problema sanitario y social, incorporando y desarrollando conocimiento a través de la investigación centrada en la resolución del problema particular, propendiendo al diálogo entre el saber académico y el saber popular, valorando el aporte de todos y acudiendo a todas las disciplinas.

**Referencias**

Albuquerque, U; Hanazaki, N (2006). «As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e pespectivas» Rev Bras Farmacogn **16**(Supl.): 678-689.

Alonso, J; Desmarchelier, C, Eds. (2005). Plantas autóctonas medicinales de la Argentina. Buenos Aires, LOLA.

Alonso Paz, E; Bassagoda, MFerreira, F, Eds. (2009). *Yuyos. Uso racional de las plantas medicinales*. Montevideo, Fin de Siglo.

Anvisa. (2012). «Medicamentos fitoterápicos». Legislação. Retrieved 2012, from http://portal.anvisa.gov.br.

Arrillaga De Maffei, B (1969). *Plantas medicinales. Nuestra Tierra*. Montevideo, Publicaciones del Uruguay: 60.

Arrillaga De Maffei, B, Ed. (1997). *Plantas usadas en medicina natural*. Montevideo, Hemisferio Sur.

Avendaño, M, Ed. (2001). *Introducción a la Química Farmacéutica*. Madrid, McGraw-Hill, Interamericana de España

Cabrera, A, Ed. (1978). *Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires*. 1.era Ed. 1953. 2da. Ed. 1978, ACME.

Calegari, L; Salvatella, R; Gezuele, E; Zanetta, E; Acuña, A; Ballesté, R; Basmadjián, Y; Rosa, R; Puime, A; Arteta, Z; Russi, C; Xavier, B; Risso, M; Cabrera, M; González Arias, M; Combol, A; Acosta, G; Da Rosa, W; González Curbelo, M; Liporace, Y (2004). *Enfermedades parasitarias y micóticas en Uruguay*. Msp, O, Udelar. Montevideo**:** 1-22.

Conti Díaz, I (2006). «Micosis superficiales» *Biomed* **1**(2): 15-34.

Copetti, V, Ed. (1918). *Tratado teórico práctico de Farmacognosia, con una relación circunstanciada de las plantas medicinales comunes del Uruguay*. Montevideo, Monteverde.

Chifa, C; Ricciardi, A, Eds. (2011). *Plantas medicinales usadas por las comunidades aborígenes del Chaco argentino*. Tucumán, Ediciones Elemento.

Denning, D (2012). «Antifungals: Where are we headed?» *Drug Plus Int*. Netherlands, Iptechec Pharmalicensing.

Dewick, P, Ed. (2002). *Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach.* West Sussex, Wiley & Sons Ltd.

FAO (2008). *Trade in Medicinal plants*. Department., Eas. Roma**:** 64.

Goyeneche, B, Ed. (1906). *Diccionario de medicina rural o sea propiedades medicinales de las plantas del país*. Paysandú, Vázquez-Gómez.

Grela, I (2004). *Geografía florística de las especies arbóreas del Uruguay: propuesta para la delimitación de dendrofloras*. Facultad de Agronomía. Montevideo, Universidad de la República. Maestría en Ciencias Biológicas, opción Botánica: 97.

Gupta, M, Ed. (1995). *270 Plantas medicinales iberoamericanas*. Bogotá, CYTED.

Heinrich, M; Edwards, S; Moerman, D; Leonti, M (2009). «Ethnopharmacological field studies: a critical assessment of their conceptual basis and methods.» *J Ethnopharmacol* 124: 1-17.

James, T (2006). «Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny» *Nat* **443**: 818-822.

Jozami, J; Muñoz, J, Eds. (1983). *Árboles y arbustos indígenas de Entre Ríos*. Santa Fe, IPNAYS CONICET.

Lahitte, H; Hurrel, J; Belgrano, M; Jankowski, L; Haloua, P; Mehltreter, K, Eds. (1998). *Plantas medicinales rioplatenses: Plantas nativas y naturalizadas utilizadas en medicina popular en la región del Delta del Paraná, Isla Martín García y ribera platense*. Buenos Aires, LOLA.

Lombardo, A; Copetti, V; González, M; Vallarino, A, Eds. (1937). *Plantas de la medicina popular del Uruguay*. Montevideo, Talleres gráficos Cerrito.

Lombardo, A ; González, MCopetti, V, Eds. (1928). *Plantae Diaphoricae* : *florae uruguayensis*. Montevideo.

Mc Clatcheya, W ; Mahadyb, G ; Bennettc, B ; Shielsa, L; Savod, V (2009). « Ethnobotany as a pharmacological research tool and recent developments in CNS-active natural products from ethnobotanical sources» *Pharmacol Ther* **123**(2): 239-254.

MSP (2011). *Informe de la situación nacional de VIH/SIDA*, Ministerio de Salud Pública MSP**:** 15.

Piastri, M ; Pardías, P; Orfila, L. (1998). «Tesauro de plantas medicinales», 2008, from http://mail.fq.edu.uy/tematres.

Ratera, E; Ratera, M, Eds. (1980). *Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular*. Buenos Aires, Hemisferio Sur.

Sangamwar, A ; Deshpande, UPekamwar, S (2008). «Antifungals: need to search for a new molecular target» *Indian J Pharm Sci* 70(4): 423-430.

Shelley, B (2009). «Ethnobotany & the process of drug discovery: A laboratory exercise» *Drug Discov* 71(9): 541-547.

SNAP (2012). «Sistema Nacional de Áreas Protegidas» Retrieved 2012, from http://www.snap.-gub.uy/.

SNVIIH (2008). *Infecciones hospitalarias en Uruguay: datos de los primeros 18 meses de vigilancia nacional*. 1/I/2007 a 30/VI/2008. Msp, MSP.

Svetaz, L; Zuljan, F; Derita, M; Petenatti, E; Tamayo, G; Cáceres, A; Cechinel Filho, V; Giménez, A; Pinzón, R; Zacchino, S; Gupta, M (2010). «Value of the ethnomedical information for the discovery of plants with antifungal properties. A survey among seven Latin American countries» *J Ethnopharmacol* 127: 137-158.

Toursarkissian, M, Ed. (1980). *Plantas medicinales de la Argentina: Sus nombres botánicos, vulgares, usos y distribución geográfica*. Buenos Aires, Hemisferio Sur.

Verpoorte, R; Kim, H; Choi, H (2006). *Plants as source of medicines. New perspective. Medicinal and aromatic plants*. Bogers, C, Lange, Springer.

WHO (2002). *WHO Traditional Medicine Strategy* 2002–2005. WHO/EDM/TRM/2002.1. Geneve, World Health Organization: 61.