

# **Búsqueda sistematizada de plantas con actividad farmacológica utilizando el Banco de Extractos Vegetales de plantas nativas y naturalizadas de la Provincia de La Pampa**

Toso R. E.<sup>1</sup>; Steibel, P. E.; Troiani, H. O.; Oriani, D. S.; Ardoino, S. M.; Toribio, M. S.; Boeris, M. A.

Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam. Calle 5 y 116, General Pico, La Pampa (6360) Argentina. <sup>1</sup>retoso@vet.unlpam.edu.ar

## **Resumen**

El Banco de Extractos Vegetales (BEV) ha sido creado con la finalidad de utilizar los extractos coleccionados para evaluar el potencial farmacológico de las plantas empleando modelos experimentales *in vivo* e *in vitro*. El BEV es una colección de extractos obtenidos a partir de partes aéreas de plantas nativas y naturalizadas de la Provincia de La Pampa. Los extractos se obtuvieron por maceración a temperatura ambiente utilizando como solvente etanol:agua (1/1, v/v) se desecaron a presión reducida y almacenaron a -20 °C. La disposición inmediata de las muestras permite realizar búsquedas al azar para detectar la presencia de actividad farmacológica en las distintas especies vegetales. Utilizando este procedimiento ha sido posible determinar actividad antimicrobiana, antiespasmódica, gastroprotectora y antiinflamatoria, confirmando en algunos casos y en otros evidenciando la presencia de estas propiedades en especies sin antecedente etnofarmacológicos. Los estudios sistematizados llevados a cabo utilizando los recursos del BEV son empleados para ampliar el conocimiento y eventual aprovechamiento del potencial fármaco-botánico de las plantas que se desarrollan en la provincia de La Pampa.

**Palabras clave:** Banco de Extractos Vegetales, Farmacobotánica, Farmacognosia, Etnofarmacología.

## **Sistemized search of plants with pharmacologic activity using Bank of plants extracts of native and naturalized plants of La Pampa province.**

## **Summary**

Bank of plants extracts (BEV) has been created with the purpose of use the collected extracts to evaluate the pharmacological potential of plants using experimental models /*in vitro*/ and /*in vivo*/. BEV is an extract collection obtained from aerial parts of native and naturalized plants of La Pampa province. Extracts are obtained at room temperature using ethanol:water (1/1, v/v) as a solvent, desiccated by low pressure and storage at -20°C. Samples ready to use in bioassays

availability makes possible randomly search to detect pharmacological activity. By this procedure was possible to determinate antimicrobial, antispasmodic, gastro protective and anti-inflammatory activities in different plant species. The presence of these properties was confirmed in some cases, and in other these properties, without background ethnopharmacological information, were determined. Systematic studies carried out using the BEV resources are used to extend knowledge and possibly use the pharmaco-botanical potential of plants that growth in La Pampa provincia.

**Key words:** Bank of plants extracts, Pharmacobotanic, Pharmacognosy, Ethnopharmacology.

## **Introducción**

La naturaleza interdisciplinaria de la etnobotánica permite una amplia variedad de enfoques y aplicaciones. Sin embargo, ha existido un escaso intercambio de teorías y métodos entre disciplinas (Prance, 1991; Alexiades 1996). Esta situación, tal vez explique la alta proporción de estudios etnobotánicos descriptivos, limitados a compilar listas de plantas útiles (Gómez Veloz, 2002). Los investigadores prestan especial atención a la utilización de la información etnobotánica para la selección de plantas en la búsqueda de compuestos con actividad biológica, quedando relegadas aquellas que no son mencionadas y que podrían contener grupos químicos de interés farmacológico. Por esta razón los métodos de prospección al azar siguen teniendo preferencia en la búsqueda de compuestos activos por parte de la industria farmacéutica (Cox y Balick, 1994; Khafagi y Dewedar, 2000).

De acuerdo con lo expuesto, para que todo el potencial medicinal de las plantas pueda aprovecharse, es necesario sistematizar el acceso a la biodiversidad. El primer paso realizado por los investigadores del CIDEF<sup>1</sup> para concretar este objetivo, fue la creación de un Banco de Extractos de plantas nativas y naturalizadas de la Provincia de La Pampa (BEV). El BEV cuenta en la actualidad con una colección de 180 extractos hidroalcohólicos obtenidos a partir de partes aéreas de las plantas. Los trabajos se iniciaron realizando un relevamiento de las plantas nativas y naturalizadas seguido de la recolección de muestras para la obtención de los extractos que son almacenados en el BEV. Utilizando este recurso se ensayan sistemáticamente muestras de cada planta con la finalidad de evaluar la presencia de actividad antimicrobiana, gastroprotectora, antiinflamatoria y antiespasmódica. Este procedimiento, permite confirmar o detectar propiedades aún no descriptas en las plantas que se desarrollan en La Pampa. Estos estudios tienen como finalidad ampliar el conocimiento y eventual aprovechamiento del potencial fármaco-botánico de las plantas que se desarrollan en la provincia de La Pampa.

---

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLPam.

## **Materiales y Métodos**

### ***Recolección y acondicionamiento de las muestras***

Un listado de las plantas nativas y naturalizadas de la Provincia de La Pampa fue realizado por botánicos del Área de Ecología de la Facultad de Agronomía de la UNLPam. Teniendo en cuenta el período óptimo para su recolección, se organizaron expediciones en distintas épocas del año para recolectar partes aéreas de las plantas en estado vegetativo maduro o con frutos. Un ejemplar de cada especie, o muestra representativa, se depositó en el Herbario de la Facultad de Agronomía de la UNLPam (SRFA). Se colocaron en bolsas arpilleras plásticas y se secaron en estufas con corriente de aire a 50 °C.

### ***Preparación de los extractos***

Se maceraron 200 g de partes aéreas desecadas de la planta en 1.000 ml de una solución etanol : agua (1:1, v/v) durante 24 h (3x). Los extractos se juntaron, se redujeron en rotavapor a una temperatura de 70 °C. Se fraccionaron en 10 frasco ampolla conteniendo cada uno el extracto proveniente de 20 g de partes aéreas desecadas de la planta y se llevaron a sequedad a presión reducida. Los extractos secos se conservaron a -20 °C en el BEV.

### ***Métodos empleados para determinar acciones farmacológicas***

La actividad farmacológica se evaluó utilizando los siguientes modelos experimentales: *Actividad gastroprotectora*: inducción de úlceras por hipotermia e inmovilización descrito por Yesilada et al. (1993). *Actividad antiespasmódica*: método descrito por Arbos et al. (1993). *Actividad antimicrobiana*: técnica de Kirby-Bauer (Bauer et al., 1966). *Actividad antiinflamatoria*: test de la carragenina (Winter et al., 1962).

### ***Dosis utilizadas en los bioensayos para evaluar la actividad farmacológica***

La actividad gastroprotectora, antiespasmódica y antiinflamatoria se evaluó utilizando como animales de experimentación a ratones *Mus musculus* de 28 a 30 g de peso corporal. Los animales fueron administrados *per os* con el extracto hidroalcohólico proveniente de 1 g de partes aéreas desecadas resuspendido en una solución de carboximetilcelulosa al 0,01 % en agua destilada.

La determinación de la sensibilidad bacteriana al/los agentes químicos presentes en los extractos se realizó empleando una modificación del método de difusión en agar de Kirby-Bauer (Koneman et al., 1983), en el cual los discos de antibiótico fueron reemplazados por pocillos en los cuales se depositaron 60 ul de una solución de extracto metabólico obtenido a partir del extraco hidroalcohólico. Esta solución se preparó diluyendo el extracto metanólico proveniente de 1 g de partes aéreas desecadas en 10 ml de solución fisiológica estéril. Se utilizó el medio de

cultivo de agar Müller Hinton. Un pocillo periférico se utilizó para colocar una solución buferada estéril como control negativo. Para la determinación de actividad antimicrobiana contra *Brucilla canis* se colocó en el centro de la placa un disco de minociclina como control positivo. Se empleó un inóculo de *Brucella canis* con una turbidez similar a 0,5 de Mc Farland (108 UFC/ml) preparado en solución salina estéril. La inoculación se efectuó con espátula de Drigalski. Las placas se incubaron en aerofilia a 37°C, realizando la lectura a las 24 h. Utilizando el mismo procedimiento, se utilizaron cepas de *Staphylococcus aureus* informando como plantas con actividad antimicrobiana a todas aquellas que produjeron halos de inhibición frente a alguna de estas cepas.

## Resultados

El método de desecación de los extractos fraccionados en frasco-ampolla utilizando evaporadores rotatorios resultó más rápido y económico que el secado por liofilización.

El fraccionamiento permitió un mejor aprovechamiento de la muestra.

Utilizando los modelos experimentales indicados en Materiales y Métodos se detectó en los extractos actividad antimicrobiana, antiespasmódica, gastroprotectora y antiinflamatoria (Cuadro 1).

### Cuadro 1. Especies vegetales que mostraron actividad farmacológica

*Acmella decumbens*<sup>1,2,3</sup>, *Ailanthus altissima*<sup>1</sup>, *Allenrolfea patagonica*<sup>1</sup>, *Aloysia gratissima*<sup>1</sup>, *Aloysia polistachya*<sup>1</sup>, *Amaranthus quitensis*<sup>1</sup>, *Ambrosia tenuifolia*<sup>1</sup>, *Anredera cordifolia*<sup>1</sup>, *Atriplex undulata*<sup>1</sup>, *Baccharis articulata*<sup>1</sup>, *Baccharis pingraea*<sup>1</sup>, *Baccharis soliafolia*<sup>1</sup>, *Bidens subalternans*<sup>1</sup>, *Capsella bursa-pastoris*<sup>1</sup>, *Centaurea solstitialis*<sup>3,4</sup>, *Chenopodium album*<sup>1</sup>, *Chenopodium ambrosoides*<sup>1</sup>, *Chenopodium multifidum*<sup>1,4</sup>, *Clematis montevidensis*<sup>1</sup>, *Cortadeira selloana*<sup>1</sup>, *Datura ferox*<sup>1</sup>, *Ephedra ochreatea*<sup>1</sup>, *Eragrostis pilosa*<sup>1</sup>, *Eucaliptus cinerea*<sup>1</sup>, *Euphorbia helioscopia*<sup>1</sup>, *Euphorbia peplus*<sup>1</sup>, *Geranium molle*<sup>1,2</sup>, *Gnaphalium gaudidraudianum*<sup>1,4</sup>, *Grindelia chiloensis*<sup>1</sup>, *Ibicella lutea*<sup>1</sup>, *Iodina rhombifolia*<sup>2,4</sup>, *Lippia turbinata*<sup>1,2,3,4</sup>, *Marrubium vulgare*<sup>2,3,4</sup>, *Melilotus albus*<sup>1</sup>, *Mitracarpus megapotamicus*<sup>1</sup>, *Muehlenbeckia sagitifolia*<sup>1</sup>, *Oenothera grandiflora*<sup>1</sup>, *Parkinsoniana aculeata*<sup>1</sup>, *Phyla canescens*<sup>1</sup>, *Physalis viscosa*<sup>1</sup>, *Plantago lanceolata*<sup>1,4</sup>, *Poligonum hydropiperoides*<sup>1</sup>, *Rhynchosia senna*<sup>1</sup>, *Rosa rubiginosa*<sup>1</sup>, *Rumex crispus*<sup>1</sup>, *Ruta chalepensis*<sup>1,2,4</sup>, *Salix alba*<sup>1</sup>, *Salix fragilis*<sup>1</sup>, *Salix Humboldtiana*<sup>1</sup>, *Salpichroa organifolia*<sup>1</sup>, *Schinus fasciculatus*<sup>1</sup>, *Senecio pinnatus*<sup>1</sup>, *Solanum biflorum*<sup>1</sup>, *Solidago chilensis*<sup>1,3</sup>, *Stellaria pallida*<sup>1</sup>, *Thelesperma megapotamicum*<sup>1</sup>, *Tríbulus terrestris*<sup>1,2,3,4</sup>, *Urtica urens*<sup>1</sup>, *Verbesina encelioides*<sup>1</sup>, *Vinca major*<sup>1</sup>, *Viola adorata*<sup>1</sup>, *Xanthium cavanillesii*<sup>1</sup>.

**Ref.** <sup>1</sup>Efecto antimicrobiano, <sup>2</sup>Efecto antiinflamatorio, <sup>3</sup>Efecto antiespasmódico, <sup>4</sup>Efecto gastroprotector.

**Nota:** se indican como plantas con efecto antimicrobiano aquellas que mostraron halo de inhibición a alguna de las cepas de referencia utilizadas.

## **Discusión y Conclusiones**

Como puede observarse, en este trabajo se ha abandonado el enfoque tradicional para el estudio etnofarmacológico de las plantas abordando una investigación interdisciplinaria basada puramente en estudios científicos sistematizados. Este enfoque propone una búsqueda más amplia y que no esté influenciada por la pérdida de los conocimientos tradicionales. De este modo, realizando ensayos al azar es posible descubrir propiedades no señaladas por el saber popular o cuyo uso se perdió a través del paso de generación en generación (Martin, 2001).

Para llevar a cabo estos estudios fue necesario utilizar un criterio restrictivo con respecto a la selección del método de recolección de muestras y de la elaboración de los extractos (Kuklinski, 2000). Del mismo modo se procedió para seleccionar los modelos experimentales para determinar la presencia de actividad farmacológica. Esta restricción debe tenerse en cuenta al momento de analizar los resultados ya que no se está haciendo un estudio exhaustivo sino que sólo se emplea un método estandarizado de obtención de extractos y se utiliza un modelo experimental para cada propiedad estudiada.

En el Cuadro 1 se muestran resultados obtenidos hasta el momento de esta publicación que indican un elevado número de hallazgos. Puede observarse que algunas plantas poseen más de un efecto farmacológico. Esto podría explicarse si se considera el solvente de extracción utilizado, ya que eluye metabolitos de distintos grupos químicos y con diferentes acciones farmacológicas (Evans, 1995). Por otro lado puede observarse que casi la totalidad de los extractos presenta actividad antimicrobiana. Este resultado debe interpretarse teniendo en cuenta que se utilizaron varias cepas bacterianas y se marcaron como activos aquellos extractos que lograron halos de inhibición en alguna de ellas. Además, entre los compuestos que eluye el solvente utilizado se encuentran flavonoides y alcaloides, muchos de los cuales poseen actividad antimicrobiana reconocida (Fuertes et al., 1994). Estos compuestos producen frecuentemente halos de inhibición en los ensayos *in vitro*, aunque se observa una mala correlación en el comportamiento antimicrobiano en los estudios clínicos (Rivas y Quevedo Serrano, 2003).

De acuerdo con lo expuesto, la información obtenida tiene un valor orientativo, identificando especies vegetales que expresan su actividad farmacológica en modelos experimentales. El eventual aprovechamiento clínico deberá ser confirmado a través de estudios complementarios.

Los resultados presentados en este trabajo permiten concluir que el BEV representa una herramienta invaluable para realizar búsquedas al azar de plantas con propiedades

farmacológicas en la Provincia de La Pampa ya que, aún considerando los criterios restrictivos señalados permiten ampliar el conocimiento existente.

### **Bibliografía**

**Arbos, J.; Zegrí, A.; Lopez Soriano, F. R. J.; Argiles, J. M.** 1993. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. Archives internationales de physiologie, de biochimie et de biophysique. 101: 113-115.1993.

**Alexiades, M.** 1996. Selected guidelines for ethnobotanical research: a field manual. New York Botanical Garden, Nueva York, USA.

**Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J. C.; Truck, M.** 1966. Antibiotic susceptibility testing by a single disk method. American Journal of Clinical Pathology, 45: 493-496.

**Cox, P.; Balick, M.** 1994. The ethnobotanical approach to drug discovery. Scientific American, 271: 82-87.

**Evans, W.C.** 1991. Farmacognosia - Trease-Evans, 13ª edición. Editorial Interamericana S.A. y Mc Graw-Hill, Inc., México D.F., México. p 1-15.

**Fuertes, C. R.; Alcarraz, M. R.; Vidalón, M. T.** 1994. Flavonoides y alcaloides de *Lupinus ballianus* c.p. Smith con actividad antibacteriana y antifúngica. Ciencia e Investigación, 1: 12-16.

**Gómez Veloz, A.** 2002. Plant use knowledge of the Winikina Warao: The case for questionnaires in ethnobotany. Economic Botany, 56: 231-242.

**Khafagi, I.; Dewedar, A.** 2000. The efficiency of random versus ethnodirected research in the evaluation of Sinaí medicinal plants for bioactive compounds. Journal of Ethnopharmacology, 71: 365-376.

**Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Dowell, V. R.; Sommers, H. M.** 1983. Diagnóstico Microbiológico. Editorial Médica Panamericana. Argentina. p. 380-392.

**Kuklinsky, C.** 2000. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Editorial Omega. Barcelona. España. p 7-17.

**Martín, G.** 2001. Etnobotánica: Manual de métodos. Nordan-Comunidad. Montevideo, Uruguay. p. 240.

**Prance, G.** 1991. What is the ethnobotany today? Journal of Ethnopharmacology, 32: 209-216.

**Rivas, P.; Quevedo Serrano, R.** 2003. Utilidad clínica de las pruebas de susceptibilidad antimicótica. Revista Colombiana de Cancerología, 7: 34-43.

**Winter, C. A.; Risley, E. A.; Nuss, G.** 1962. Carrageenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine, 3: 544-547.

**Yesilada, E.; Sezik, E.; Fujita, T.; Tanaka, S.; Tabata, M.** 1993. Screening of some Turkish medicinal plants for their antiulcerogenic activities. *Phytotherapy Research*, 7: 263-265.