



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FARMACOLÓGICA Y TOXICOLÓGICA**  
**LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES**

**MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE**  
**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

***"SCREENING FITOQUÍMICO, ANTIMICROBIANO Y***  
**ANTIOXIDANTE DE PLANTAS PRE-ANDINAS Y DEL**  
**ALTIPLANO CHILENO"**

**PROFESOR PATROCINANTE**

Prof. MERCEDES ZALDÍVAR SAN ROMAN.

**DIRECTORES DE MEMORIA**

Prof. SILVIA ERAZO GIUFFRA.

Prof. RUBÉN GARCÍA MADRID.

**MARÍA DEL PILAR MATTA LA HOZ**

SANTIAGO DE CHILE  
2009

## INDICE GENERAL

	Página
<b>CAPITULO I</b>	
<b>INTRODUCCION.....</b>	1
 <b>CAPITULO II</b>	
<b>HIPOTESIS.....</b>	5
 <b>CAPITULO III</b>	
<b>OBJETIVOS.....</b>	6
3.1 Descripción de los objetivos.....	6
3.1.1 Objetivo general.....	6
3.1.2 Objetivos específicos.....	6
 <b>CAPITULO IV</b>	
<b>ANTECEDENTES GENERALES.....</b>	7
4.1 <i>Caiophora</i> .....	7
4.1.1 <i>Caiphora sepiaria</i> (G.Don) J.F. Macbr.....	7
4.1.1.1 Clasificación Taxonómica.....	7
4.1.1.2 Distribución geográfica.....	8
4.1.1.3 Descripción botánica.....	8
4.1.1.4 Usos en medicina popular.....	9
4.1.1.5 Otros usos.....	9
4.1.1.5 Estudios previos.....	9
4.1.2 <i>Caiophora rhameri</i> Phil.....	9
4.1.2.1 Clasificación Taxonómica.....	9
4.1.2.2 Distribución geográfica.....	9

4.1.2.3 Descripción botánica.....	10
4.1.2.4 Usos en la medicina popular.....	10
4.1.2.5 Otros usos.....	10
4.1.2.6 Estudios previos.....	10
4.2 <i>Senecio</i> .....	10
4.2.1 <i>Senecio nutans</i> Sch. Bip.....	11
4.2.1.1 Clasificación Taxonómica.....	11
4.2.1.2 Distribución geográfica.....	11
4.2.1.3 Descripción botánica.....	11
4.2.1.4 Usos en medicina popular.....	12
4.2.1.5 Otros usos.....	12
4.2.1.6 Estudios previos.....	12
4.2.2 <i>Senecio adenophyllus</i> Meyen et Walp.....	13
4.2.2.1 Clasificación Taxonómica.....	13
4.2.2.2 Distribución geográfica.....	13
4.2.2.3 Descripción botánica.....	13
4.2.2.4 Usos en medicina popular.....	14
4.2.2.5 Otros usos.....	14
4.2.2.6 Estudios previos.....	14
4.2.3 <i>Senecio trifurcifolius</i> Hieron.....	15
4.2.3.1 Clasificación Taxonómica.....	15
4.2.3.2 Distribución geográfica.....	15
4.2.3.3 Descripción botánica.....	15
4.2.3.4 Usos en medicina popular.....	16
4.2.3.5 Otros usos.....	16
4.2.3.6 Estudios previos.....	16
4.3 <i>Parastrephia</i> .....	16

4.3.1 <i>Parastrephia lucida</i> (Meyen) Cabrera.....	17
4.3.1.1 Clasificación Taxonómica.....	17
4.3.1.2 Distribución geográfica.....	17
4.3.1.3 Descripción botánica.....	17
4.3.1.4 Usos en medicina popular.....	18
4.3.1.5 Otros usos.....	18
4.3.1.6 Estudios previos.....	18
4.4 <i>Myrica</i> .....	19
4.4.1 <i>Myrica pavonis</i> C. DC.....	19
4.4.1.1 Clasificación Taxonómica.....	19
4.4.1.2 Distribución geográfica.....	20
4.4.1.3 Descripción botánica.....	21
4.4.1.4 Usos en medicina popular.....	21
4.4.1.5 Otros usos.....	21
4.4.1.6 Estudios previos.....	21

## **CAPITULO V**

<b>MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>22</b>
5.1 Estudio químico.....	22
5.1.1 Recolección.....	22
5.1.2 Obtención de extractos, infuso y aceites esenciales.....	23
5.1.2.1 Obtención de los extractos.....	23
5.1.2.2 Obtención del infuso.....	24
5.1.2.2 Obtención del aceite esencial.....	24
5.1.3 Estudio cromatográfico.....	24
5.2 Estudios In Vitro.....	27
5.2.1 Ensayo frente Xantina Oxidasa.....	28

5.2.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos por siembra en superficie de agar.....	30
5.2.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana por el bioensayo bioautografía.....	32
5.2.4 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos.....	33
 <b>CAPITULO VI</b>	
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>35</b>
6.1 <i>Screening</i> de identificación por CCF de los extractos, infusos y aceite esencial.....	35
6.2 Ensayo frente a xantina oxidasa.....	45
6.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana por el bioensayo bioautografía, por siembra en superficie de agar y concentración mínima inhibitoria (CMI).....	47
6.4 Evaluación de la actividad antifúngica por el bioensayo bioautografía, por siembra en superficie de agar y concentración mínima inhibitoria (CMI) de aceites esenciales.....	59
 <b>CAPITULO VII</b>	
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>60</b>
 <b>CAPITULO VIII</b>	
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>63</b>
8.1 Referencias bibliográficas.....	63

**CAPITULO IX**

<b>ANEXOS.....</b>	<b>69</b>
Anexo 1 Bioensayo bioautografía.....	69
Anexo 2 Siembra superficial en placas de Petri.....	82

## RESUMEN

El altiplano o puna por sus características ambientales, es una región natural única en América del Sur, abarca el centro y sur del Perú, el norte de Chile, parte de Bolivia, y el noreste de Argentina. En el altiplano existen muchas especies vegetales, pero hay algunas que despiertan mayor interés en los pobladores locales, ya que son utilizados como combustible o forman parte de su dieta diaria y usos medicinales.

En este trabajo se investigaron siete plantas de cuatro géneros diferentes: *Caiophora*, *Senecio*, *Parastrephia* y *Myrica*, con el objetivo de dar un respaldo científico a las propiedades que la medicina folclórica les atribuye, así como dar a conocer estas especies desde un punto de vista fitoquímico y farmacológico, para lo cual se realizó un *screening* fitoquímico, antimicrobiano y antioxidante de estas plantas pre-andinas y del altiplano chileno.

Para ello se debió obtener los diferentes extractos, infusos y aceite esencial de las distintas plantas a estudiar, para su análisis fitoquímico y evaluación farmacológica, y determinar la actividad antimicrobiana por medio del bioensayo de bioautografía, siembra en superficie de agar y concentración mínima inhibitoria

La evaluación de la actividad antioxidante de los extractos se realizó frente a la enzima xantina oxidasa (XO).

La investigación del material vegetal de las siete especies, está constituido por la parte aérea de cada especie en estudio; comenzó con la remoción del exudado resinoso (ERES) usando como disolvente diclorometano, para continuar con el secado y la molienda de la planta sin resina. Posteriormente el material se sometió a extracción

usando disolventes de polaridad creciente, comenzando con hexano (EHEX), seguido de diclorometano (EDCM), acetato de etilo (EACET) y metanol (EMEHOH), para posterior evaluación microbiológica de cada uno de ellos.

Las dos especies del género *Caiophora* (*C. sepiaria* y *C. rahmeri*) presentaron actividad contra bacterias Gram (+). Con la bacteria Gram (-) *E. coli*, mostraron actividad los aceites esenciales de ambas especies. Además *C. rahmeri* presentó también efecto con los extractos apolares y polares frente a *E. coli*.

El género *Senecio* representado por *Senecio nutans*, *Senecio adenophyllus* y *Senecio trifurcifolius* mostró actividad antimicrobiana de amplio espectro, tanto para microorganismos Gram (+) como Gram (-). Al comparar los extractos obtenidos de estas especies, *Senecio nutans* y *Senecio adenophyllus* tienen mayor actividad antimicrobiana que el *Senecio trifurcifolius*.

La actividad antimicrobiana en *S. nutans* la podemos atribuir tanto al exudado resinoso, a los extractos y especialmente al aceite esencial de esta especie.

El *Senecio nutans* fue el único en presentar actividad contra la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 180 µg/mL.

Los extractos apolares como el exudado resinoso y el aceite esencial de *Parastrephia lúcida* presentaron actividad antimicrobiana, siendo superior la del exudado resinoso mostrando un efecto de amplio espectro, tanto con microorganismos Gram (+): *M. flavus*, *B. subtilis* y con Gram (-): *E. coli* y *K. pneumoniae* teniendo una CMI para el exudado resinoso de 160, 70, 100, 170 µg/mL respectivamente; y para el aceite esencial 160, 160, 160 µg/mL con los mismos microorganismos.

*Myrica pavonis*, presentó actividad antimicrobiana en el exudado resinoso y aceite esencial, mostrando una actividad de amplio espectro, tanto con microorganismos Gram (+): *B. subtilis*; como Gram (-): *E. coli*.

El exudado resinoso presenta una CMI de 170 y 90 µg/mL para *B. subtilis* y *E. coli* respectivamente.

Referente a la actividad antioxidante se puede concluir que de las plantas que fueron estudiadas sólo el *S. trifurcifolius* presentó capacidad antioxidante teniendo un efecto inhibitorio 15,7%, determinada por el método de xantina oxidasa (XO).

En las siete plantas en estudio se observó que el aceite esencial obtenido de cada una de ellas fue el que presentó mejor actividad antimicrobiana, confirmando su uso popular y contribuyendo al conocimiento científico de estas especies pre-andinas y de la zona del altiplano, desde el punto de vista químico y farmacológico.

## SUMMARY

### PHYTOCHEMICAL, ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT SCREENING OF CHILEAN PRE-ANDEAN AND HIGH PLATEAU PLANTS

The high plateau or “puna” is a unique environmental region of South America due to its particular features. This area includes central and southern of Peru, northern of Chile, part of Bolivia, and northeast of Argentina. There are many indigenous plant species in this high plateau, some of these are of great interest because the inhabitants of the region used as fuels, meal or medicine.

The flora of this region is composed of plants of tiny leaves which keeps the from losing humidity.

In this thesis seven plants were researched, belonging to four different groups: *Caiophora*, *Senecio*, *Parastrephia* and *Myrica*, with the aim of giving a scientific endorsement to the properties that the medicine folkloric attributes to them, as well as presenting these species from a fitoquímico and pharmacological point of view, for which a fitoquímico screening was realised, antimicrobial and antioxidant these pre-Andean plants and the Chilean plateau.

For it one was due to obtain the different extracts, infused and essential oil of the different plants to study, for its fitoquímico analysis and pharmacological evaluation, and to determine the antimicrobial activity by means of the bioautography bio-test, seeds in surface of agar and inhibiting harassing concentration The evaluation of the activity antioxidant of the extracts was realised in front of the enzyme xanthin oxidasa (XO).

The plant material of the seven species investigated is the aerial part. The first step was the removal of the resinous exudates (ERES) using solvent dichloromethane, followed by milling and drying. Subsequently, the material was submitted to extraction using solvent of increasing polarities, beginning with hexane (HEX), followed by dichloromethane (DCM), ethyl acetate (EACET) and methanol (MET).

Extracts of the two species of the genus *Caiophora* (*C. sepiaria* and *C. rahmeri*) were active against Gram (+) bacteria. Both essential oils were also active against *E. coli*, a Gram (-) bacteria. In addition, polar and non polar extracts of *Caiophora rahmeri* were active against *E. coli*.

Genus *Senecio* represented by *Senecio nutans*, *Senecio adenophyllus* and *Senecio trifurcifolius* showed a wide spectrum of antimicrobial activity, for both Gram (+) and Gram (-) bacteria. When comparing the extracts obtained from these species, *S. nutans* and *S. adenophyllus* had the highest antibacterial activity.

The antimicrobial activity of *S. nutans* can be attributed to both the resinous exudates and the extracts and especially to the essential oil of this species.

The *Senecio nutans* was the only plant species which showed activity against the yeast *Saccharomyces cerevisiae* with a Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of 180 µg/mL.

The non polar extracts such as the resinous exudates and essential oils of *Parastrephia lucida* showed antibacterial activity, the resinous exudate being more active, and which

also showed a wide spectrum effect against both Gram (+) and Gram (-) bacteria. MICs for the resinous exudates against *M. flavus*, *B. subtilis*, *E. coli* and *K. pneumoniae* were 160, 70, 100, 170 µg/mL respectively, and for the essential oil 160, 160, 160 µg/mL respectively.

The resinous exudates and essential oil of *Myrica pavonis* showed antimicrobial activity, with a wide spectrum of activity for against both the Gram (+) *B. subtilis* and Gram (-) *E. coli*. MICs were 170 and 90 µg/mL for *B. subtilis* and *E. coli* respectively.

Referring to the activity antioxidant it is possible to be concluded that of the plants that were studied only the *S. trifurcifolius* presented/displayed capacity antioxidant having an inhibiting effect 15.7%, determined by the xanthin method oxidasa (XO).

In the seven plants studied, the highest antimicrobial activity was observed in the essential oils. This is in agreement with their popular use. This thesis contributes to the scientific knowledge of these pre-andean species from the chemical and pharmacological point of view.

## CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

El Altiplano es una gran planicie entre dos cordones de montañas que comprenden el Norte de Chile, el centro y sur del Perú, la parte occidental de Bolivia y el Noroeste de Argentina (Charrier, 1997). Administrativamente, está compartido por las regiones I de Tarapacá y II Antofagasta. Se caracteriza por su altura, unos 4000 metros sobre el nivel del mar (Aceituno, 1997), por cuencas sedimentarias formadas en altura, en su mayoría superiores a los 3500 m.s.n.m., debido al tectonismo<sup>1</sup> y la actividad volcánica existente en estas latitudes. Este particular ambiente alberga fauna y flora únicas.

En esta zona las precipitaciones son de carácter convectivo con una alta variabilidad espacial (origen tropical), concentrándose en los meses de Enero y Febrero durante el verano del hemisferio sur, lo que se conoce como “invierno boliviano”. Debido a la altura las temperaturas son bajas en la noche, varios grados bajo cero y en el día no sobrepasan más de 18° o 20°.

Las condiciones extremas sólo permiten que subsista una vegetación especializada, con pocos requerimientos hídricos y capaces de soportar amplias oscilaciones térmicas. Por la morfología de la zona (cuencas endorreicas en una zona de bastante aridez) se han formado numerosas lagunas y salares (Valero-Garcés *et al.*, 1999).

La flora y la fauna representan los componentes vivos o *bióticos* de la naturaleza, los cuales, unidos a los componentes no vivos o *abióticos*, como el suelo, el agua, el aire, etc., conforman el medio natural.

<sup>1</sup>Tectonismo es la construcción interna de la Corteza Terrestre a través del acomodamiento de las capas que la integran

Las condiciones *abióticas* en las cuales se desarrollan las comunidades vegetales son rigurosas; existe una baja concentración de oxígeno y dióxido de carbono en el aire, la humedad relativa es baja y existe alta radiación solar. Además, los suelos se encuentran pobremente desarrollados y presentan una escasa disponibilidad de nutrientes (Marquet *et al.* 1998). La geomorfología del lugar está caracterizada por la dominancia de laderas rocosas de alta pendiente. Existen muy pocos terrenos planos (Muñoz & Bonacic, 2006).

Las suaves laderas y planicies de esta zona están cubiertas de pastizales (formados por pastos duros llamados coirones o paja brava, el nombre científico es *Stipa* sp, por sus afiladas puntas) y matorrales (formados por arbustos de baja altura unos 50 cm. llamados "tolas" de marcado olor, nombre científico *Parastrephia* sp), las zonas inundadas están cubiertas por plantas duras y pastos, formando lo que se denominan bofedales (sistemas adaptados a estas condiciones, conocidas como vegetación de estepa o esteparia, que minimizan la transpiración debido a la reducida superficie de sus hojas, algunas de ellas han evolucionado transformándose en espinas (CONAF)

En el altiplano chileno se distinguen comunidades de especies de vegetales dominantes como:

- a. El **Tolar andino**, una comunidad constituida por arbustos bajos de un metro de altura aproximadamente, acompañada de plantas herbáceas de entre 20 y 30 cm. Las especies de arbustos dominantes son las tolas y entre las numerosas especies herbáceas destaca la chachacoma. También se encuentran diversos tipos de cactáceas que al florecer acentúan la belleza del paisaje altiplánico.

- b. El **Pajonal andino**, formado por gramíneas perennes, de 60 a 80 cm. y con crecimiento en champas aisladas, entre las que crecen hierbas más pequeñas. Las especies más frecuentes de gramíneas son la paja brava, usada en construcción de techos, y el iru.
- c. Los **Bofedales**, sectores permanentemente húmedos donde se desarrollan conjuntos de vegetación muy densos, cuyos restos compuestos dan origen a un suelo orgánico profundo y turboso. Entre las especies más características destacan el paco, la sora y el colipaco. El bofedal más notable es el de Parinacota, cuya alta productividad permite la existencia de una fauna abundante.
- d. Otra comunidad vegetal típica de este entorno, y que ha debido ser protegida por estar en peligro de extinción, es la formada por la llareta (cuyo nombre científico es *Azorella compacta*), especie utilizada como combustible por su alto contenido resinoso.

En este ecosistema la vida se determina y limita no a la aridez sino a la altura por lo que la flora y la fauna más fuerte y especializada pueden sobrevivir a una altura por sobre los 3500 metros. Existe gran diversidad biológicas cuyas representantes están protegidas en parques y monumentos como el Parque Nacional de Lauca, Isluga y Salar de Suire en Chile (CORFO, 1982; CONAF, 2003).

Debido a la extensa flora existente en la zona pre-andina y altiplánica es que seleccionamos siete especies de plantas las cuales serán estudiadas para la presente memoria de título, evaluando para las diferentes especies en estudio las potenciales

actividades antimicrobianas y antifúngica *in vitro* tanto para los diferentes extractos seriados, globales y aceites esenciales y la actividad antioxidante frente a xantina oxidasa.

Este trabajo constituye una contribución al estudio de nuestra flora autóctona para darle un respaldo científico del uso folclórico de las plantas que habitan en Chile.

## CAPÍTULO II

### HIPÓTESIS

Los extractos e infusos de las plantas *Caiophora sepiaria*, *Caiophora rhamei*, *Senecio nutans*, *Senecio adenopyllus*, *Senecio trifurcifolius*, *Parastrephia lucida* y *Myrica pavonis* tienen efectos antimicrobiano y antioxidante, efectos que se deben a la presencia de metabolitos secundarios farmacológicamente activos.

Esta hipótesis se basa en:

- Las propiedades como antimicrobiana dadas a estas especies por la medicina popular.
- La extrema rigurosidad en que estas especies habitan, hacen pensar en la presencia de metabolitos protectores con función antioxidante.

## CAPÍTULO III

### OBJETIVOS

#### 3.1 Descripción de los Objetivos

Según la hipótesis planteada se detallan a continuación los siguientes objetivos para esta memoria:

##### 3.1.1 Objetivo General

- Dar un respaldo científico a las propiedades que la medicina folclórica atribuye a las diferentes especies en estudio.
- Contribuir al conocimiento científico de las especies que crecen en el altiplano de Chile (I región), desde un punto de vista fitoquímico y farmacológico.

##### 3.1.2 Objetivos específicos:

- Obtener los diferentes extractos, infusos y aceite esencial de las distintas plantas a estudiar, para su análisis fitoquímico y evaluación farmacológica.
- Realizar un *screening* fitoquímico de los diferentes extractos, infuso y del aceite esencial de las diferentes plantas en estudio.
- Determinar la actividad antimicrobiana de los diferentes extractos, infuso y aceite esencial por medio del bioensayo de bioautografía.
- Realizar la evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos y aceite esencial por medio de la siembra en superficie de agar.
- Determinación de la concentración mínima inhibitoria de los extractos y/o aceites esenciales.
- Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos globales frente a la enzima xantina oxidasa (XO).

## CAPÍTULO IV

### ANTECEDENTES GENERALES

#### 4.1 *Caiophora*

*Caiophora* es un género con 95 especies de plantas de flores perteneciente a la familia Loasaceae, está ampliamente distribuido en los Andes, desde Argentina-Chile en el Sur, hasta el centro de Ecuador en el Norte, la característica común de este género son: hierbas perennes en forma de cojines, o hierbas rosuladas acaules, e hierbas trepadoras.

##### 4.1.1 *Caiophora sepiaria* (G.Don) J.F. Macbr

###### 4.1.1.1 Clasificación Taxonómica

**FAMILIA** : Loasaceae

**NOMBRE CIENTÍFICO** : *Caiophora sepiaria* (G.Don) J.F. Macbr.

**SINÓNIMO** : *Caiophora cirsiifolia* C.Presl, *Blumenbachia sepiaria* Ruiz & Pav. ex G.Don, *Caiophora contorta* auct. non. (Deser.) C.Presl, *Caiophora preslii* Urb. & Gilg *Loasa sepiaria* Ruiz & Pav (Ackermann y Weigend, 2007).

**NOMBRE VULGAR** : Ortiga colorada, puca-shinua, puca hitana, unluy shinua, llungo-llundo, ortiga macho (Linares & Benavides, 1995; Rodríguez y Weigend, 2006).

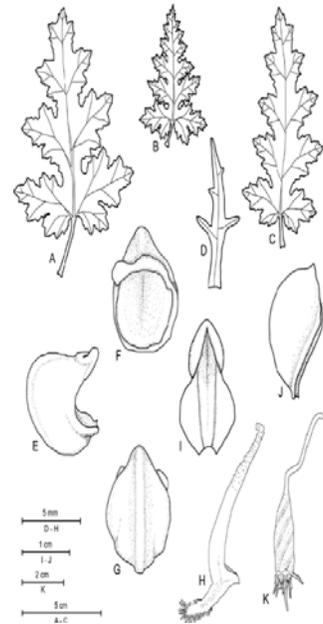


#### 4.1.1.2 Distribución Geográfica

La especie es parte de un complejo de varios taxones estrechamente aliado sobre todo en la vertiente occidental de los Andes que va desde el norte de Perú (Depto. Cajamarca) hasta Norte de Chile (Región I). Las colecciones de *Caiophora* de la parte meridional suelen tener flores más pequeñas y más profundamente disectadas que los del centro del Perú, pero estas diferencias desaparecen en gran medida en el cultivo, lo que indica que reflejan simplemente las condiciones generalmente más secas para las plantas que crecen en el sur de Perú y Chile. *Caiophora cirsiifolia* oscila entre elevaciones de 2400 a 3700 m.s.n.m. (Ackermann y Weigend, 2007). Habita en laderas de cerros, matorrales secos, bordes de caminos y paredes de piedra, protegida por otros arbustos (Weberbauer, 1945)

#### 4.1.1.3 Descripción Botánica

**Hierba** perenne, postrada o creciendo a modo de enredadera, tallo de hasta 60 cm; raíz típica. **Hojas** pinnatipartidas, pecioladas, margen lacerado y filamentosos, superficie ampollosa, cubierta de pelos rígidos urticantes. **Flores** axilares, hermafroditas, de color anaranjado fuerte; cáliz gamosépalo, pentadentado; corola con 5 pétalos libres, cóncavos, nectarios de color blanco, petaloides. Androceo con estambres largos y numerosos, anteras ditésicas y basifijas; gineceo con ovario ínfero, pentacarpelar, unilocular y multiovular, de estilo apical y estigma simple. **Fruto**, una cápsula con dehiscencia longitudinal. Florece en cualquier época del año (Linares & Benavides, 1995; Teillier, 1999).



#### 4.1.1.4 Usos en medicina popular

Se aplica localmente por frotación o flagelación para aliviar los dolores de las articulaciones; al simple contacto produce irritaciones cutáneas (Linares & Benavides, 1995), para los bronquios, calmar los nervios, como anticonceptivo, para fiebre, diarreas, tos convulsiva, pulmones, purgante, dolores menstruales, cólicos (Castro *et al.*, 1982).

#### 4.1.1.5 Otros Usos

No se ha encontrado referencia acerca de otros usos.

#### 4.1.1.6 Estudios Previos

De la *Caiphora sepiaria* se obtuvo un iridoide: monómero secoiridoide (Müller *et al.*, 1999).

### 4.1.2 *Caiphora rhameri* Phil

#### 4.1.2.1 Clasificación Taxonómica

**FAMILIA** : Loasaceae  
**NOMBRE CIENTÍFICO** : *Caiphora rhameri* Phil  
**NOMBRE VULGAR** : Atapilla, ortiga hembra, orko-atapilla (Castro *et al.*, 1982)



#### 4.1.2.2 Distribución Geográfica

Se distribuye en Chile en la región I (Teillier, 1999) y en el Perú desde Puno a Tacna (Macbride, 1941; Schatz, 1996). La distribución altitudinal oscila entre 4100 - 4400 m.s.n.m. Se encuentra en las bases de las rocas y la hierba, protegida del viento y del cambio de temperaturas.

#### 4.1.2.3 Descripción Botánica

**Hierba** perenne. Tallos urticantes. **Hojas** con pelos urticantes, pecioladas, más o menos elípticas, de 10 x 2,5 - 3,5 cm, pinnatipartidas, segmentos aserrados a pinnatífidos. **Flores** solitarias, rojo-anaranjadas. Poco común, de preferencia en roqueríos. Endémica de Chile (Teillier, 1999).

#### 4.1.2.4 Usos en medicina popular

La especie tiene múltiples usos: para los bronquios, calmar los nervios, como anticonceptivo, para fiebre, diarreas, tos convulsiva, pulmones, purgante, dolores menstruales, cólicos (Castro *et al.*, 1982).

#### 4.1.1.5 Otros Usos

No se ha encontrado referencia acerca de otros usos.

#### 4.1.2.6 Estudios Previos

No sean realizados estudios.

### 4.2 *Senecio*

Género con numerosas especies distribuidas por todo el mundo. En Venezuela el género *Senecio* esta bien representado y la mayoría de sus especies se encuentran distribuidas en las partes elevadas de los Andes y Cordillera de la Costa. Las montañas de la región guayanesa son muy pobres en *Senecio*. En Chile existen 222 especies.

Chachacoma o chachakuma es un nombre genérico para esta especie con fuerte olor, del género *Senecio*, siendo la especie típica de referencia en el territorio andino chileno el *Senecio nutans*.

### 4.2.1 *Senecio nutans* Sch. Bip

#### 4.2.1.1 Clasificación Taxonómica

**FAMILIA** : Asteraceae (Compositae)

**NOMBRE CIENTÍFICO** : *Senecio nutans* Sch. Bip.,  
Bonplandia 4(4):51. 1856.

**SINÓNIMO** : *Senecio graveolens* webb.

**NOMBRE VULGAR** : Chachacoma, chachakuma,  
chachacoma de burro, chachakuma  
blanca, chachakoma de gente  
(Villagrán y Castro, 2004).



#### 4.2.1.2 Distribución geográfica

Territorio alto andino, que comprende desde 3500 - 4600 m.s.n.m., se encuentra al sur del Perú y norte de Chile (Cabrera, 1978, Linares & Benavides, 1995).

#### 4.2.1.3 Descripción Botánica

**Arbusto** aromático, perennifolio de 60 x 50 cm, Ramas densamente hojosas. **Hojas** alternas, pequeñas, algo alargadas, de 2 - 5 mm x 1 - 2 mm, sésiles, comprimidas sobre el tallo, de borde lobulado a manera de 5 dedos carnosos e involutos. **Capítulos** axilares, de 10 x 5 mm, cortamente pedunculados, con dos bracteolas alternas. Calículo formado por 9 brácteas dispuestas en dos verticilos: el externo con 4 y el interior con 5. Involucro formado por 7 - 9 brácteas lanceoladas de 6,5 mm. **Flores** amarillas o amarillo-rojizas, tubulosas, pentadentadas, hermafroditas, actinomorfas, con cáliz plumoso, de color blanco; estambres con anteras unidas; ovario ínfero y estilo dividido en dos ramas. **Fruto**, un aquenio glabro.

Florece en cualquier época del año, preferentemente en invierno y primavera. Crece en suelos arenosos y arcillosos de laderas de cerros, bordes de la carretera, junto a las especies que forman tolares y pajonales (Linares & Benavides, 1995).

#### **4.2.1.4 Usos en medicina popular**

Medicinal, en infusión se la utiliza para dolores estomacales, mal de altura (soroche o puna), pero refieren que un exceso de esta planta puede causar la ceguera.

Para el dolor de estómago, puna (mal de altura), se toma como mate (hojas y ramas) para la fiebre, tos y resfriado fuerte, el humo respirado en sahumero cura el romadizo y otros males. Sirve para preparar pomadas para los dolores y en algunos casos la molienda de sus hojas se mezcla con otras pomadas (mentholatum, pomada alcanforada). Remedio para problemas urinarios (Villagrán y Castro, 2004).

#### **4.2.1.5 Otros usos**

Se considera como forraje para ganado equino (Vargas, 1988).

#### **4.2.1.6 Estudios Previos**

Estudios realizados sobre la composición del aceite esencial e identificación de estos (De Feo *et al.*, 2003), actividad microbiana del aceite esencial del *Senecio graveolens* (Pérez *et al.*, 1999; Pérez *et al.*, 2002) y se aisló el compuesto p-hidroxiacetofenona (Loyola *et al.*, 1985).

## 4.2.2 *Senecio adenophyllus* Meyen et Walp

### 4.2.2.1 Clasificación Taxonómica

**FAMILIA** : Asteraceae (Compositae).

**NOMBRE CIENTÍFICO** : *Senecio adenophyllus* Meyen et Walp.

**NOMBRE VULGAR** : Tola hedionda, chachacoma del burro, tola del burro (Castro *et al.*, 1982).

### 4.2.2.2 Distribución Geográfica

Altas montañas del sur del Perú, norte de Chile, Bolivia y noroeste de Argentina. Es frecuente en las montañas de la Puna, por encima de los 4000 m.s.n.m. tiene un fuerte olor a resina. Florece en verano (Cabrera, 1978).

### 4.2.2.3 Descripción Botánica

**Arbustito** de 15 - 40 cm de altura, muy ramificado, con ramas viejas amarillentas, cubiertas por los restos de las hojas secas y ramas nuevas redondeadas, costadas, densamente glanduloso-pubescentes, hojosas hasta el ápice. Entrenudos de 2 - 5 cm de largo. **Hojas** alternas, algo carnosas, de contorno oblongo u oblanceolado-espátulado, agudas o subobtusas y mucronuladas en el ápice, algo atenuadas en la parte inferior, más o menos profundamente dentadas o lobadas en el margen, con lóbulos lanceolados o triangulares, muy agudos, enteros (rarísimamente con un diente), en número de 2 - 4 a cada lado, algo revolutos en los bordes, densamente glanduloso-pubescentes en ambas caras, de 10 - 20 mm de longitud por 3 - 8 mm de anchura máxima.

**Capítulos** discoideos, agrupados en número de 2 - 4 en los extremos de las ramas, con pedúnculos cortos, bracteolados, glanduloso-pubescentes. Involucro anchamente acampanado, caliculado, de 7 - 8 mm de altura por cerca de 10 mm de diámetro;

bracteolas del cálculo, lineal-lanceoladas, con una mancha oscura en el ápice, casi tan largas como el involucro; filarias 10 - 14, oblongo-lineales, atenuadas y semiobtusas en el ápice donde llevan generalmente una mancha oscura, glanduloso-pubescentes en el dorso, con frecuencia de dos o tres soldadas entre sí, hasta el ápice. **Flores** amarillas, numerosas, isomorfas, hermafroditas, con corola tubulosa de 7 - 8,5 mm, pentadentada en el ápice: dientes obtusos, gruesos, de 0,7 mm de largo. **Aquenos** cilindros, corta y densamente pubescentes (a veces pubescencia inconspicua), de 2,5 mm de largo. Pappus copioso, blanco, de 7 - 9 mm (Cabrera, 1978).

#### **4.2.2.4 Usos en Medicina Popular**

La mezcla de la planta machacada (menos la raíz) con orina se utiliza para entablillar miembros quebrados (Castro *et al.*, 1982).

#### **4.2.2.5 Otros Usos**

Las hojas machacadas y hervidas lo usaban los antiguos para teñir ropa de amarillo (Castro *et al.*, 1982).

#### **4.2.2.6 Estudios Previos**

Los estudios que se han realizado de esta planta han sido taxonómicos, siendo el investigador del género *Senecio*, Angel Cabrera, quien realizó dicha investigación. (Cabrera, 1949).

### 4.2.3 *Senecio trifurcifolius* Hieron

#### 4.2.3.1 Clasificación Taxonómica

**FAMILIA** : Asteraceae (Compositae)  
**NOMBRE CIENTÍFICO** : *Senecio trifurcifolius* Hieron  
**NOMBRE VULGAR** : Chachacoma

#### 4.2.3.2 Distribución Geográfica

Especie endémica de la puna del extremo sur del Perú y norte de Chile donde crece entre los 4200 y 5100 m.s.n.m. probablemente vegeta también en la parte occidental del departamento de Oruro en Bolivia (Cabrera, 1978).

#### 4.2.3.3 Descripción Botánica

**Sufrutice** pigmeo, rizomatoso, con ramas aéreas ascendentes o erectas formando matitas hemisféricas de 5 - 8 cm de altura, glabras, resinosas, hojosas hasta el ápice. **Hojas** densas (entrenudos de 1 - 3 mm de longitud), carnosas, cuneiformes-lineales, trifurcadas, con lóbulos acuminados, los laterales patentes, de 10 - 12 mm de longitud total por 1 mm de lat. **Capítulos** discordes, solitarios en los ápices de las ramitas, cortamente pedunculados. Involucro acampanado, caliculado, de 8 - 9 mm de altura por 6 mm de diámetro. Bracteolas del cálculo pocas, lineales, con una larga bolsa oleífera longitudinal, alcanzando la mitad del involucro. Filarias alrededor de 8, lineal-lanceoladas, atenuadas en el ápice, glabras y con una o dos bolsas oleíferas longitudinales en el dorso. **Flores** 10 - 12, isomorfas, hermafroditas, con corola tubulosa. **Aquenios** corta y densamente papilosos. Pappus blanco (Cabrera, 1978).

#### **4.2.3.4 Usos en Medicina Popular**

No se ha encontrado referencia acerca de su uso medicinal.

#### **4.2.3.5 Otros Usos**

No se ha encontrado referencia acerca de otros usos.

#### **4.2.3.6 Estudios Previos**

Los estudios que se han realizado de esta planta han sido taxonómicos, siendo el investigador del género *Senecio*, Angel Cabrera, quien realizó dicha investigación (Cabrera, 1949).

### **4.3 *Parastrephia***

*Parastrephia*, género botánico de plantas con flores, de la familia de las Asteraceae. Está presente en Perú, Bolivia, Chile y Argentina. La t'ola o tola, nombre vulgar que se le da a este género (en la clasificación nativa en Bolivia, incluye diversas especies de los géneros *Baccharis* y *Parastrephia*), es una especie arbustiva y con limitados estudios de investigación sobre su manejo.

### 4.3.1 *Parastrephia lucida* (Meyen) Cabrera

#### 4.3.1.1 Clasificación Taxonómica

**FAMILIA** : Asteraceae (Compositae)

**NOMBRE CIENTÍFICO** : *Parastrephia lucida*  
(Meyen) Cabrera.

**NOMBRE VULGAR** : Tola del río, unu tola,  
mayu tola, ch'illku, tola  
amarilla, unut'ola, tola del  
agua, tola, tolatola.



Los nombres *unut'ola* y *tola* del agua aluden a su hábitat cerca del agua (Castro *et al.*, 1982).

#### 4.3.1.2 Distribución Geográfica

Esta planta habita en la Estepa Alto-Andina Altiplánica que se extiende entre los 4000 y los 5000 m.s.n.m. tanto la altitud como el clima determinan la existencia de una vegetación conformada por matorrales bajos (CEA).

#### 4.3.1.3 Descripción Botánica

**Arbusto** resinoso, de hasta 150 cm. **Hojas** glabras, resinosas, escamosas, imbricadas en la base, pero divergentes hacia los extremos. **Capítulos** solitarios en el extremo de las ramas, cortamente pedunculados; **flores** amarillo-anaranjadas, las marginales femeninas con corola filiforme, las del disco, tubulosas. Abundante en todas las quebradas y en el margen de los salares (Teillier, 1999).

#### 4.3.1.4 Usos en Medicina Popular

Vesícula, fiebre e hinchazón (se muele). Medicinal, en forma de baños. También es bebida en infusión, con limón y azúcar quemada. *Unut'ola* es amarga y se toma también para el pulmón y dolor de muelas, con tres dientes de ajo (Villagrán y Castro, 2004; Villagrán *et al.*, 2003).

Sirve para preparar un emplasto contra las quebraduras, luxaciones y machucones, consistente en los cogollos de esta planta: molido y batido con orina de un adulto, hasta formar una pasta que se usa para envolver el miembro afectado, lo que resulta, al endurecerse, es un verdadero “yeso vegetal”. Browman (1983), señala que Tola, como una clasificación nativa en Bolivia, incluye diversas especies de los géneros *Baccharis* y *Parastrephia*, cuya resina se usa para componer extremidades quebradas y para varios traumas. Bittmann (1988, citando a Cobo 1956) informa que las hojas de la tola (sin nombre científico) “tienen la virtud de soldar los huesos quebrados”. Según Lucca y Zalles (1992), en Bolivia, el polvo, de las hojas y cogollos de *Parastrephia quadrangularis* y de *P. lucida*, mezclado con sal y clara de huevos junta los huesos quebrados (Araya *et al.*, 2003). Como parche, cataplasma o emplasto, mezclada con yareta (*Azorella compacta*), kupala (mineral mezclado con resina vegetal), incienso y orines (Villagrán *et al.*, 2003).

#### 4.3.1.5 Otros Usos

Se utiliza como combustible (leña), uso veterinario (como acaricida), forraje (alimento para alpacas y llamas), tintura (tiñe verde y el color es resistente) (Romo *et al.*, 1999).

#### 4.3.1.6 Estudios Previos

Los estudios que se han realizado son en su uso como forraje en alpacas y llamas (Castellano *et al.*, 2004).

#### 4.4 *Myrica*

El género *Myrica* formado por arbolillos y arbustos aromáticos, de distribución subcosmopolita es el mayor representante de la familia Myricaceae que comprende 3 géneros y unas 35 especies de distribución cosmopolita.

##### 4.4.1 *Myrica pavonis* C. DC

###### 4.4.1.1 Clasificación Taxonómica

**FAMILIA** : Myricaceae Asteraceae (Compositae)

**NOMBRE CIENTÍFICO** : *Myrica pavonis* C. DC., Prodrumus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis 16(2): 151. 1869. Actualmente se considera como *Morella pavonis* (C.DC.) Parra-O., 2002.

**SINÓNIMO** : *Myrica pavonis* C.DC *var.glandulosa* A Chev. (Rodríguez *et al.*, 1983). *Morella pavonis* (C. DC.) C. Parra-O., 2002. Nueva combinación en que se transfiere *Myrica pavonis* C.DC al género *Morella Lour* (Muñoz y Serra, 2006).

**NOMBRE VULGAR** : Carza, pacama, guacán, guayacán o guacano, huacantilsu (Muñoz y Serra, 2006).

#### 4.4.1.2 Distribución Geográfica

Especie andina que es propia de Ecuador, Perú y el norte de Chile (Rodríguez y Quezada, 2003). Parra (2002) en un reciente estudio taxonómico, precisa su ausencia de Ecuador (citada en Rodríguez & Quezada, 2003).

Su distribución geográfica, se extiende en forma discontinua entre el norte de Chile hasta el centro de Perú (Rodríguez et al. 1983; Rodríguez & Quezada, 2003).

En Chile crece en la I región en las provincias de Arica e Iquique ( $18^{\circ} 50' - 20^{\circ} 06' S$ ) entre los 1000 y 2650 m.s.n.m. (Rodríguez et al., 1983, Rodríguez & Quezada, 2003; Luebert, 2004).

Es una especie cuyo eje de distribución se encuentra en regiones tropicales andinas desde Perú hasta el extremo norte de Chile en la I Región. La quebrada de Imagua constituye un nuevo límite sur para la especie (Luebert & Kritzner, Herbario EIF N °s 1978-1979), cuya distribución se extendería incluso hasta más al sur, en la quebrada de Guatacondo ( $20^{\circ}56' S$ , Luis Faúndez, com. pers.).

Luebert (2004) caracteriza el bosque de *Myrica pavonis* de la Quebrada de Imagua ( $20^{\circ}06'S$ ,  $69^{\circ}15'O$ ) en las cercanías de Mamiña, Región de Tarapacá (I), Chile (Luebert, 2004).

Se estima una extensión de la presencia de aproximadamente por 150 km de largo, pero con una distribución restringida localmente donde forma bosquetes puros, en ambientes azonales ocupando los sitios húmedos en fondos de quebradas (Muñoz y Serra, 2006).

Único representante nativo de un género cosmopolita con alrededor de 50 especies, especialmente de regiones templadas o subtropicales (Rodríguez & Quezada, 2003).

Según Parra (2002) *Morella pavonis* es conocida solamente para el centro y sur del Perú y el norte de Chile. Biogeográficamente parece estar estrechamente relacionado con los bosques riparios de *Alnus acuminata* y *Myrica pubescens* de los Yungas de Perú y

Bolivia. Es la especie de *Myrica* de distribución más austral (Serra *et al.*, 1986; Muñoz y Serra, 2006).

#### 4.4.1.3 Descripción Botánica

**Árbol** dioico con hojas persistentes, de copa globosa, que alcanza 12 m de alto, tronco sinuoso, color café grisáceo, de hasta 80 cm de diámetro, ramas ascendentes o péndulas, ramas de color café rojizo, corteza rugosa con fisuras transversales y protuberancias suberosas, **hojas** alternas, simples, semi-coriáceas, aromáticas, linear-lanceoladas o en algunos individuos espatuladas, de margen entero o aserrado, base atenuada, ápice agudo u obtuso, **flores** apétalas, anemófilas, las masculinas reunidas en amentos formadas por 5 a 7 bracteadas y 11 a 13 estambres; las femeninas, más pequeñas y similares, el ovario tiene un estilo corto y bífido, el estigma es rojo, alargado y curvo. Florece en primavera. El **fruto** una drupa globosa rojiza cubierta de papilas cerosas y verrucosas, madura en verano (Riederman *et al.*, 2006; Muñoz y Serra, 2006).

#### 4.4.1.4 Usos en Medicina Popular

No se ha encontrado referencia acerca de su uso medicinal.

#### 4.4.1.5 Otros Usos

Maderero.

#### 4.4.1.6 Estudios Previos

No se han realizado estudios.

## CAPÍTULO V

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 5.1 Estudio Químico

##### 5.1.1 Recolección

PLANTAS	FAMILIA	UBICACIÓN	RECOLECTADA POR
<i>Caiophora sepiaria</i> (Ruiz & Pav. ex G. Don) 22296	LOASACEAE	Precordillera 2400 – 3700 m	Prof. Eliana Belmonte Univ. de Tarapacá
<i>Caiophora rhameri</i> Phil 22295	LOASACEAE	Altiplano bofedal de Parinacota	Prof. Eliana Belmonte Univ. de Tarapacá
<i>Senecio nutans</i> Sch. & Bip. 20043	ASTERACEAE (Compositae)	Pajonal de <i>Festuca chrysophylla</i> 4100 – 4600 m	Prof. Eliana Belmonte Univ. de Tarapacá
<i>Senecio adenophyllus</i> Meyen et Walp 20049	ASTERACEAE (Compositae)	4000 m	Prof. Eliana Belmonte Univ. de Tarapacá
<i>Parastrephia lucida</i> (Meyen) Cabr 20047	COMPOSITAE	Solar de Coposa	Prof. Eliana Belmonte Univ. de Tarapacá
<i>Myrica pavones</i> C. DC.	MYRICACEAE	Valle Lluta Km 38 ½, Guancano 500/07	Prof. Eliana Belmonte Univ. de Tarapacá
<i>Senecio trifurcifolius</i> Hieron	ASTERACEAE (Compositae)	4500 m	Prof. Eliana Belmonte Univ. de Tarapacá

Las muestras de las plantas se conservan en el herbario de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile.

## 5.1.2 Obtención de extractos, infusos y aceites esenciales

### 5.1.2.1 Obtención de los Extractos

El exudado resinoso de cada planta fue extraído sumergiendo el material vegetal fresco en diclorometano hasta su total extracción, obteniéndose el extracto del exudado resinoso (ERES). Posteriormente el material vegetal agotado (de cada planta), fue secado a la sombra a temperatura ambiente y molido.

La planta seca y molida se sometió a extracciones sucesivas con disolventes de polaridad creciente: hexano, diclorometano y metanol, obteniéndose los extractos correspondientes, el hexánico (EHEX), el diclorometánico (EDCM), acetato de etilo (EACET) y el metanólico (EMET) (ver Figura 5.1).

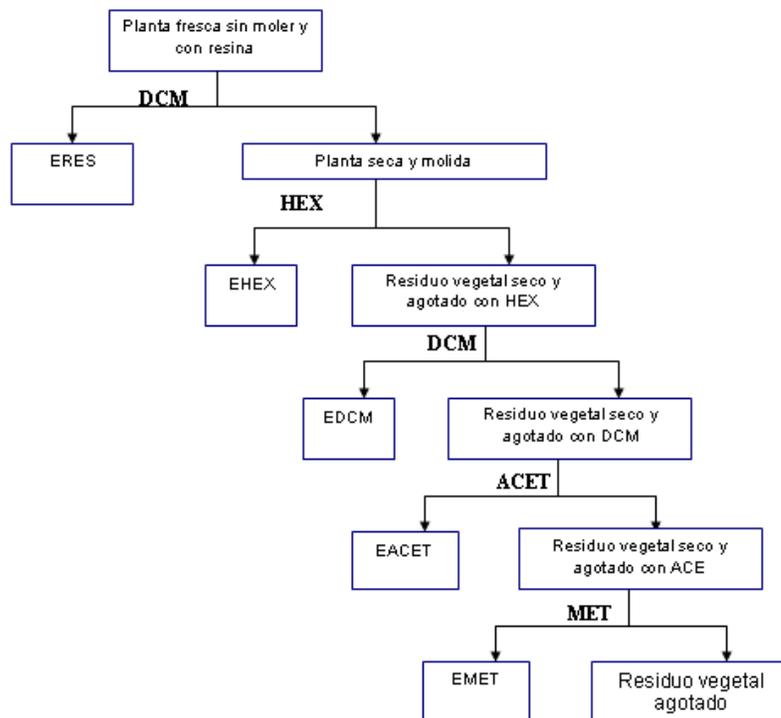


Figura 5.1: Esquema de Extracción

Cada extracción se realizó hasta total agotamiento, dejando entre cada una, secar el material vegetal a temperatura ambiente, antes de adicionar el nuevo disolvente.

Todos los extractos fueron llevados a sequedad, hasta total eliminación del disolvente, para ser sometidos a prueba microbiológica.

#### **5.1.2.2 Obtención del infuso**

Para obtener el **infuso** (INF) al 10%, la parte aérea de la planta seca fue pesada y molida, luego se agregó agua hirviendo y después de 30 minutos de maceración, se procedió a filtrar para obtener el infuso (INF), el cual fue utilizado para el *screening* fitoquímico.

#### **5.1.2.3 Obtención del aceite esencial**

El **aceite esencial** (AESC) se obtuvo por el método de arrastre con vapor de agua en un equipo Clevenger según protocolo estandarizado del laboratorio.

#### **5.1.3 Estudio cromatográfico**

Se realizó un *screening* de los extractos y del infuso de las diferentes plantas mediante cromatografía en capa fina (c.c.f.), para investigar la presencia de metabolitos secundarios, empleándose como fase estacionaria cromatoláminas de gel de sílice G tipo 60 con indicador de fluorescencia (Merck), las fases móviles utilizadas fueron las mezclas de disolventes, con el cual se logró la mejor separación lo que permitió visualizar los diferentes grupos químicos de los constituyentes del extracto o infuso, las cromatografías fueron reveladas con diferentes reactivos y además fueron analizadas a la luz UV a longitudes de onda de 254 y 366 nm.

En la Tabla 5.1 se señalan las fases móviles utilizadas y en la Tabla 5.2 los reactivos reveladores y los patrones:

**Tabla 5.1: Fases Móviles Utilizadas en las c.c.f.**

Fase móvil	Grupos químicos analizados
DCM: AcEt (9:1)	Alcaloides Triterpenos-Esteroles Terpenos Antraquinonas
DCM: AcEt (7:3)	Flavonoides Cumarinas

**Tabla 5.2: Reactivos Reveladores y Patrones Utilizados en las c.c.f.**

Metabolitos secundarios	Sustancia patrón	Reactivo revelador
Alcaloides	-----	Dragendorff
Triterpenos -Esteroles	$\beta$ -sitosterol, lupeol, $\beta$ -amirina, ácido oleanólico, ácido ursólico	Lieb.-Bürchard y p-anisaldehído
Antraquinonas	-----	Börntrager
Flavonoides	Quercetina-canferol	Luz UV, NP/PEG, $AlCl_3$ y $NH_3$
Terpenos	-----	p-anisaldehído
Cumarinas	Escopoletina	Luz UV: $AlCl_3$ y NP/PEG

Los reactivos reveladores utilizados fueron los siguientes:

- **Reactivo de Dragendorff:** reactivo constituido por yoduro doble de bismuto y potasio que reacciona con compuestos que contengan pares de electrones no compartidos como el nitrógeno, como es el caso de los alcaloides, formando sales dobles que se visualizan por la aparición de una coloración anaranjada (Merck, 1972).

- **Reactivo de Liebermann-Bürchard:** mezcla en partes iguales de anhídrido acético y ácido sulfúrico que sirve para revelar la presencia de compuestos orgánicos como triterpenos, que producen una coloración violeta y esteroides que dan coloraciones que varían del rosa al verde y finalmente pardas (Merck, 1972).
- **Reactivo de p-anisaldehído sulfúrico:** este reactivo preparado con p-anisaldehído, ácido acético glacial, metanol y ácido sulfúrico concentrado, permite detectar la presencia de terpenos, aceites esenciales y saponinas triterpénicas, por medio de la aparición de coloraciones que varían del azul al violeta (Wagner and Bladt, 1996).
- **Reacción de Börntrager:** reactivo que detecta grupos antraquinónicos y puede practicarse sobre las placas cromatográficas o directamente sobre una porción del vegetal molido y seco. Consiste en agregar una solución alcalina de KOH al 5 ó 10% y la aparición de una coloración roja indica la presencia de estos grupos (Merck, 1972).
- **Vapores de NH<sub>3</sub>:** al exponer a los flavonoides a vapores de NH<sub>3</sub> se produce una coloración amarilla al espectro visible y se intensifica su fluorescencia al espectro UV.
- **Reactivo de AlCl<sub>3</sub> al 2% en metanol:** permite la identificación de flavonoides y cumarinas, los que se caracterizan por presentar fluorescencia al espectro de luz UV, a longitudes de onda de 254 y 366 nm (Mabry *et al.*, 1970). Al revelar las cromatografías a la luz UV los flavonoides se intensifican o cambian de coloración y las cumarinas dan color celeste.

- **Reactivo NP/PEG:** este reactivo constituido por difenil-boriloxietilamina más polietilenglicol-4000, permite la detección de flavonoides. Se produce una intensificación de su fluorescencia a la luz UV a una longitud de onda de 366 nm (Wagner and Blatt, 1996).

- **Reactivo de FeCl<sub>3</sub>:** se utiliza para identificar compuestos que posean en su estructura una función fenólica, como los taninos. Según la naturaleza química del tanino se observarán coloraciones que varían desde el azul-negro (pirogálicos) hasta verde (catéquicos). Compuestos como los flavonoides pueden generar coloraciones verdes (Merck, 1972).

La identificación de taninos se realizó con el EMET y el INF disueltos en agua destilada agregando una o dos gotas de FeCl<sub>3</sub>.

- **Índice de espuma:** este ensayo permite detectar la presencia de saponinas (sustancias con propiedades tensoactivas) a través de la formación de espuma persistente (durante 15 min), usando un 1 g de droga o de extracto vegetal seco, en un volumen apropiado de agua destilada (Gautier, 1954; Tyler *et al.*, 1979).

La búsqueda de saponinas se realizó en los EMET e INF disueltos en agua destilada, al agitar por 5 min y dejando reposar por 15 min, observando la formación de espuma persistente y homogénea.

## 5.2 Estudios In Vitro

Los estudios *in vitro* fueron realizados en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, en el laboratorio de Microbiología donde se realizó la evaluación de actividad antimicrobiana y en el laboratorio de Productos Naturales, en el ensayo de xantina oxidasa.

### 5.2.1 Ensayo frente Xantina Oxidasa

Para realizar este ensayo se prepararon las siguientes soluciones:

- **Solución sustrato Xantina 0,15 mM**: Se pesaron 11,4 mg sustrato Xantina (Sigma) y se diluyeron en 500 ml de agua bidestilada con agitación constante durante 2 a 3 horas (sonicación) a 60°C.
- **Solución tampón fosfato 0,07 M pH 7,5**: Para preparar este tampón se pesaron 1,6452 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 3,289 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  cada una diluída en 500 ml de agua bidestilada, teniendo una concentración de 0,07 M.  
La solución de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  se titula con la solución  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  hasta que la mezcla alcanzó un pH de 7,5 a 25°C.
- **Solución stock de enzima Xantina Oxidasa**: La actividad de la enzima a utilizar fue determinada a distinta actividad de la enzima versus la Absorbancia (A). La enzima Xantina oxidasa fue utilizada con una actividad de 0,024 U/mL en buffer de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,07 M a un pH de 7,5.

El rango de la absorbancia requerida para realizar el ensayo fue entre 0,300-0,400.

- **Extracto solubilizado**: Se pesaron 3,5 mg de extracto global de cada planta, se adicionó 3 a 4 gotas de Dimetilsulfóxido (DMSO) para mejorar la disolución luego se adicionó 10 ml de agua bidestilada, se sonifica hasta total disolución. El extracto se solubilizó a 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Theoduloz et al., 1991).

El extracto solubilizado debe estar dentro del rango de absorbancia, si esta por sobre el rango se debe diluir en caso contrario debe concentrarse la solución.

- **HCl 1 N:** Se prepara con 40,9 mL de ácido concentrado en 500 mL de agua bidestilada.

Una vez preparados las soluciones se realiza el ensayo (ver tabla 5.3). Los experimentos se realizaron en duplicado.

**Tabla 5.3: Protocolo en orden de adición del Ensayo Xantina/Xantina Oxidasa**

TUBOS	A	B	<u>C</u>	<u>D</u>
1. Extracto solubilizado	-	-	1 mL	1 mL
2. Agua bidestilada	1mL	1mL	-	-
3. Buffer pH 7,5	2,9mL	3mL	2,9mL	3mL
4. Xantina Oxidasa 0,024 U/ml	0,1mL	-	0,1mL	-
<b>Pre.incubar a 25 por 15 min</b>				
5. Xantina 0,15mM	2mL	2mL	2mL	2mL
<b>Incubar a 25° C por 30 min</b>				
6. HCl 1N	1mL	1mL	1mL	1mL
Medición A ácido úrico a 290 nm	<b>Ác. Úrico total</b>	Blanco de A	<b>Ác. Úrico remanente</b>	Blanco de C
VOLUMEN TOTAL	7 mL	<b>7 mL</b>	<b>7 mL</b>	<b>7 mL</b>

Una vez agregados 1, 2, 3 y 4 se preincubaron las mezclas a 25°C por 15 min. A continuación se adicionó a todos los tubos Xantina y se incubó a 25°C por 30 min (para que la Xantina esté a la temperatura de las muestras se colocó en el baño junto con éstas). Para finalizar, la reacción fue detenida con HCl 1 N y se procedió a leer la absorbancia (A) del ácido úrico a 290 nm en un espectrofotómetro UNICAM (Noro et al., 1983).

El porcentaje de inhibición (%I) se calcula según la siguiente fórmula:

$$\%I = [(AA - AB) - (AC - AD) / (AA - AB)] * 100$$

**Ec. 5.1: Poceraje de inhibición de la XO**

A : absorbancia

AA : absorbancia del tubo A

AA-AB : absorbancia del ácido úrico total (debe tener una A entre 0,300 - 0,400)

AC- AD : absorbancia del ácido úrico remanente

La significancia de los resultados se calculó con el método no paramétrico de Wilcoxon para datos independientes (Hollander y Wolfe, 1973), considerándose significativos si su **p** era  $\leq$  a 0,05.

### **5.2.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos por siembra en superficie de agar**

Para realizar la evaluación antibacteriana y antifúngica de los extractos, fue necesario preparar dos alícuotas de 20 mL c/u de agar fundido de TSA (Tryptic soy agar), con una concentración final de extracto de 100 y 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Para esto se preparó una solución madre de extracto de 100 mg por mL de dimetil sulfóxido (DMSO) y se incorporó a cada porción de 20 mL de agar fundido, 0,02 y 0,04 mL de dicha solución. Se homogenizó cada fracción y se dejó solidificar en cápsula de Petri. Una vez fría se procedió a sembrar los microorganismos en forma lineal con un asa de micrón estéril y en superficie (Erazo *et al.*, 1997) cada uno de los microorganismos de prueba, indicados en farmacopea (USP XXII) para la valoración de antibióticos, obtenidos de *American Type Culture Collections* se encuentran descritos en la Tabla 5.4.

Los microorganismos en las placas fueron incubados por 24 horas a 37°C para bacterias y 48 horas a 28°C para hongos, al cabo del cual se visualiza si hubo o no crecimiento de microorganismo.

Se utilizaron para este ensayo extractos globales de cada planta ha estudiar.

Los controles estaban constituidos por placas que contenían el agar fundido sobre el cual se aplicaron las distintas cepas en estudio.

**Tabla 5.4: Microorganismos Utilizados para Todas las Pruebas Microbiológicas**

<b>Bacterias Gram Negativas</b>	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC14207
<i>Salmonella aviatum</i>	ATCC 12228
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Muestra clínica
<b>Bacterias Gram Positivas</b>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538P
<i>Micrococcus flavus</i>	ATCC 10290
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 14884
<b>Hongos</b>	
<i>Candida albicans</i>	Muestra aislada clínico desde laboratorio de microbiología de la Fac. Cs. Qcas. y Farmacéuticas, U. de Chile
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Muestra aislada del ambiente desde laboratorio de microbiología de la Fac. Cs. Qcas. y Farmacéuticas, U. de Chile

### 5.2.3 Evaluación de la Actividad Antimicrobiana por el Bioensayo Bioautografía

Para la realización de este bioensayo se hicieron cromatogramas de gel de sílice 60 (Merck) de 5 cm de ancho por 7 cm de alto y se sembraron los extractos obtenidos de la planta. Se determinó la fase móvil más apropiada para cada muestra a ensayar (ver Tabla 5.5).

**Tabla 5.5: Fases Móviles de Cromatogramas de Bioautografías**

<b>Fracción</b>	<b>Fase Móvil</b>
ERES	DCM : AcEt (9:1)
EHEX	DCM : AcEt (9:1)
EDCM	DCM : AcEt (9:1)
EACET	AcEt : Met (8:2) AcEt : Met (9:1) AcEt (100 %)
EMET	AcEt : Met (8:2) AcEt (100 %) AcEt : Met (9:1) AcEt (100 %) Met (100 %)
AESC	DCM : Hex (8:2)

Se prepararon cultivos de los microorganismos a ensayar en un medio de cultivo líquido (TSB para las bacterias y PDB para hongos y levaduras) con 24 horas y 48 horas de anticipación respectivamente. Se tomó una alícuota de 1 mL del microorganismo la que

se resuspendió en 9 mL de medio de cultivo líquido, y se colocó un agitador orbital a 37°C por 2 horas, con el fin de obtener un cultivo en fase logarítmica de crecimiento.

El cromatograma se expuso a la radiación UV ( $\lambda$  254 nm) durante 30 minutos con el fin de ser esterilizados para luego ser utilizados. En un tubo estéril se adicionó la suspensión del microorganismo al medio de cultivo sólido (TSA para las bacterias y PDA para hongos) fundido. La suspensión se homogeneizó mecánicamente mediante un agitador y se agregó sobre el cromatograma, quedando cubiertos completamente con la película de agar inoculado con cada bacteria u hongo. Finalmente los cromatogramas fueron puestos cada uno en placas de Petri estériles con tapa en un ambiente húmedo con agua destilada esterilizada y se incubaron durante 24 horas en una estufa termorregulada a 37°C para bacterias y por 48 horas a 28°C para hongos. Las bioautografías se revelaron con una sal de tetrazolium, 3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il) 2,5-bromuro difeniltetrazolium (MTT), y se incubaron por 1 hora más. Al ser agregado el reactivo revelador se tornaron a un color violeta intenso, exceptuando la zona donde se produjo la inhibición del crecimiento bacteriano por parte de los metabolitos activos presentes (Rahalison *et al.*, 1991; Hamburger and Hostettman *et al.*, 1991; Erazo *et al.*, 1997).

#### **5.2.4 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos y aceites esenciales**

Este bioensayo da cuenta de la mínima concentración de la sustancia aislada a la que se presenta inhibición del crecimiento bacteriano “*in vitro*”.

Se preparó un cultivo para el microorganismo a ensayar en medio TSB por 24 horas a 37°C. Después de incubar los microorganismos bajo estas condiciones se tomó 1 mL del microorganismo y se inoculó sobre 9 mL de TSB, se agitó por 1 hora con el fin de obtener un cultivo en fase logarítmica de crecimiento. Posteriormente se les midió la transmitancia en un SPECTRONIC 20D, que debía resultar igual a 50% a una longitud de

onda de 580 nm. Una vez obtenida esta transmitancia de los cultivos de microorganismos se procedió a preparar un set de tubos (12 tubos por cada cepa) que contenían medio de cultivo líquido TSB en cantidad suficiente para completar un volumen final de 2 mL, cantidades crecientes del extracto de la planta (desde 150 hasta 250  $\mu\text{g/mL}$  para los extractos y 50 a 150 para aceites esenciales. Estos tubos se prepararon en duplicado y se inocularon con 125  $\mu\text{L}$  del cultivo bacteriano. Los controles utilizados son: control de desarrollo bacteriano (medio de cultivo bacteriano), control del efecto inhibitorio del solvente (medio de cultivo, cultivo bacteriano más DMSO) y control de estabilidad del medio de cultivo (medio de cultivo solo). Los tubos se incubaron por 24 horas a 37°C. La CMI corresponde a la menor concentración del extracto que produce inhibición del desarrollo microbiano.

Todo este procedimiento fue realizado bajo campana de flujo laminar. Los resultados obtenidos se compararon con fármacos de referencias (Ampicilina y Cloramfenicol para bacterias).

## CAPÍTULO VI

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 6.1 *Screening* de Identificación por ccf de extractos, infusos y aceite esencial

En el *screening* fitoquímico se usaron patrones de comparación tanto para los extractos **apolares** como **polares**.

Para los extractos **apolares** se usaron los siguientes patrones:

Esteroles:	$\beta$ -sitosterol
Triterpenos:	Lupeol
	Acido oleanólico
	Acido ursólico
	$\beta$ -amirina

Para los extractos **polares** se empleó:

Flavonoides:	Canferol
	Quercetina
Cumarina:	Escopoletina

Para determinar la presencia o ausencia de los metabolitos se designará, en cada una de las especies en estudio, de la siguiente manera:

+++:	Mayor presencia de metabolitos
++:	Menor presencia de metabolitos
+:	Presencia mínima de metabolitos
- :	Ausencia de metabolitos

A continuación se mostrará el *screening* fitoquímico para cada una de las especies en estudio

**1) *Caiphora sepiaria* (G.Don) J.F. Macbr**

Metabolito secundario	Revelador	EXTRACTO						
		ERES	EHEX	EDCM	EACET	EMET	INF	AESC
Alcaloides	Dragendorff	-	-	-	-	-	-	-
Terpenos, esteroides y/o triterpenos	Liebermann Buchard p-anisaldehído	+++	++	++	-	-	-	+++
Antraquinonas	Böntrager	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	+	+	+	-
Cumarinas	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	+++	-	+	-
Taninos	FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas	Espuma	-	-	-	-	-	-	-

❖ **Estudio comparativo de los esteroides y/o triterpenos encontrados en los extractos con los patrones:  $\beta$ -sitosterol y lupeol.**

PATRON	REVELADOR	ERES	EHEX	EDCM
$\beta$ -sitosterol	p-anisaldehído	+++	-	++
Lupeol	p-anisaldehído	-	-	++

2) *Caiophora rhameri* Phil

Metabolito secundario	Revelador	EXTRACTO						
		ERES	EHEX	EDCM	EACET	EMET	INF	AESC
Alcaloides	Dragendorff	-	-	-	-	-	-	-
Terpenos, esteroides y/o triterpenos	Liebermann Buchard p-anisaldehído	+	+	+	-	-	-	+
Antraquinonas	Böntrager	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	+	+	+	-
Cumarinas	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	++	++	+	-
Taninos	FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas	Espuma	-	-	-	-	-	-	-

❖ **Estudio comparativo de los esteroides y/o triterpenos encontrados en los extractos con los patrones:  $\beta$ -sitosterol y lupeol.**

PATRON	REVELADOR	ERES	EHEX	EDCM
$\beta$ -sitosterol	p-anisaldehído	+	+	+
Lupeol	p-anisaldehído	+	+	+

**Resultados y discusión**

*C. sepiaria*, presenta en extractos **apolares**, terpenos en aceite esencial y esteroides y/o triterpenos identificándose  $\beta$ -sitosterol en ERES y EDCM; y lupeol en EDCM.

En los extractos **polares** e infusión se encuentran flavonoides y cumarinas.

*C. rhameri* presenta terpenos en aceite esencial y esteroides y/o triterpenos en extractos **apolares**, algunos compuestos fueron identificados por medio de patrones mediante el uso de cromatografía en capa fina:  $\beta$ -sitosterol y lupeol.

Tanto los flavonoides como las cumarinas se presentan en los extractos **polares e infusión**.

De las dos especies en estudio no existen estudios fitoquímicos, solamente hay un *screening* quimiotaxonómico de iridoides de la familia *Loasaceae* donde fue incluida *C. sepiaria* (Müller *et al.*, 1999).

### 3) *Senecio nutans* Sch. Bip

Metabolito secundario	Revelador	EXTRACTO						
		ERES	EHEX	EDCM	EACET	EMET	INF	AESC
Alcaloides	Dragendorff	-	-	-	-	-	-	-
Terpenos, esteroides y/o triterpenos	Liebermann Buchard p-anisaldehído	+	+	+	-	-	-	+++
Antraquinonas	Böntrager	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	-	+	+	-
Cumarinas	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	-	++	+	-
Taninos	FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas	Espuma	-	-	-	-	-	-	-

- ❖ **Estudio comparativo de los esteroides y/o triterpenos encontrados en los extractos con los patrones:  $\beta$ -sitosterol, lupeol y  $\beta$ -amirina.**

PATRON	REVELADOR	ERES	EHEX	EDCM
$\beta$ -sitosterol	p-anisaldehído	+	+	+
Lupeol	p-anisaldehído	+	+	+
$\beta$ -amirina	p-anisaldehído	-	-	+

- ❖ **Estudio comparativo de cumarinas encontradas en los extractos con el patrón: escopoletina.**

PATRON	REVELADOR	EMET
Escopoletina	$AlCl_3$	+

### Resultados y discusión

*S. nutans* presenta terpenos en aceite esencial y esteroides y/o triterpenos en los extractos **apolares**, de los cuales se identificaron  $\beta$ -amirina solo en EDCM; y  $\beta$ -sitosterol y lupeol en los extractos ERES, EHEX y EDCM.

En extractos **polares** flavonoides y cumarinas se visualizaron en EMET, se identificó escopoletina entre las cumarinas presentes.

En un estudio del aceite esencial de *S. nutans* se encontró como compuestos mayoritarios: sabineno y  $\alpha$ -terpineno (De Feo *et al.*, 2003) y además se ha aislado derivados de p-hidroxiacetofenona (Loyola *et al.*, 1985).

4) *Senecio adenophyllus* Meyen et Walp

Metabolito secundario	Revelador	EXTRACTO					
		ERES	EHEX	EDCM	EMET	INF	AESC
Alcaloides	Dragendorff	-	-	-	-	-	-
Terpenos, esteroides y/o triterpenos	Liebermann Buchard p-anisaldehído	++	++	++	-	-	++
Antraquinonas	Böntrager	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	+	+	-
Cumarinas	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	-	+	-
Taninos	FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-
Saponinas	Espuma	-	-	-	-	-	-

**Resultados y discusión**

*S. adenophyllus* presenta terpenos en el aceite esencial y esteroides y/o triterpenos en extractos **apolares**.

En extractos **polares** los flavonoides están presentes en EMET e infuso; las cumarinas son solamente observadas en el infuso.

De *S. adenophyllus* no existen estudios fitoquímicos previos.

5) *Senecio trifurcifolius* Hieron

Metabolito secundario	Revelador	EXTRACTO						
		ERES	EHEX	EDCM	EACET	EMET	INF	AESC
Alcaloides	Dragendorff	-	-	-	-	-	-	-
Terpenos, esteroides y/o triterpenos	Liebermann Buchard p-anisaldehído	+++	+++	+++	-	-	-	+++
Antraquinonas	Böntrager	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	++	++	+	-
Cumarinas	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-
Taninos	FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-	-
Saponinas	Espuma	-	-	-	-	-	-	-

❖ **Estudio comparativo de los esteroides y/o triterpenos encontrados en los extractos con los patrones:  $\beta$ -sitosterol, lupeol, ácido ursólico y ácido oleanólico.**

PATRON	REVELADOR	EHEX	EDCM
$\beta$ -sitosterol	p-anisaldehído	+++	+++
Lupeol	p-anisaldehído	+	+
Acido ursólico	p-anisaldehído	-	++
Acido oleanólico	p-anisaldehído	-	++

### Resultados y discusión

En el *S. trifurcifolius* la presencia de terpenos en el aceite esencial y esteroides y/o triterpenos en extractos **apolares**, pudiéndose identificar  $\beta$ -sitosterol y lupeol, además del ácido ursólico y ácido oleanólico en EDCM.

En los extractos **polares** se encontraron flavonoides.

No existen estudios fitoquímico previos de esta especie.

### 6) *Parastrephia lucida* (Meyen) Cabrera

Metabolito secundario	Revelador	EXTRACTO					
		ERES	EHEX	EDCM	EMET	INF	AESC
Alcaloides	Dragendorff	-	-	-	-	-	-
Terpenos Esteroides y/o triterpenos	Liebermann Buchard p-anisaldehído	+	++	++	-	-	+++
Antraquinonas	Böntrager	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	+	-	-
Cumarinas	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	+++	+	-
Taninos	FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	+(negro)	+(negro)	-
Saponinas	Espuma	-	-	-	-	-	-

- ❖ **Estudio comparativo de los esteroides y/o triterpenos encontrados en los extractos con los patrones: lupeol y  $\beta$ -amirina.**

PATRON	REVELADOR	EHEX	EDCM	EACET
Lupeol	p-anisaldehído	+++	+++	++
$\beta$ -amirina	p-anisaldehído	+	+	++

- ❖ **Estudio comparativo de cumarinas encontradas en los extractos con el patrón: escopoletina.**

PATRON	REVELADOR	EMET
Escopoletina	$\text{AlCl}_3$	+

### Resultados y discusión

*P. lucida* presenta en los extractos **apolares** presenta esteroides y/o triterpenos entre ellos lupeol y  $\beta$ -amirina.

En los extractos **polares** se encuentran cumarinas entre ellas la escopoletina, también se visualizan taninos pirogálicos (constituidos por tres grupos fenólicos adyacentes).

De esta especie en estudio se han aislado escopoletina, p-cumaroiloxitremetona y un derivado de flavanona (Loyola *et al.*, 1995), confirmándose por medio del estudio fitoquímico la presencia de cumarina y flavonoides.

7) *Myrica pavonis* C. DC

Metabolito secundario	Revelador	EXTRACTO					
		EHEX	EDCM	EEACT	EMET	INF	AESC
Alcaloides	Dragendorff	-	-	-	-	-	-
Terpenos, Esteroles y/o triterpenos	Liebermann Buchard p-anisaldehído	++	+++	-	-	-	+++
Antraquinonas	Böntrager	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	++	++	++	-
Cumarinas	Luz UV NP/PEG AlCl <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-
Taninos	FeCl <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-
Saponinas	Espuma	-	-	-	-	-	-

- ❖ **Estudio comparativo de los esteroles y/o triterpenos encontrados en los extractos con los patrones:  $\beta$ -sitosterol, lupeol,  $\beta$ -amirina, ácido ursólico y ácido oleanólico.**

PATRON	REVELADOR	EHEX	EDCM	EACET
$\beta$ -sitosterol	p-anisaldehído	-	+++	-
Lupeol	p-anisaldehído	++	+++	-
$\beta$ -amirina	p-anisaldehído	-	+++	-
Acido ursólico	p-anisaldehído	-	+++	-
Acido oleanólico	p-anisaldehído	-	+++	-

- ❖ **Estudio comparativo de flavonoides encontrados en los extractos con el patrón: quercetina.**

PATRON	REVELADOR	EMET
Quercetina	AlCl <sub>3</sub>	+

### Resultados y discusión

*M. pavonis* presenta en los extractos **apolares** y en el aceite esencial terpenos, esteroles y/o triterpenos entre ellos  $\beta$ -sitosterol y los triterpenos: lupeol,  $\beta$ -amirina, ácido ursólico y oleanólico.

En los extractos **polares** presenta flavonoides visualizándose por cromatografía de capa fina el flavonoide quercetina.

No hay estudios fitoquímicos anteriores de *M. pavonis*.

### 6.2 Ensayo frente a Xantina Oxidasa

El fármaco de referencia utilizado fue el alopurinol, para determinar su concentración inhibitoria cincuenta (IC<sub>50</sub>) se ensayaron diferentes concentraciones de este fármaco (ver tabla 6.1).

**Tabla 6.1: Cuadro resumen fármaco de referencia Alopurinol**

Concentración µg/mL	% Inhibición	P
3	93,7	0,0017
0,75	93,7	0,0017
0,30	90,0	0,0017
0,15	89,6	0,0016
0,075	85,8	0,0018
0,045	61,0	0,0018
0,030	42,7	0,0017
0,022	40,6	0,0017
0,015	28,6	0,0017
0,0113	35,2	0,0017

Del gráfico %I vs concentración se obtuvo el IC<sub>50</sub> que resultó ser 0,035 µg/mL (IC<sub>50</sub> alopurinol = 0,035 µg/mL = 0,267 µM).

La evaluación realizada en este ensayo se determinó con los extractos globales de las plantas en estudio.

**Tabla 6.2: Evaluación de la Actividad frente a Xantina Oxidasa de los Extractos Globales**

Extracto Global	Concentración µg/mL	% Inhibición	P
<i>Caiphora sepiaria</i>	**	**	**
<i>Caiophora rhameri</i>	**	**	**
<i>Senecio nutans</i>	50	0	0,019
<i>Senecio adenophyllus</i>	50	0	0,019
<i>Senecio trifurcifolius</i>	50	15,7	0,019
<i>Parastrephia lucida</i>	50	0	0,019
<i>Myrica pavonis</i>	50	0	0,019

\* Resultado significativo con un  $p \leq 0,05$ .

\*\* Nota: no se realizó ensayos con el extracto global de *Caiphora sepiaria* y *Caiophora rhameri* porque no se disponía de suficiente muestra.

Sólo el *Senecio trifurcifolius* presentó actividad frente a la enzima Xantina oxidasa, siendo bajo su efecto inhibitorio.

### **6.3 Evaluación de la actividad antimicrobiana por el bioensayo bioautografía, por siembra en superficie de agar y concentración mínima inhibitoria (CMI)**

- Se realizó el bioensayo bioautografía a los extractos y aceites esenciales de las especies en estudio.
- Los extractos globales se sometieron a ensayos por siembra en superficie de agar.
- Debido a que los aceites esenciales mostraron mayor actividad antimicrobiana se determinó la CMI en ellos.
- En vista que el ERES de *P. lucida* presentó una buena actividad antimicrobiana, se realizó la CMI para dicho extracto, y también para el extracto EDCM de *M. pavonis*.
- Para determinar la presencia o ausencia de actividad se designará, en cada una de las especies en estudio, de la siguiente manera:
  - +++ : Mayor presencia de actividad
  - ++ : Menor presencia de actividad
  - + : Presencia mínima de actividad
  - : Ausencia de actividad

1) *Caiphora sepiaria* (G.Don) J.F. Macbr

Microorganismo	BIOAUTOGRAFIA					
	ERES	EHEX	EDCM	EACET	EMET	Aceite esencial
<i>S. aureus</i>	-	-	-	+	+	+
<i>M. flavus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	+	++	++	-	-	++
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-	-

Microorganismo	SUPERFICIE DE AGAR (Ext. global)		
	Control	100	200
<i>S. aureus</i>	-	-	-
<i>M. flavus</i>	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-
<i>S. aviatum</i>	-	-	-

\*Nota: no se realizó ensayos con el aceite esencial de *Caiphora sepiaria* por no disponer de suficiente muestra.

**Resultados y discusión**

Al evaluar la actividad antimicrobiana por bioensayo bioautografía, *C. sepiaria* presenta actividad contra bacterias Gram (+): *S. aureus*, *B. subtilis* en los extractos **polares** y **apolares** respectivamente y contra una bacteria Gram (-): *E. coli*, en el aceite esencial.

En la evaluación de la actividad antimicrobiana por siembra en superficie de agar con concentraciones definidas, no se observa actividad antimicrobiana.

No hay estudios de aceites esenciales del género *Caiphora*, solamente se han encontrado actividad antimicrobiana en aceite esencial de *C. coronata*, siendo el responsable de esta actividad un nuevo iridoide (Khera *et al.*, 2003).

## 2) *Caiphora rhameri* Phil

Microorganismo	BIOAUTOGRAFIA					
	ERES	EHEX	EDCM	EACET	EMET	Aceite esencial
<i>S. aureus</i>	-	-	-	++	+	+++
<i>M. flavus</i>	-	-	-	-	-	+
<i>B. subtilis</i>	++	++	++	-	-	+++
<i>E. coli</i>	+	-	-	+	-	+++
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-	-

## Resultados y discusión

Los extractos **polares** y aceite esencial de *C. rhameri* presentó actividad para *S. aureus*, y los extractos **apolares** y aceite esencial para *B. subtilis*. El aceite presentó además actividad contra *E. coli*.

Microorganismo	SUPERFICIE DE AGAR (Ext. global)			CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	Control	100	200	Aceite Esencial	Ampicilina	Cloranfenicol
<i>S. aureus</i>	-	-	-	> 200	5	-
<i>M. flavus</i>	-	-	-	-	20	-
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	> 200	10	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	> 200	-	< 5
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	< 12
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	6
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-	-

### Resultados y discusión

Del ensayo de siembra en superficie de agar para *C. rahmeri* no se observó actividad antimicrobiana, sin embargo el aceite esencial presenta actividad para *S. aureus*, *B. subtilis* y *E. coli* con una CMI de más de 200  $\mu\text{g/ml}$  para cada una de las bacterias.

No hay estudios previos del aceite esencial de esta especie.

### 3) *Senecio nutans* Sch. Bip

Microorganismo	BIOAUTOGRAFIA				
	ERES	EHEX	EDCM	EMET	Aceite esencial
<i>S. aureus</i>	++	+	+++	+++	+
<i>M. flavus</i>	+	-	-	-	+++
<i>B. subtilis</i>	+++	+++	+++	+++	+++
<i>E. coli</i>	+++	+++	+++	+++	++
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+++	+
<i>S. aviatum</i>	+	-	-	-	-

### Resultados y discusión

Todos los extractos (**apolares y polares**) y el aceite esencial de *Senecio nutans* presentan actividad antimicrobiana de amplio espectro, tanto con microorganismos Gram (+) como Gram (-).

Microorganismo	SUPERFICIE DE AGAR (Ext. global)			CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	Control	100	200	Aceite esencial	Ampicilina	Cloranfenicol
<i>S. aureus</i>	-	-	-	240	5	-
<i>M. flavus</i>	-	-	-	120	20	-
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	180	10	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	200	-	< 5
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	< 12
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	6
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-	-

### Resultados y discusión

A concentraciones de 100 y 200  $\mu\text{g/ml}$  de *S. nutans* (ensayo de siembra en superficie de agar) no se observa actividad antimicrobiana.

La actividad antimicrobiana del aceite esencial presenta una **CMI** frente a Gram (+): *S. aureus*, *M. flavus*, *B. subtilis*, de 240, 120 y 180  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente y para Gram (-) *E. coli* de 200  $\mu\text{g/ml}$ .

De *S. nutans*, se estudio la composición del aceite esencial de una especie recolectada en Arequipa, Perú (De Feo *et al.*, 2003). A futuro se quiere comparar la composición química de ambos aceites esenciales con la especie recolectada en Pajonal de *Festuca chrysophylla* a 4000 m.s.n.m. que crece en el Altiplano Chileno.

#### 4) *Senecio adenophyllus* Meyen et Walp

Microorganismo	BIOAUTOGRAFIA				
	ERES	EHEX	EDCM	EMET	Aceite esencial
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	++
<i>M. flavus</i>	+	-	+	++	+++
<i>B. subtilis</i>	+	+	++	++	+++
<i>E. coli</i>	+	+++	+++	+	++
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	+++	+++	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-

#### Resultados y discusión

Todos los extractos tanto **apolares**, aceite esencial como **polares** presentan actividad antimicrobiana.

*Senecio adenophyllus* presenta actividad antimicrobiana de amplio espectro contra bacterias Gram (+) y Gram (-) a excepción de las bacterias *K. pneumoniae* y *S. aviatum*.

Microorganismo	SUPERFICIE DE AGAR (Ext. global)			CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	Control	100	200	Aceite esencial	Ampicilina	Cloranfenicol
<i>S. aureus</i>	-	-	-	140	5	-
<i>M. flavus</i>	-	-	-	120	20	-
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	130	10	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	130	-	< 5
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	< 12
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	6
<i>S. aviatum</i>	-	-	+	-	-	-

### Resultados y discusión

A concentraciones definidas de 100 y 200  $\mu\text{g/ml}$  *S. adenophyllus* no presenta actividad contra bacterias Gram (+) y Gram (-), pudiéndose sólo observar actividad contra *S. aviatum*.

El aceite esencial presenta una **CMI** frente a bacterias Gram (+): *S. aureus*, *M. flavus* y *B. subtilis* de 140, 120 y 130  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente y para Gram (-) con *E. coli* una **CMI** de 130  $\mu\text{g/ml}$ .

No existen estudios previos del aceite esencial de esta especie.

### 5) *Senecio trifurcifolius* Hieron

Microorganismo	BIOAUTOGRAFIA					
	ERES	EHEX	EDCM	EACET	EMET	Aceite esencial
<i>S. aureus</i>	+++	+++	+++	+	+	+
<i>M. flavus</i>	-	-	-	-	-	+++
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	-	++
<i>E. coli</i>	++	+++	+++	+++	++	+++
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	+	++	-	-	-	+
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-	-

### Resultados y discusión

Todos los extractos **apolares** y aceite esencial de *S. trifurcifolius* presentan actividad antimicrobiana, en tanto que los extractos **polares** presentan una actividad significativa contra *E. coli*.

*Senecio trifurcifolius* presenta una actividad de amplio espectro, tanto con microorganismos Gram (+) como Gram (-).

Microorganismo	SUPERFICIE DE AGAR (Ext. global)			CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	Control	100	200	Aceite esencial	Ampicilina	Cloranfenicol
<i>S. aureus</i>	-	-	-	160	5	-
<i>M. flavus</i>	-	-	-	120	20	-
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	150	10	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	130	-	< 5
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	< 12
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	6
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-	-

### Resultados y discusión

El *Senecio trifurcifolius* a concentraciones definidas de 100 y 200  $\mu\text{g/ml}$  no presenta actividad contra bacterias Gram (+) y Gram (-); sólo se observa que el aceite esencial posee actividad antimicrobiana, teniendo una **CMI** de 160, 120 y 150  $\mu\text{g/ml}$  contra bacterias Gram (+): *S. aureus*, *M. flavus*, *B. subtilis* respectivamente; y para Gram (-): *E. coli* con una **CMI** de 130  $\mu\text{g/ml}$ .

En cuanto a los aceites esenciales de los tres *Senecio* en estudio todos fueron activos con los microorganismos Gram (+): *S. aureus*, *M. flavus*, *B. subtilis* y contra el microorganismo Gram (-): *E. coli*; siendo el aceite menos activo el obtenido de *Senecio nutans*. Los otros dos aceites presentan una actividad semejante (*Senecio adenophyllus* y *Senecio trifurcifolius*)

No existen estudios previos acerca de esta especie (*S. trifurcifolius*).

6) *Parastrephia lucida* (Meyen) Cabrera

Microorganismo	BIOAUTOGRAFIA				
	ERES	EHEX	EDCM	EMET	Aceite esencial
<i>S. aureus</i>	++	+	+	-	-
<i>M. flavus</i>	+++	+	+	-	+
<i>B. subtilis</i>	+++	+	++	+	+
<i>E. coli</i>	+++	-	+	+++	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	+++	++	+	-	-
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-

**Discusión**

Todos los extractos apolares presentaron actividad antimicrobiana, en cambio el EMET presentó actividad especialmente con *E. coli*.

*Parastrephia lucida* presenta una actividad de amplio espectro, tanto con microorganismos Gram (+) como Gram (-).

Microorganismo	SUPERFICIE DE AGAR										
	Control	Ext. global		ERES		EHEX		EDCM		EMET	
		100	200	100	200	100	200	100	200	100	200
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. flavus</i>	-	+++	+++	-	++	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	-	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	+++	+++	++	++	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

### Resultados y discusión

De los resultados obtenidos en el ensayo de superficie de agar de *Parastrephia lucida* sólo el ERES (exudado resinoso) presenta actividad en ambas concentraciones. A 100 µg/ml: *B. subtilis* y *E. coli*; y a 200 µg/ml: *M. flavus*, *B. subtilis*, *E. coli* y *K. pneumoniae*; el resto de los extractos a pesar de que se observó actividad en el ensayo de bioautografía, no se observa actividad a concentraciones de 100 y de 200 µg/ml, seguramente porque se encuentra a una concentración superior.

Microorganismo	CMI (µg/ml)			
	ERES	Aceite esencial	Ampicilina	Cloranfenicol
<i>S. aureus</i>	-	-	5	-
<i>M. flavus</i>	160	160	20	-
<i>B. subtilis</i>	70	160	10	-
<i>E. coli</i>	100	160	-	< 5
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	< 12
<i>K. pneumoniae</i>	170	> 200	-	6
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-

### Resultados y discusión

El ERES (exudado resinoso) de *Parastrephia lucida* presenta mejor actividad antimicrobiana teniendo una CMI frente a *M. flavus*, *B. subtilis*, *E. coli* y *K. pneumoniae* de 160, 70, 100 y 170 µg/ml respectivamente en comparación con el aceite esencial que presenta CMI de 160 µg/ml para *M. flavus*, *B. subtilis* y *E. coli*; y para *K. pneumoniae* una CMI > 200 µg/ml.

Del aceite esencial de esta especie no existen estudios previos.

7) *Myrica pavonis*

Microorganismo	BIOAUTOGRAFIA				
	HEX	EDCM	EACET	EMET	Aceite esencial
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	+
<i>M. flavus</i>	-	-	-	-	+
<i>B. subtilis</i>	-	+	+	+	+
<i>E. coli</i>	-	++	+	-	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	+	+	-	-	+
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-

**Resultados y discusión**

*Myrica pavonis* presenta una leve actividad de amplio espectro, tanto con microorganismos Gram (+) como Gram (-).

Microorganismo	SUPERFICIE DE AGAR										
	Control	Ext. global		EHEX		EDCM		EETOAC		EMET	
		100	200	100	200	100	200	100	200	100	200
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. flavus</i>	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	-	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	+++	-	-	+	+++	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Microorganismo	CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	EDCM	Aceite esencial	PATRONES	
			Ampicilina	Cloranfenicol
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
<i>M. flavus</i>	-	-	20	-
<i>B. subtilis</i>	170	170	10	-
<i>E. coli</i>	90	160	-	< 5
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	< 12
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	6
<i>S. aviatum</i>	-	-	-	-

### Resultados y discusión

Solamente los extractos DCM, global y aceite esencial de *Myrica pavonis* presentan actividad antimicrobiana.

Los extractos más activos son el EDCM y el extracto global.

El extracto DCM presenta mayor actividad que el aceite esencial presentando una **CMI** frente a *B. subtilis* y *E. coli* de 170 y 90  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente.

No existen estudios de esta especie pero si de *Myrica gale* L. donde se han estudiado la composición de los frutos con componentes mayoritarios, entre ellos, 1,8-cineol y germacreno (Popovici *et al.*, 2008) en tanto que en dos extractos estudiados mostraron una composición diferente donde los componentes principales eran: mirceno, limoneno,  $\alpha$ -felandreno y  $\beta$ -cariofileno (Sylvestre *et al.*, 2005).

#### 6.4 Evaluación de la actividad antifúngica por el bioensayo bioautografía, por siembra en superficie de agar y concentración mínima inhibitoria (CMI) de aceites esenciales

Microorganismo	BIOAUTOGRAFIA						
	<i>Caiophora</i>		<i>Senecio</i>			<i>Parastrephia</i>	<i>Myrica</i>
	<i>sepiaria</i>	<i>rhameri</i>	<i>nutans</i>	<i>adenophyllum</i>	<i>trifurcifolius</i>	<i>lucida</i>	<i>pavonis</i>
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	++	-	-	-	-

##### *Senecio nutans*

Microorganismo	CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )
	Aceite esencial
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	180

#### Resultados y discusión

Solamente el aceite esencial de *Senecio nutans* presenta actividad con *Saccharomyces cerevisiae* (levadura) a una concentración de 180  $\mu\text{g/ml}$ . El resto de los aceites esenciales no presentaron actividad antifúngica.

No se han realizado estudios de actividad antifúngica de esta especie.

## CAPÍTULO VII

### CONCLUSIONES

- Es conocida la importancia que el medio ambiente tiene en las características de desarrollo y crecimiento de las especies vegetales, lo que determina, en último término, la presencia o ausencia de los metabolitos.
- Del *screening* fitoquímico realizado a las siete plantas cabe resaltar:
  - La presencia e identificación de terpenos/esteroles ( $\beta$ -sitosterol, lupeol,  $\beta$ -amirina, ácido ursólico y ácido oleanólico), flavonoides como quercetina; y cumarinas como escopoletina.
  - La presencia de taninos pirogálicos, observados en el EMET e INF de *Parastrephia lucida* que de las otras especies que no lo presentan.
  - Todas las especies estudiadas presentaron aceites esenciales en cantidades significativas.
- La actividad antimicrobiana, por el ensayo en superficie de agar, permitió determinar que todos los extractos y aceites esenciales de las siete plantas estudiadas son activas, siendo los aceites esenciales y extracto exudado resinoso los de mayor actividad antimicrobiana.
- El ensayo antimicrobiano más detallado de bioautografía, realizado para todos los extractos seriados, globales y aceites esenciales de las siete plantas en estudio pudo determinar que:

- Las dos especies del género *Caiophora* (*C. sepiaria* y *C. rahmeri*) presentan actividad contra bacterias Gram (+).
- Los aceites esenciales de ambas especies fueron activos con la bacteria Gram (-) *E. coli*, junto con los extractos **apolares y polares de *C. rahmeri***.
- El género *Senecio* representado en este estudio por *Senecio nutans*, *Senecio adenophyllus* y *Senecio trifurcifolius* mostró actividad antimicrobiana de amplio espectro, presentando los extractos de las dos primeras especies, mayor actividad antimicrobiana que la última.
- El *Senecio nutans* fue el único en presentar actividad contra una levadura *Saccharomyces cerevisiae*, CMI de 180 µg/mL.
- Los extractos **apolares** como el exudado resinoso y aceite esencial de *Parastrephia lúcida* presentaron actividad antimicrobiana, siendo superior la del exudado resinoso, mostrando un efecto de amplio espectro frente a microorganismos *M. flavus*, *B. subtilis*, *E. coli* y *K. pneumoniae*.
- El extracto DCM y aceite esencial de *Myrica pavonis*, demostraron actividad antimicrobiana de amplio espectro, presentando tanto el extracto DCM como el aceite esencial una CMI de 170 y 90 µg/mL para *B. subtilis* y *E. coli* respectivamente.
- Referente a la actividad antioxidante se puede concluir que de las plantas que fueron estudiadas, con excepción de *C. sepiaria* y *C. rahmeri* que no se les realizó el ensayo, sólo el *S. trifurcifolius* presentó capacidad antioxidante teniendo un efecto inhibitorio 15,7%, obtenido por el método de xantina oxidasa.

- Se concluye que son plantas con excelente actividad antimicrobiana, confirmando su uso popular y contribuyendo al conocimiento científico de estas especies pre-andinas y de la zona del altiplano, desde el punto de vista químico y farmacológico.

## CAPÍTULO VIII

### BIBLIOGRAFIA

- ACEITUNO P., Aspectos generales del clima en el altiplano. En: El altiplano, ciencia y conciencia en los Andes. Ed. Depto. Postgrado y postítulo, Vicerrectoría Académica y Estudiantil, Universidad de Chile, 1997.
- ACKERMANN M. y Weigend M., Notas sobre el Género *Caiophora* (Loasaceae) en Chile y países limítrofes, *Darwiniana*, 45(1): 45-67. ISSN 0011-6793, Ene./Jul. 2007.
- Apéndice 1. *Rev. peru biol.*, 13(2) [citado 13 Marzo 2009]: 926-935, 2006.
- ARAYA-PRESA J, Squeo F, Barrientos L, Belmonte E, Mamani M y Arancio G, Manual de las plantas y canciones aymara, 2003.
- ARISTEGUIETA, Flora de Venezuela, Vol X Parte Segunda, 765, 1964.
- BELMONTE, E., Flora del Parque Nacional Lauca, Proyecto (ED/99/032) Flora del Parque Nacional Lauca, Financia Explora-Conicyt y Universidad de Tarapacá, 1999.
- BROWMAN D., Aspectos de nutrición prehistórica en la cuenca del Lago Titicaca. *Diálogo Andino* 2: 27-41, 1983.
- CHARRIER R., Ciencias de la tierra y recursos mineros y energéticos en el Altiplano chileno. En: Actas del II Simposio Internacional de Estudios Altiplánicos: El Altiplano, ciencia y conciencia en los Andes, 5-14,1997.
- CABRERA A., Flora de la Provincia de Jujuy Parte X República Argentina, 509-511, 1978.
- CABRERA A., *Revista Darwiniana* N° 26, Revista del Instituto de Botánica Darwinion. República Argentina, 210-212, 1985.

- CASTELLARO G., Ullrich T., Wackwitz B. y Raggi A., Composición botánica de la dieta de alpacas (*Lama pacos* L.) y llamas (*Lama glama* L.) en dos estaciones del año, en praderas altiplánicas de un sector de la Provincia de Parinacota, Chile. *Agric. Téc* , 64(4) [citado 2009-03-19]: 353-363, 2004.
- CASTRO M., Villagrán C. y Kalin M.T., Estudio Etnobotánico en la precordillera y altiplano de los Andes del Norte de Chile (18-19° S) Vol. de síntesis Proyecto M AB-6-UNEP UNESCO Santiago de Chile 2,133-205 ,1982.
- CEA, Informe de análisis de la distribución de raíces de la vegetación zonal en el borde este del Salar de Coposa.  
[http://www.e-seia.cl/archivos/ANEXO\\_B\\_Informe\\_Raices\\_borde\\_este\\_Coposa.pdf](http://www.e-seia.cl/archivos/ANEXO_B_Informe_Raices_borde_este_Coposa.pdf)
- CONAF, Delimitación y caracterización de los ecosistemas de la I Región. Corporación Nacional Forestal: Gerencia de Desarrollo, 1981.
- CONAF, Información sobre el Parque Nacional Lauca, 2003.
- CORFO. Análisis de los Ecosistemas de la I región. Sociedad Agrícola CORFO Ltda., Universidad de Chile, Santiago, 194, 1982.
- DE FEO V, Urrunaga E., Urrunaga R., Senatore F., Chemical composition of esencial oils of *Senecio nutans* Sch bip (Asteraeae), *Flavour and fragrance journal* 18(3): 234-236, 2003.
- Dr. FONTQUER P., Diccionario de Botánica, Editorial Lobos S.A., Barcelona, España, 1953.
- ERAZO S., González V., Zaldívar M. and Negrete R., Antibacterial activity of *Psoralea glandulosa*, *L. Int. J. Pharmacog* 3(1): 1-3, 1997.
- GAUTIER E., Apuntes de trabajos prácticos de Farmacognosia, Editorial Universitaria, Santiago, 12 – 13, 1954.

- HOLLANDER M. and Wolfe D., Nonparametric Statistical Methods. J. Wiley and Sons, New York, 27-32, 62-70, 1973.
- LINARES E. & Benavides M. A., Flora silvestre del transecto Yura-Chivay, Departamento de Arequipa. Boletín de Lima N° 100:211-254, 1995.
- LOYOLA L., Pedreros S. y Morales G., p-Hydroxyacetophenone derivatives from *Senecio graveolens*, *Phytochemistry*, 24: 1600-1602, 1985.
- LOYOLA L., Morales G., Mancilla A., Borquez S., Pedreros S., Gallardo O. y Trujillo R., Metabolitos secundarios de tres especies del género *Parastrephia*, Boletín de la sociedad chilena de química, 40: 293-296, 1995.
- LUCCA M. De y Zalles J., Flora medicinal boliviana, Diccionario enciclopédico. Los Amigos del Libro: La Paz, Bolivia, 498, 1992.
- LUEBERT F., Apuntes sobre la vegetación de bosque y matorral del desierto precordillerano de Tarapacá (Chile), *Chloris Chilensis* Año 7. N°1 2004.  
URL: <http://www.chlorischile.cl>
- MABRY T.J., Markham K.R. and Thomas M.B., The systematic identification of flavonoids, Editorial Springer-Verlang, New York, 35, 1970.
- MARQUET P.A., Bozinovic F., Bradshaw G.A., Cornelius C., González H., Gutiérrez J.L., Hajek E.R., Lagos J.A., López-Cortés F., Nuñez L. Rosello E.F., Santoro C., Samaniego H., Standen,V.G., Torres-Mura J.C., Jaksic F.M., Los Ecosistemas del Desierto de Atacama y área andina adyacente en el norte de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 71: 593-617, 1998.
- MERCK, Reactivos de coloración para cromatografías en capa fina y en papel, Editorial Merck, Darmstadt, Alemania, 1972.
- MULLER S.A., Kufer Jk, Dietl KG., Reiter S.A., Grau J. and Weigend M., Iridoid glucosides-chemotaxonomic markers in Loasaedae, *Phytochemistry*, 52(1): 67-78, 1999.

- MUÑOZ M. y Serra M., Estado de Conservación de las Plantas de Chile, Documento de Trabajo, MNHN-CONAMA. 2006.
- MUÑOZ C., Chile Plantas en extinción. Ed. Universitaria. Santiago. 248, 1973.
- MUÑOZ A.E. & Bonacic C., Variación estacional de la flora y vegetación en la precordillera andina de la comuna de Putre (I Región de Tarapacá, Chile) durante el período 2002-2003, *Gayana Bot.* 63(1): 75-92 SciELO Chile, 2006.
- NORO T., Oda, Y., Miyase, T., Ueno, A. y Fukushima, S. Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and bud of *Daphne genkwa*. *Chem. Pharm. Bull.*, 31(11): 3984-3987, 1983.
- PARRA-O C., New combinations in South American Myricaceae. *Brittonia* 54: 322-326, 2002.
- PEREZ C., Agnese A.M., Cabrera J.L., The essential oil of *Senecio graveolens* (Compositae): chemical composition and microbial activity tests, *Journal of ethnopharmacology*, 66(1): 91-96, 1999.
- PEREZ C., Tiraboschi I.N., Agnese A.M. & Cabrera J. L., Inhibition of different nosocomial microorganism by the essential oil of *Senecio graveolens* In: S. Singh, V.K.Singh and J.N. Govil (Eds.) *Recent Progress in Medicinal Plants*", Vol. "Phytochemistry and Pharmacology II", 343-351. Sci. Tech Publishing Inc, Houston, Texas. U.S.A, 2002.
- POPOVICI J., Bertarand C., Bagnarol E., Fernández M.P. y Comte G., Chemical composition of essential oil and headspace-solid n fruits of *Myrica gale* L. and antifungal activity, *Nat Prod Res.*, 22(12): 1024-32, 2008.
- RAHALISON L., Hamburger M., Hostettmann K., Monod M. and Frenk E., A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants. *Phytochemical Analysis*, 2, 199-203, 1991.

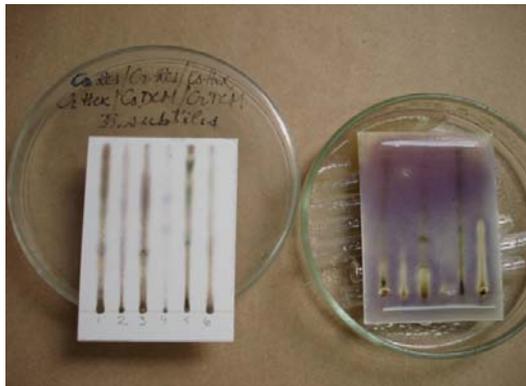
- RIEDERMAN P., Aldunate & Teillier S., Flora nativa ornamental. Zona norte. Ed Chagual, 2006.
- RODRÍGUEZ R., Matthei O., & Quezada M., Flora arbórea de Chile. Universidad de Concepción, Concepción, 1983.
- RODRIGUEZ E., y Weigend M., Loasaceae endémicas del Perú. *Rev. peru biol.*, 13(2): 392-402. ISSN 1727-9933, dic. 2006.
- RODRÍGUEZ R. & Quezada M., Myricaceae. En: Marticorena C. y Rodríguez R. (eds.), Flora de Chile. Vol. 2, Fasc. 2, 62-63, 2003. Universidad de Concepción, Concepción.
- ROMO M., La transición entre las tradiciones de los oasis del desierto y de las quebradas altas del Loa superior: Etnobotánica del Valle del río grande, segunda región, Chile, *Chungara Rev. de antropología chilena*, 31(2), 1999.
- SERRA M.T., GAJARDO R & CABELLO A., *Myrica pavonis* .Especies Vulnerables. Programa de protección y recuperación de la Flora nativa de Chile. Ficha Técnica de Especies Amenazadas. CONAF-Universidad de Chile. 208, 1986.
- SYLVESTRE M., Legault J., Dufour D. and Pichette A., Chemical composition and anticancer activity of leaf essential oil of *Myrica gale* L., *Phytomedicine*, 12(4): 299-304, 2005.
- TEILLIER S., Catálogo de las plantas vasculares del área altoandina de Salar de Coposa-cordón Collaguasi. Chile, Región de Tarapacá (I). *Chloris Chilensis revista chilena de flora vegetación*, Año 2. N° 1, 1999.  
URL: <http://www.chlorischile.cl>
- THEODULOZ, C., Pacheco, P. and Schmeda-Hirschmann, G.. Xanthine oxidase inhibitory activity of chilean Myrtaceae. *Journal of ethnopharmacology*, 33: 253-255, 1991.

- TOURSARKISSIAN M., Plantas medicinales de Argentina: sus nombres botánicos, vulgares, usos y distribución geográfica, Buenos Aires: Hemisferio sur, pag 38, 1980.
- TYLER V.E., Brady L.R. y Robbers J.E., Farmacognosia. Editorial El Ateneo. Segunda edición, Buenos Aires, 75, 1979.
- VALERO-GARCÉS B., Grosjean M.; Kelts, K.; Schreier, H.; Messerli, B. Holocene lacustrine deposition in the Atacama Altiplano: facies models, climate and tectonic forcing. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 151, 101-125, 1999.
- VARGAS, D., Asteráceas y Poáceas (Tisco-Caylloma). Tesis de Bachiller en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Flora y vegetación altoandina (Tisco-Caylloma). Tesis para optar al título profesional de biólogo. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. 1988.
- VILLAGRAN C., Castro V, Ciencia indígena de los Andes del norte de Chile: Programa Interdisciplinario de Estudios en Biodiversidad (PIEB), Universidad de Chile, pag 211-212, ed universitaria 2004.
- VILLAGRAN C., Romo M. y Castro V., Etnobotánica del sur de los Andes de la primera región de Chile: un enlace entre las culturas Altiplánicas y de las quebradas altas del Loa superior, *Chungara Rev. de antropología chilena*, 35(1), ene-jul, 2003.
- WAGNER H. and Bladt S., Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas. Segunda edición, Editorial Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 359-362, 1996.
- WEBERBAUER A., El mundo vegetal de los Andes peruanos. Ministerio de Agricultura, Lima-Perú, 1945.

**CAPITULO IX**  
**ANEXO 1**  
**BIOENSAYO BIOAUTOGRAFÍA**

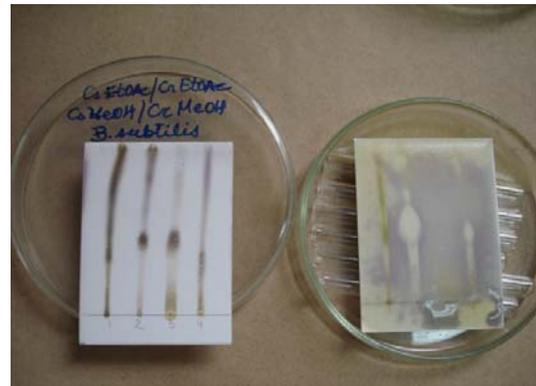
*Caiophora sepiaria* y *Caiophora rhameri*

Extracto resinoso, hexánico y diclorometano



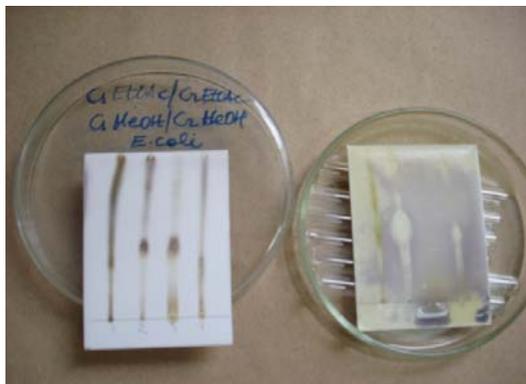
*Bacillus subtilis*

Extracto acetato de etilo y metanólico

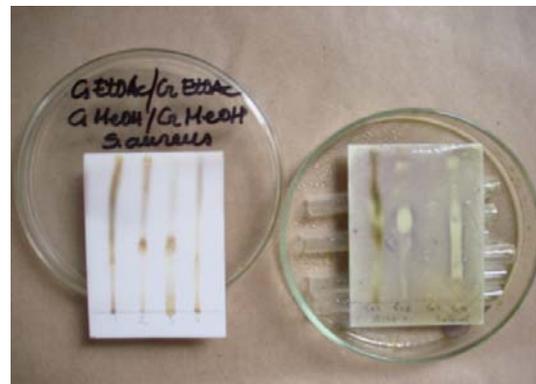


*Bacillus subtilis*

Extracto acetato de etilo y metanólico



*Escherichia coli*



*Staphylococcus aureus*

*Senecio nutans* y *Senecio adenophyllus*

Extracto resinoso, hexánico y diclorometano



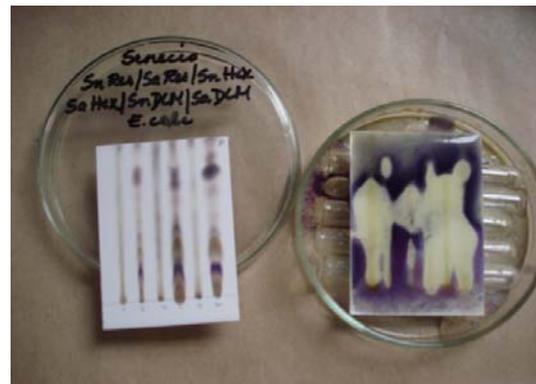
*Bacillus subtilis*



*Staphylococcus aureus*



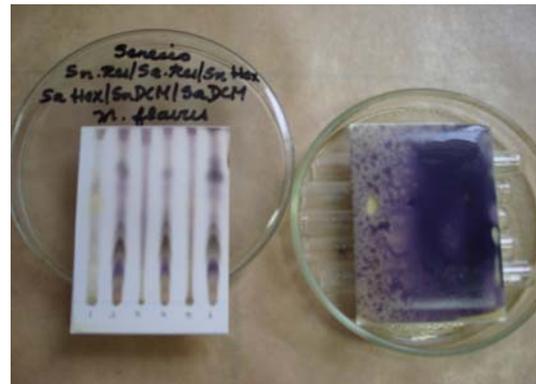
*Klebsiella pneumoniae*



*Escherichia coli*

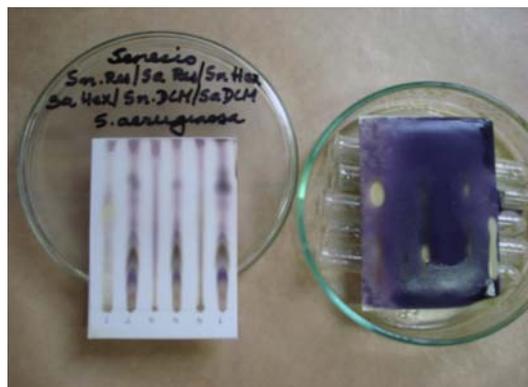


*Staphylococcus aureus*

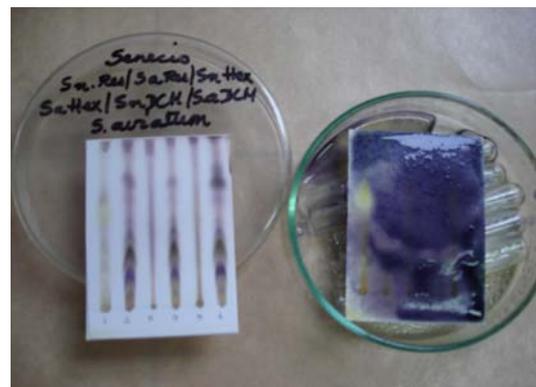


*Micrococcus flavus*

Extracto resinoso, hexánico y diclorometano



*Pseudomona aeruginosa*



*Salmonella aviatum*

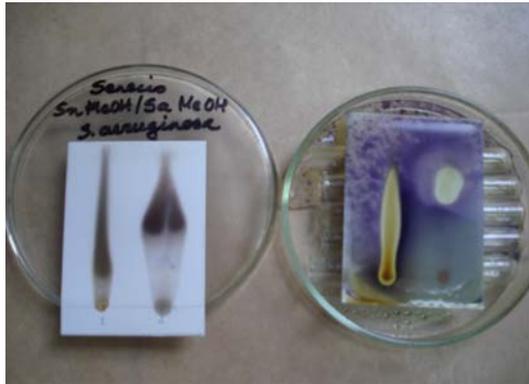
Extracto metanólico



*Bacillus subtilis*



*Klebsiella pneumoniae*



*Pseudomonas aeruginosa*



*Micrococcus flavus*

Extracto metanólico



*Staphylococcus aureus*



*Escherichia coli*

*Senecio trifurcifolius*

Extracto resinoso, hexánico y diclorometano



*Staphylococcus aureus*



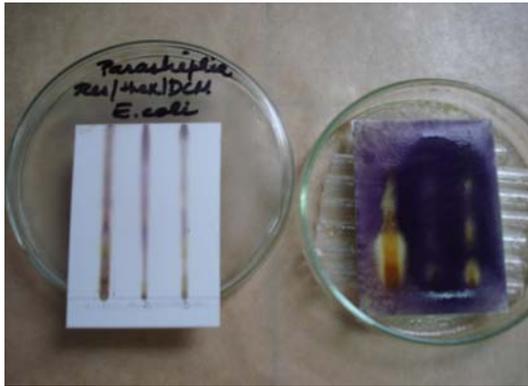
*Klebsiella pneumoniae*



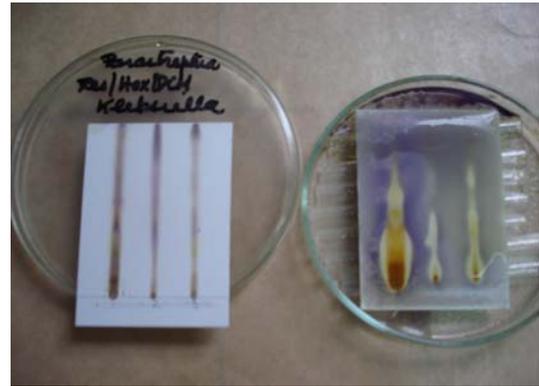
*Escherichia coli*

*Parastrephia lucida*

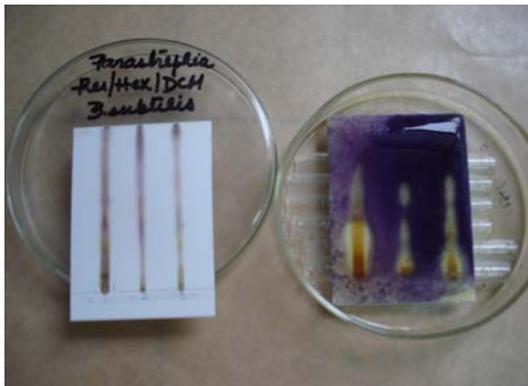
Extracto resinoso, hexánico y diclorometano



*Escherichia coli*



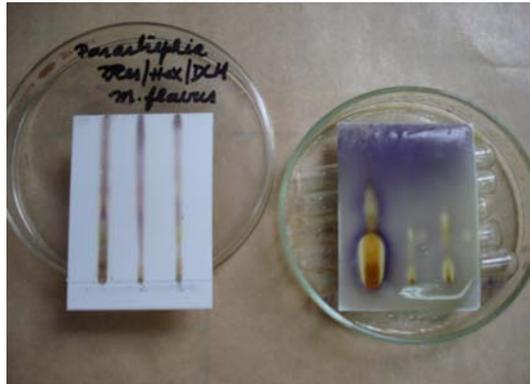
*Klebsiella pneumoniae*



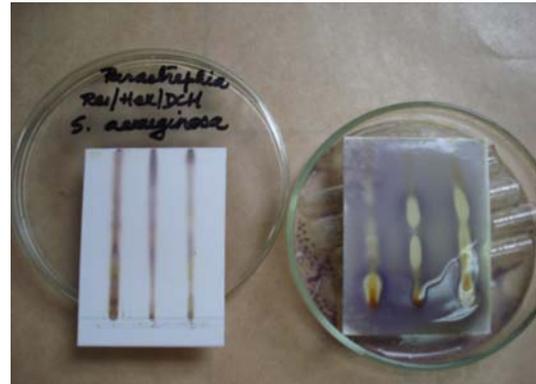
*Bacillus subtilis*



*Staphylococcus aureus*

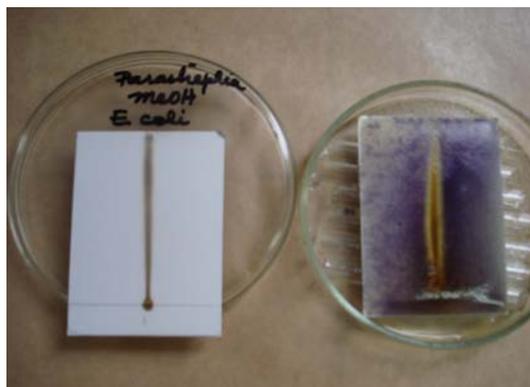


*Micrococcus flavus*

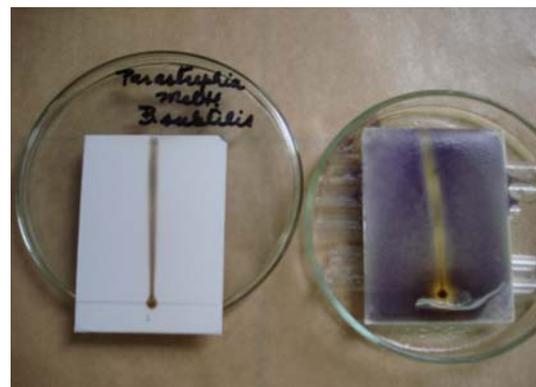


*Pseudomonas aeruginosa*

Extracto metanólico



*Escherichia coli*



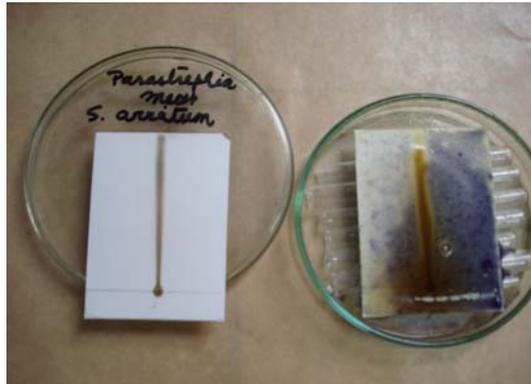
*Bacillus subtilis*



*Pseudomonas aeruginosa*



*Klebsiella pneumoniae*

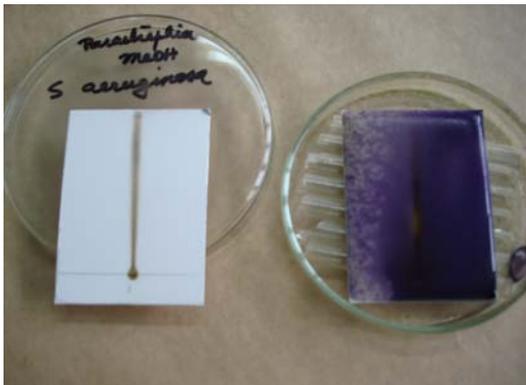


*Salmonella aviatum*

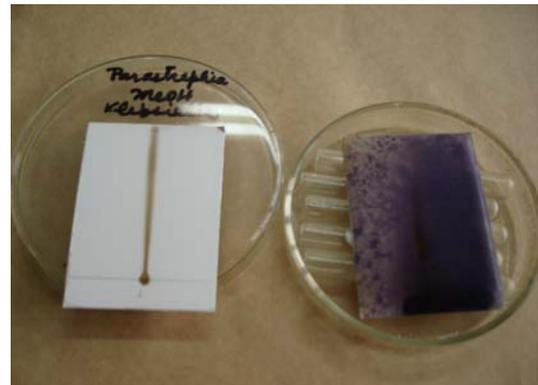


*Staphylococcus aureus*

Extracto metanólico



*Pseudomonas aeruginosa*



*Klebsiella pneumoniae*

*Myrica pavonis*

Extractos hexánico, diclorometano y acetato de etilo

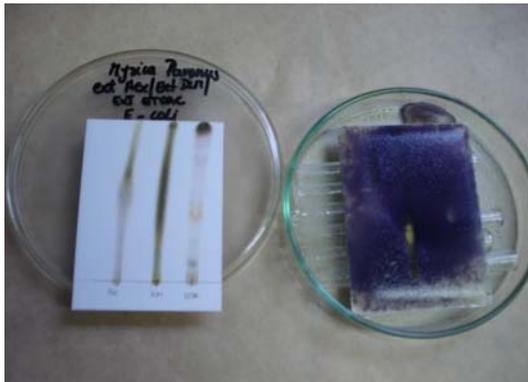


*Bacillus subtilis*



*Klebsiella pneumoniae*

Extractos hexánico y diclorometano



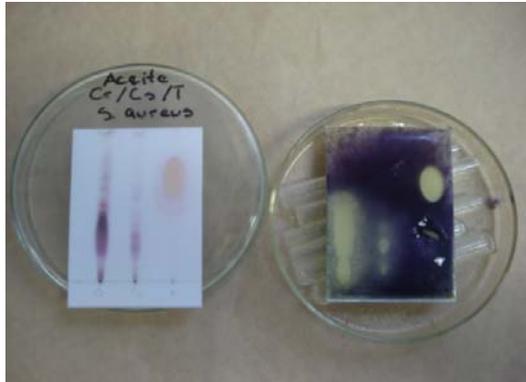
*Escherichia coli*

Extracto metanólico

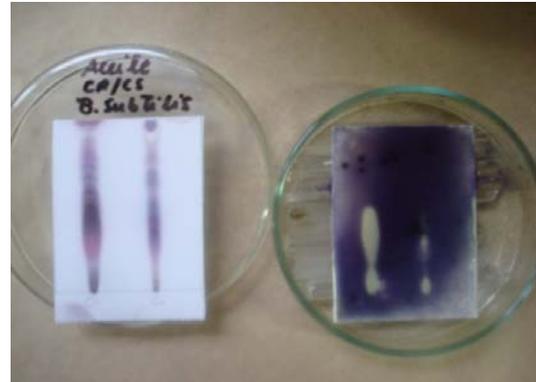


*Bacillus subtilis*

Aceites esenciales de *Caiothora sepiaria* y *Caiothora rhameri*



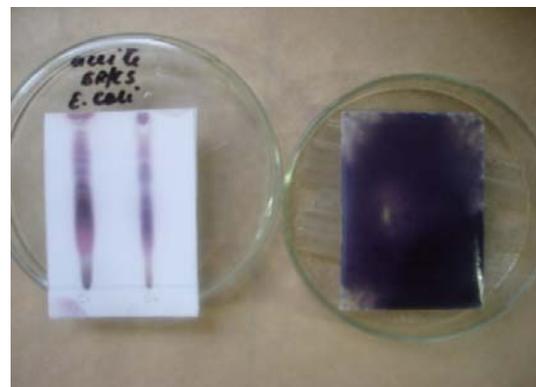
*Staphylococcus aureus*



*Bacillus subtilis*

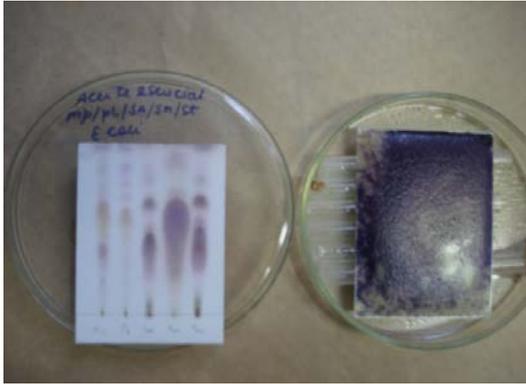


*Micrococcus flavus*



*Escherichia coli*

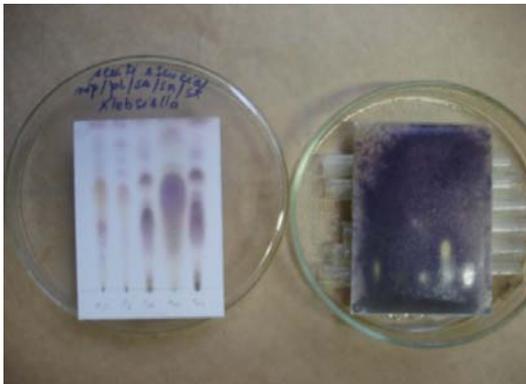
Aceite esencial: *Myrica pavonis*, *Parastrephia lucida*, *Senecio adenophyllus*, *Senecio nutans* y *Senecio trifurcifolius*



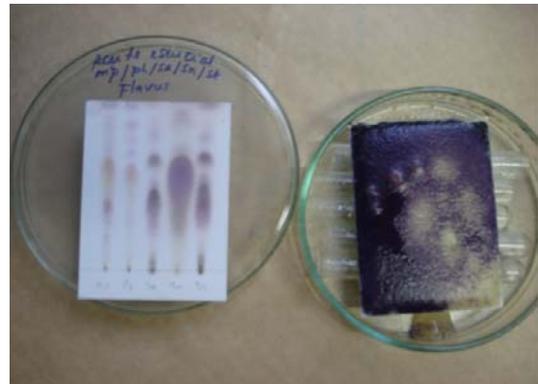
*Escherichia coli*



*Bacillus subtilis*

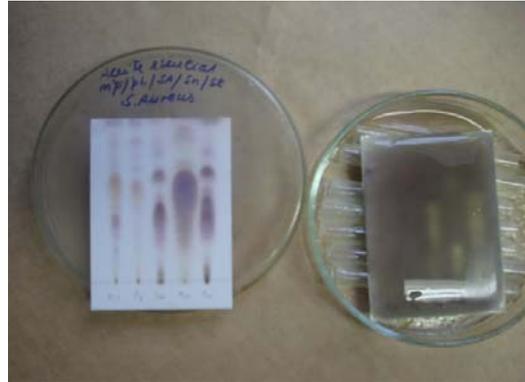


*Klebsiella pneumoniae*



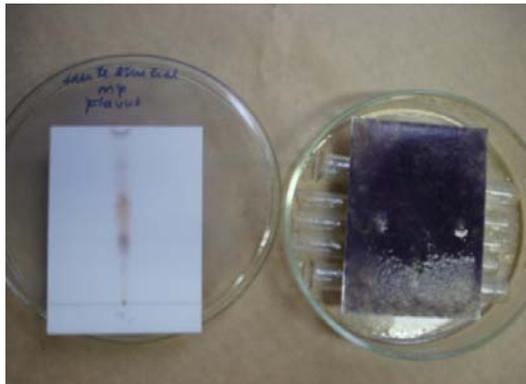
*Micrococcus flavus*

Aceite esencial: *Myrica pavonis*, *Parastrephia lucida*, *Senecio adenophyllus*, *Senecio nutans* y *Senecio trifurcifolius*

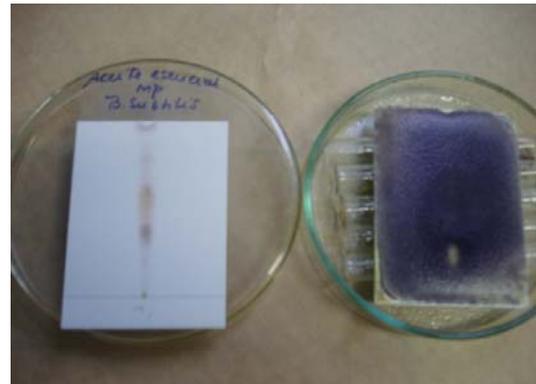


*Staphylococcus aureus*

Aceite esencial *Myrica pavonis*

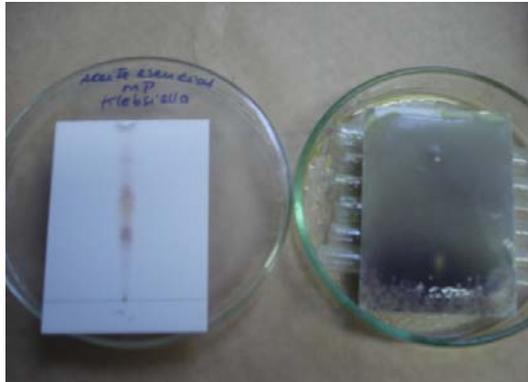


*Micrococcus flavus*

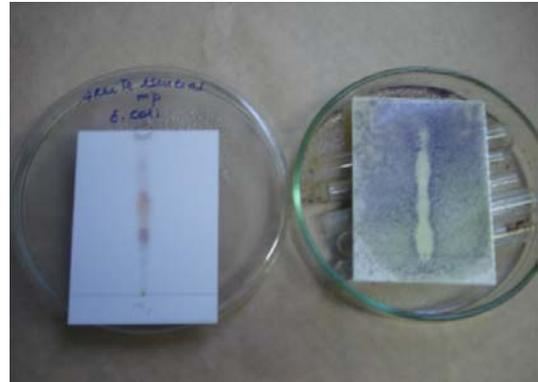


*Bacillus subtilis*

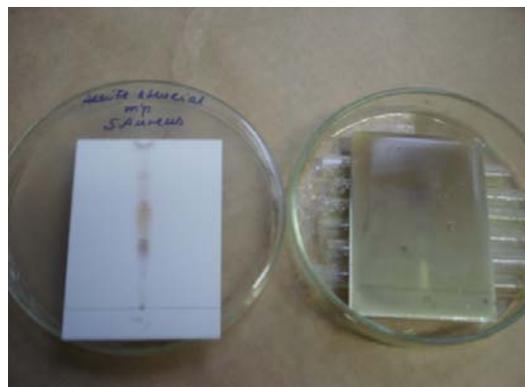
Aceite esencial *Myrica pavonis*



*Klebsiella pneumoniae*



*Escherichia coli*



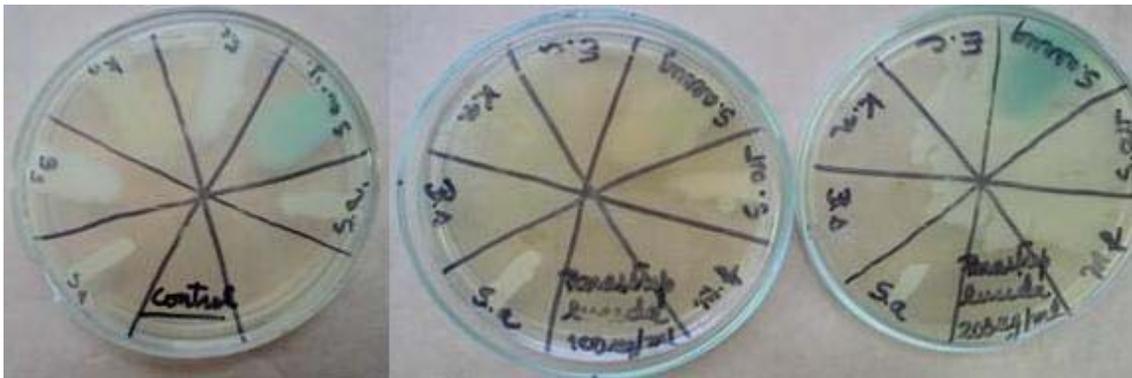
*Staphylococcus aureus*

## ANEXO 2

### Siembra superficial en placas de Petri

*Parastrephia lucida*

Extracto global

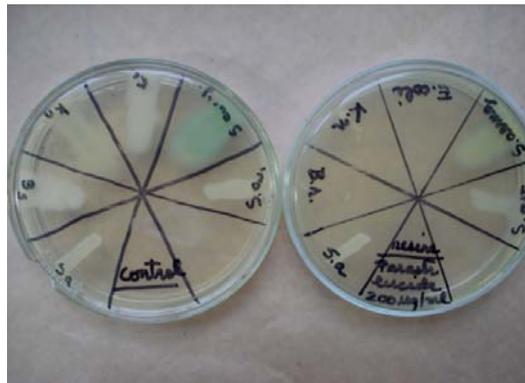


Placa control

Concentración  
100 µg/mL

Concentración  
200 µg/mL

Extracto resinoso



Placa control

Concentración  
200 µg/mL

