

ETHNOBOTANICAL STUDIES IN CHILE TO DISCOVER NOVEL MEDICINAL COMPOUNDS.



Alfonso Guzmán, Ph.D.
South herbs - Denmark

Collection of plants in the Valdivian Rain Forest

Home of the Huilliches

Temperate climate

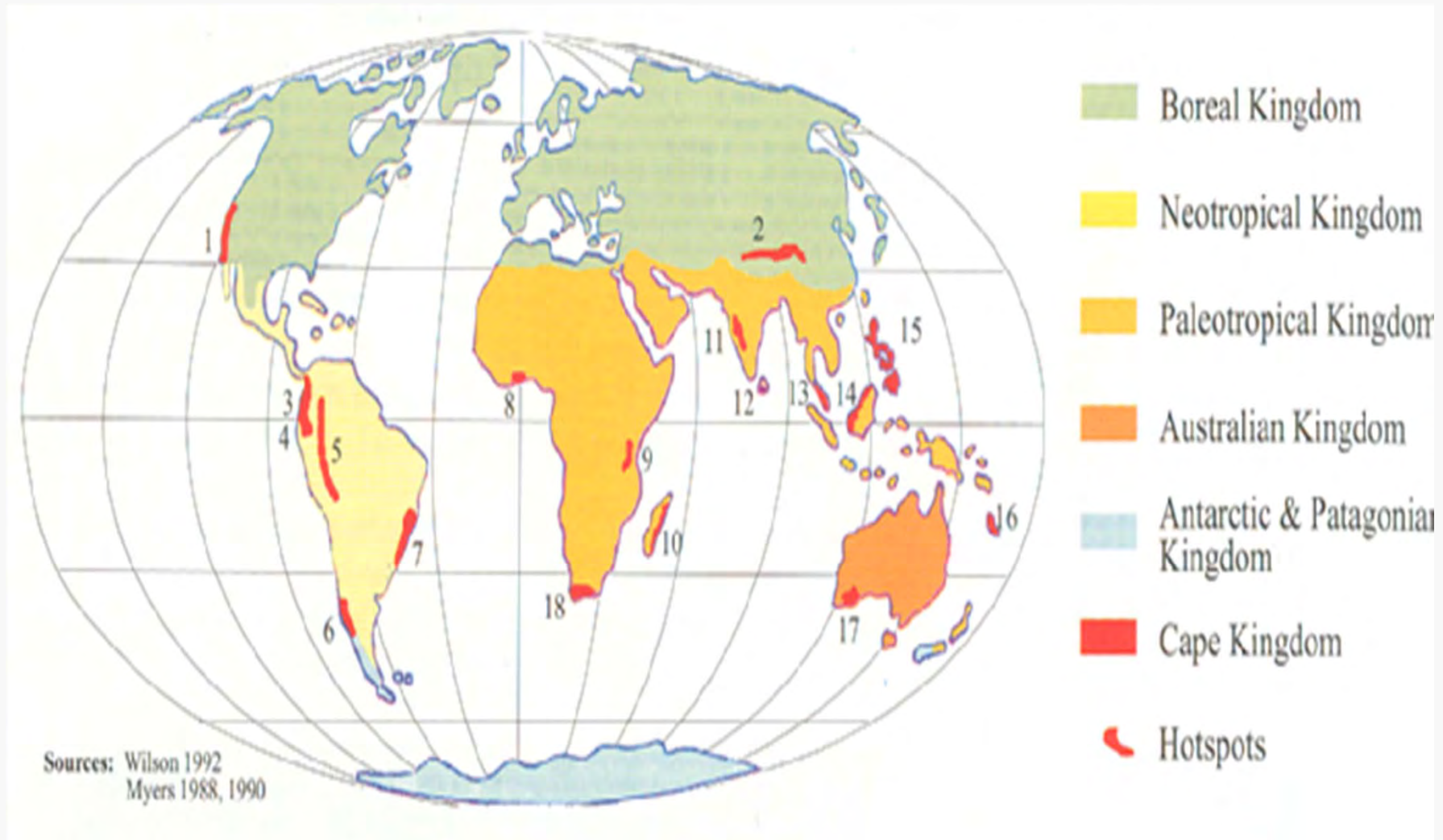
High precipitation

High frequency of
endemic plants

Chile MAP



FLORAL KINGDOMS AND HOTSPOTS OF THE WORLD



Biological hot spot, **50% endemism**,
3,000 spp. to be compared with:

• Cape Province	Endemism% 73	8,600 spp
• South Western Australia	78	8,500
• New Caledonia	89	1,580
• Eastern forest of Madagascar	80	6,000
• Northwestern Borneo	40	11,000
• California	50	4,450
• Eastern Forest of Tanzania	30	2,000
• Ivory Coast	7	2,770

RANDOM OR ETHNOBOTANICAL SCREENING METHOD ?

- **RANDOM** *in vitro* assays for biological activity screening.
- **ETHNOBOTANICAL VS RANDOMLY COLLECTING PLANTS.**
- **RESULTS: eg. VIRUS**
- **ETHNOBOTANICAL:** 123 times, 169 times or 630 times **HIGHER THAN RANDOM:** influenza, cytomegalovirus, or respiratory syncytial virus. Carlson, et al., 1997.
- **TO DISCOVER AND DEVELOP A NEW MEDICINAL DRUG**
- **PHARMACEUTICAL COMPANIES:** SPEND BETWEEN 10-12 YEARS AND OVER 60 MILLION EURO.
- **ETHNOBOTANICAL STUDIES:** SPEND **5 YEARS** AND ABOUT 10 MILLION EURO.

Plant collecting in mountain forest



Former forest of Alerce
(*Fitzroja cupressoides*)
today ban of cutting



Understory: Thickets of
Baccharis magellanica

Alfonso Guzmán, in front of timber factory



Alfonso Guzmán, in front of timber factory



Note the blue green
Eucalyptus

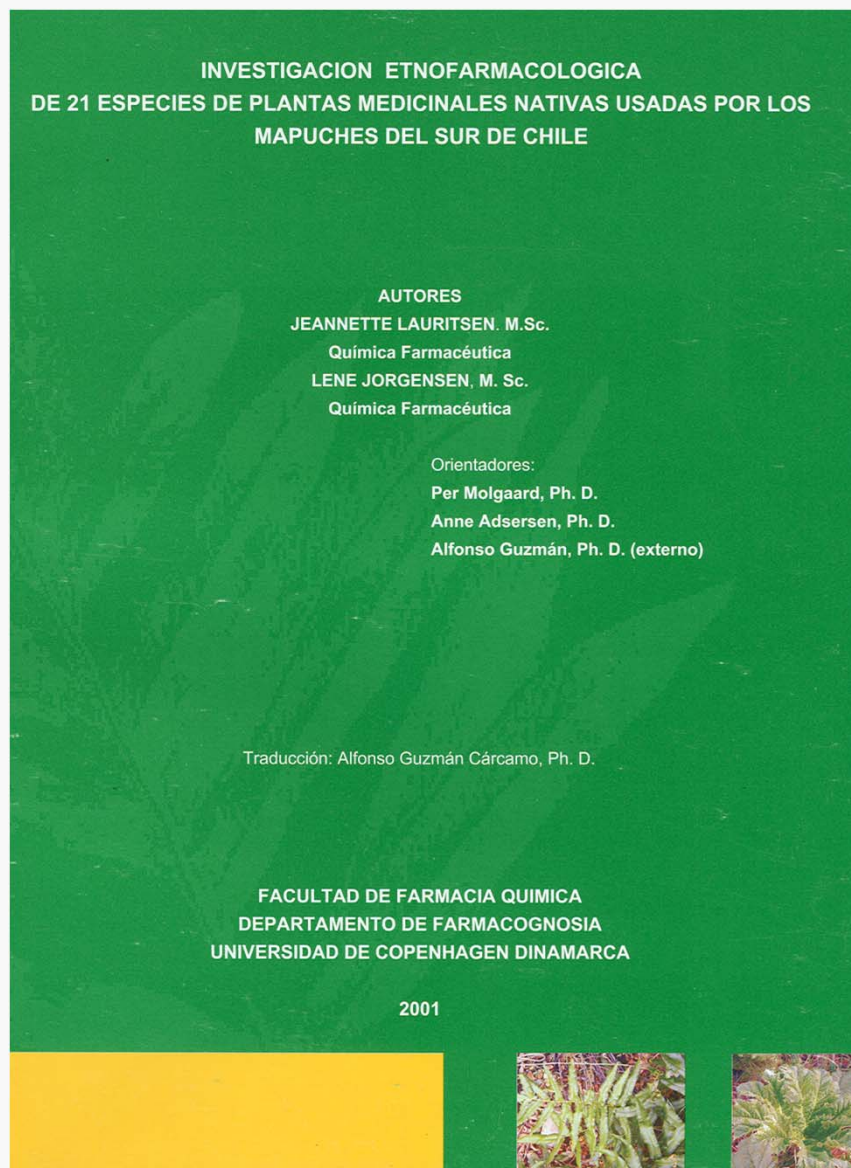


Mapuche traditional medicinal plants

Spanish edition
of master thesis
from DUPS

Translated by
Dr. Alfonso Guzmán

Published by
Viking Books
2001



Activity of Mapuche medicinal plants, 1

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

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

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

^b Antimicrobial: - : Sin Inhibición con 1mg. de extracto.

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

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

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

+ : Inhibición parcial con 1mg. de extracto

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

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

^cDFPH + xantinoxidasa + ECA: Efecto (%) - : <50%; +: 50-70%; ++: 70-90%; +++: >90%

Antibacterial activity

Activity of Mapuche medicinal plants, 2

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

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

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

^b Antimicrobial: - : Sin Inhibición con 1mg. de extracto.

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

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

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

+ : Inhibición parcial con 1mg. de extracto

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

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

^cDFPH + xantinoxidasa + ECA: Efecto (%) - : <50%; + : 50-70%; ++ : 70-90%; +++ : >90%

Antifungal activity!

Master thesis 2003

Louise Berthelsen:

Active compounds
from
Lomatia hirsuta

Proteacea

Øprønsning og karakterisering af aktive stoffer

fra

Lomatia hirsuta (Proteaceae)

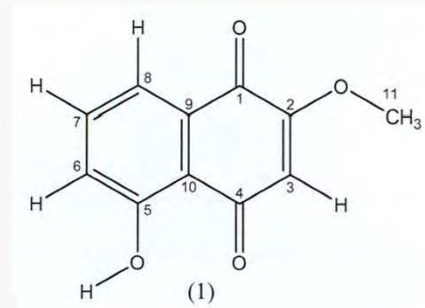


Louise Berthelsen, stud. pharm. 98046

Danmarks Farmaceutiske Universitet

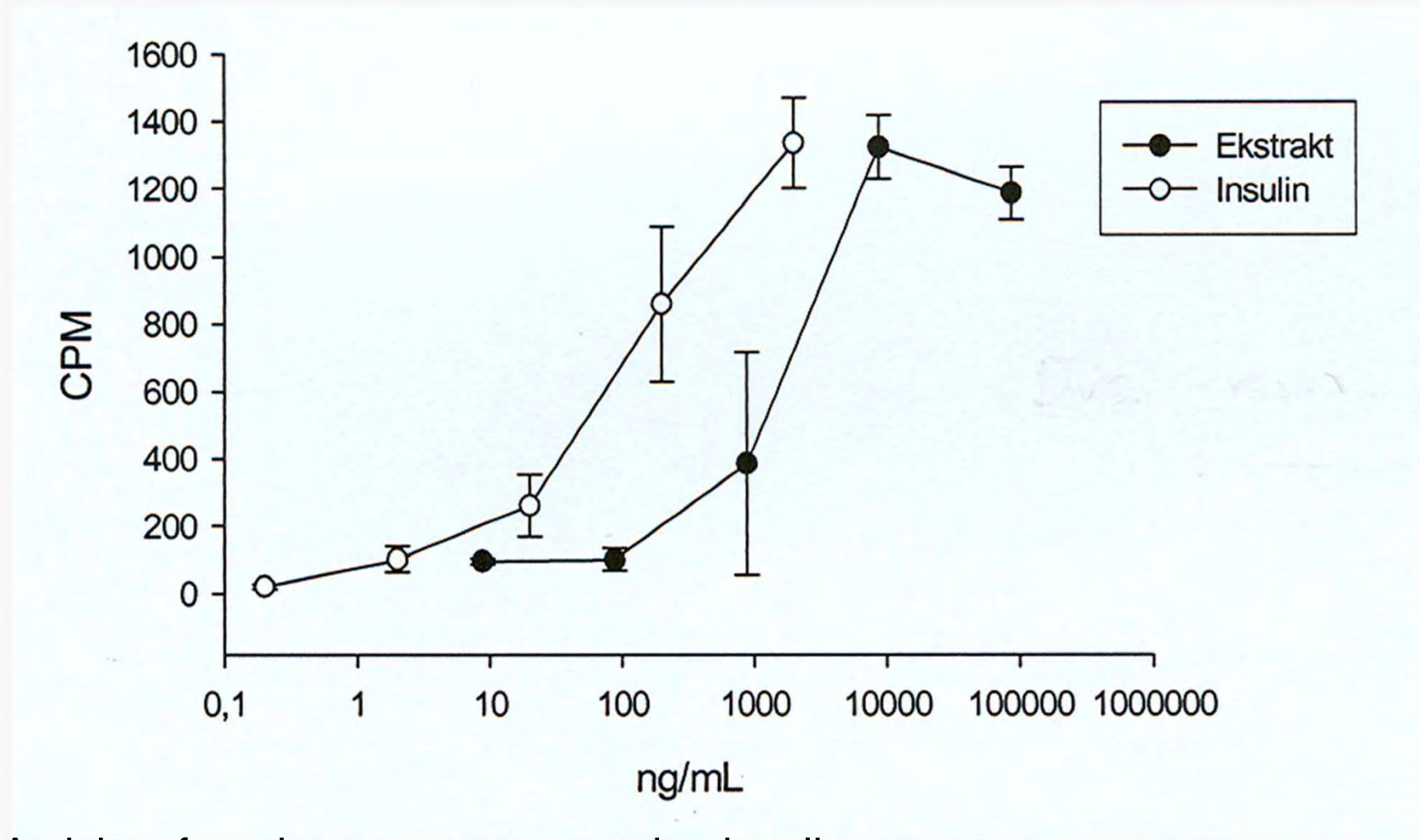
2005

Collection of *Lomatia hirsuta*



2-methoxyjuglone is active against *Candida albicans*

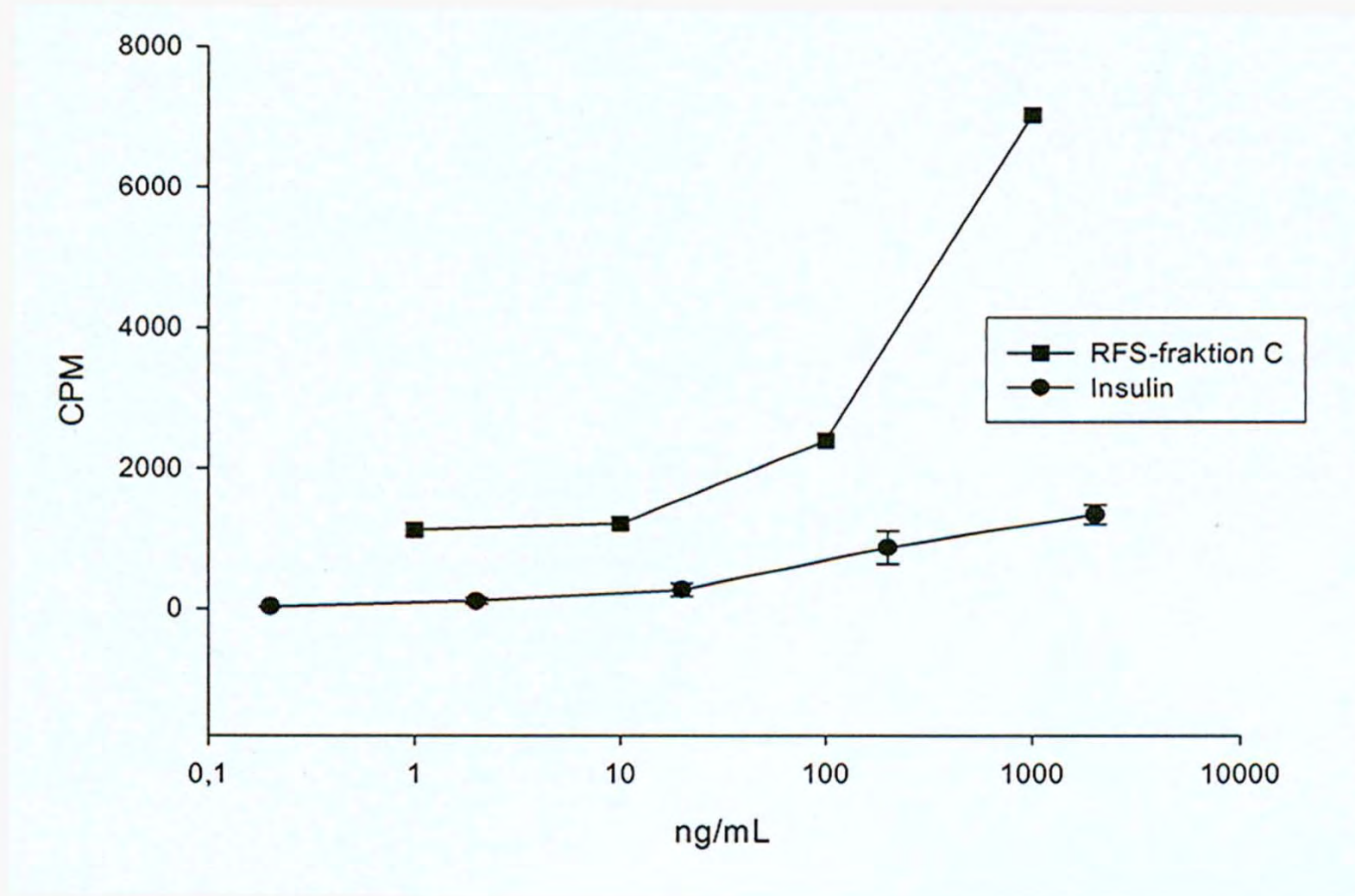
Diabetes Huilliche plant extract



Activity of crude extract compared to insulin.

Thymidin incorporation in CHO cells as a measure for cell division rate

Diabetes Huilliche plant extract



Activity of fraction C compared to insulin, measured on thymidin incorporation

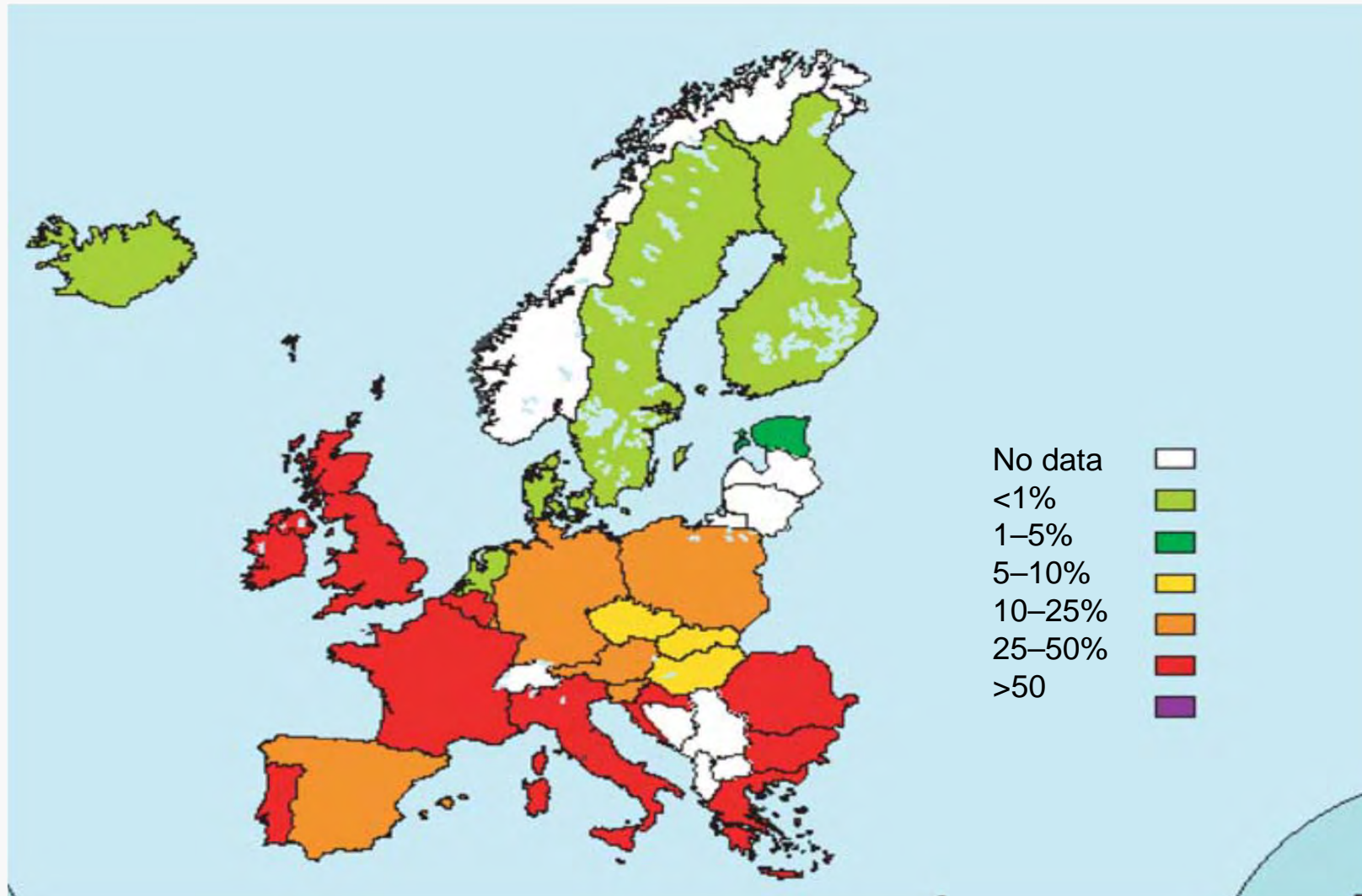
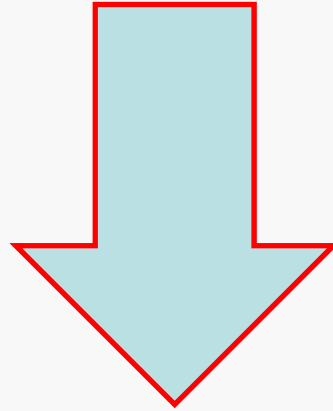


Figure 1. Proportion of *S. aureus* isolates from bacteraemia resistant to methicillin in countries participating in EARSS, 2002 (EARSS Annual Reports. Available at <http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/Pages/Documents.aspx>).7

Estimated cost of Antibiotic Resistance in Europe

Resistance of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*



Total cost 44.0 and 18.1 million Euros.
(63.1 and 29.7 million international dollars)

Marlieke et al. 2011

Plant derived antimicrobials for resistant *S. aureus* infections

Efflux pump-inhibitor assay:

- Reintroduction of retired antibiotics,
- Potentiation of antibiotics in use and
- Reduction of dose with lesser side effects (www.farma.ku.dk) .

Natural products against resistente bacteria and complicated wounds.

In vitro & in vivo research of plant extract and isolate compound traditionally used by Huilliche indians in southern Chile.

24 species ---- against microorganism asociated with wound healing.
Over 60% of these species show high activity against resistant
Staphylococcus aureus, Eschericha coli and Streptococcus pneumoniae.

NATURAL ANTIBIOTICS IN TEA

Toxicity test 5-7 min. % mortality

Species	10 mg/ml	5 mg/ml	2,5 mg/ml
<i>Acaena argentea</i>	8,3	2,1	1,8
<i>Aristotelia chilensis</i>	58,9	19,4	0,0
<i>Baccharis elaeoides</i>	7,4	2,8	2,0
<i>Crinodendron hookerianum</i>	0,0	0,0	0,0
<i>Drimys winteri</i>	78,8	61,1	34,4
<i>Fuchsia magellanica</i>	17,8	3,3	0,0
<i>Ribes magellanica</i>	8,3	0,0	0,0

Toxicity test 1 hr. % mortality

Species	10 mg/ml	5 mg/ml	2,5 mg/ml
<i>Acaena argentea</i>	56,0	25,1	17,7
<i>Aristotelia chilensis</i>	100,0	93,8	46,0
<i>Baccharis elaeoides</i>	93,8	80,8	52,6
<i>Crinodendron hookerianum</i>	100,0	100,0	100,0
<i>Drimys winteri</i>	87,7	63,6	44,7
<i>Fuchsia magellanica</i>	49,2	18,1	3,6
<i>Ribes magellanica</i>	66,5	23,7	8,6

Toxicity: tea (g) and person (wt.)

Concentration 10 g/ml

Tea species	Body weight
<i>Acaena argentea</i>	> 7,0
<i>Aristotelia chilensis</i>	5,9
<i>Baccharis elaeoides</i>	> 7,0
<i>Crinodendron hookerianum</i>	> 7,0
<i>Drimys winteri</i>	2,6
<i>Fuchsia magellanica</i>	>7,0
<i>Ribes magellanica</i>	>7,0

Aristotelia chilensis 70 kg ~ 143 ml

Drimys winterii 70 kg ~ 182 ml

SIDE EFFECTS OF CHEMOTHERAPY, DRUGS, ETC

A

Scalded infection. Treatment: diverse antibiotics, fuscor, diprosalic, etc. 3 years.



Treatment: plants extracts, 5 months

B

Treatment: Fucicort and antibiotics.

2 months : Burning the skin, itching and allergy.



Treatment: plants extracts, 7 days.



Periungual vesicular hand eczema (After Danderm.dk)

C

Treatment: diverse antibiotics and hormon(3months)

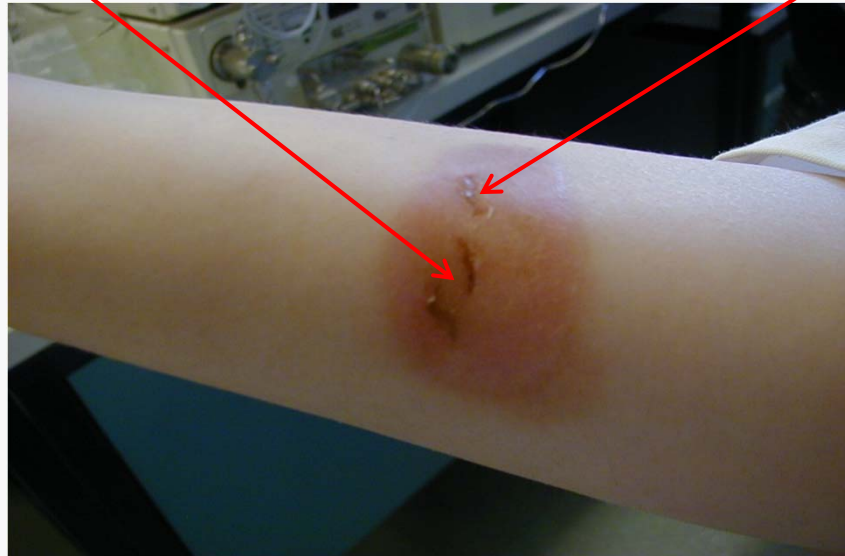
It was red, the skin itched and went.



Treatment: plants extracts, 5 days.



Burn: It was red, pain, swelling of the skin and vesicles.
Treatment: cold water .



Treatment: plants extracts, 2 hours.



Cost and benefits on treatment of diabetic foot wound.

	Time	Price/Euro	Benefit
Antibiotics	3 months	3500	non-healing
Plant extract	1 month	350	Healing

Guzmán, A. (manuscript)

POLYMICROBIAL RESISTANCE ?

Candida albicans.

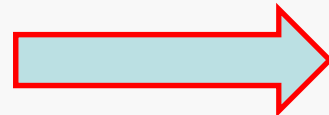
Colonisation ?

25-38% mortality .

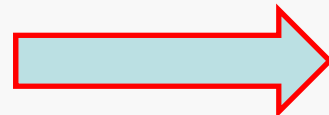
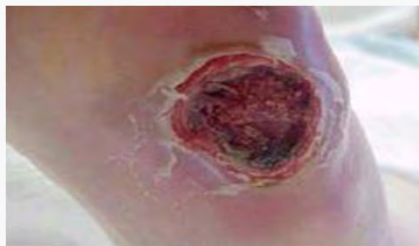
Cancer, diabetics, old peoples, etc

Resistance: 10 -12% azolegroup

Side effects: liver infection, gastrointestinal problems



Candida albicans
Staphylococcus aureus.

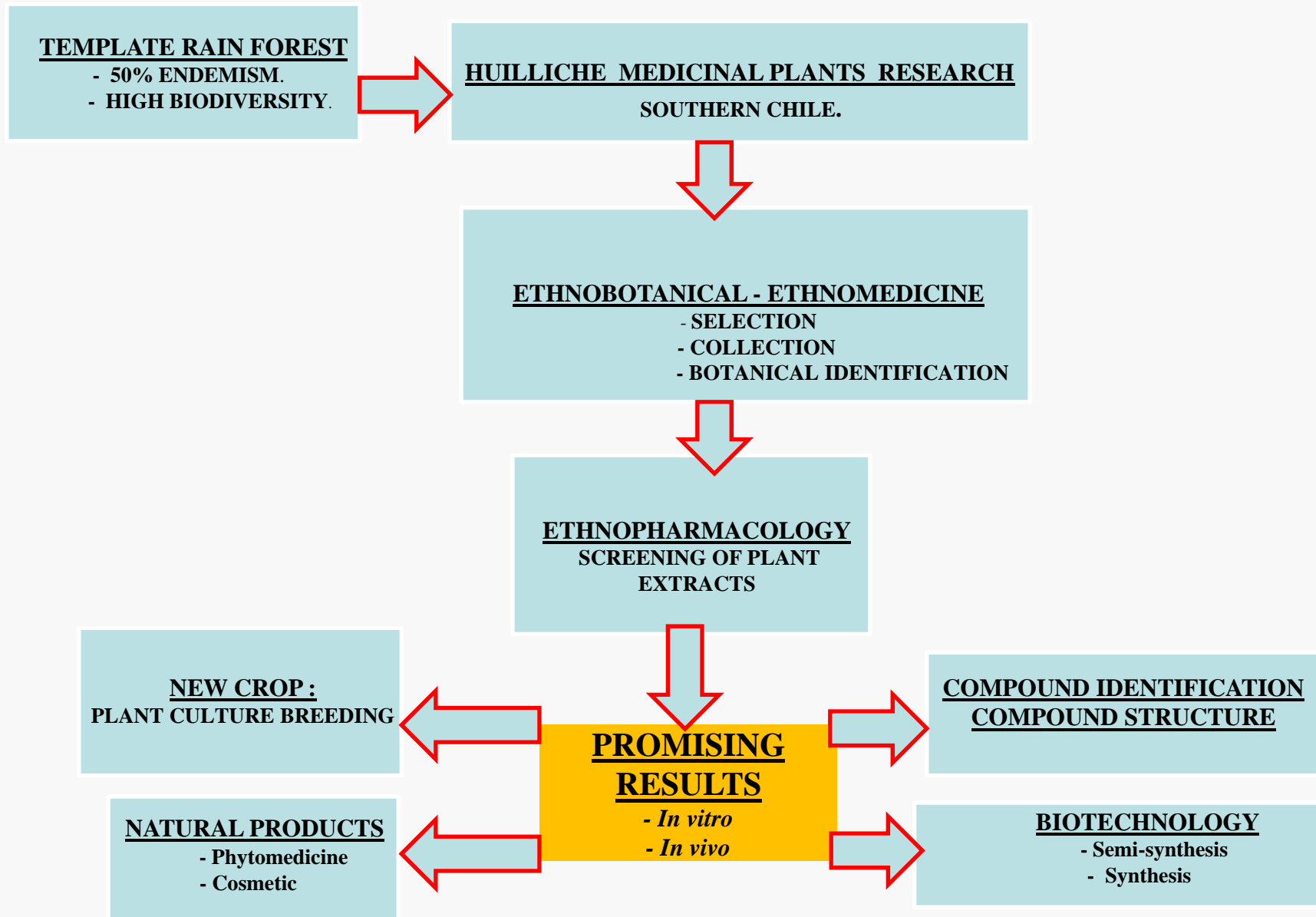


Staphylococcus aureus.
Pseudomonas aeruginosa

PERSPECTIVES ABOUT ETHNOBOTANY

- **ETHNOBOTANY CAN HELP TO DEVELOP NEW MEDICINAL.**
- **A CRUDE DRUG CAN ALSO GIVE INSPIRATION TO DEVELOPMENT OF A BIOCHEMICAL PATHWAY FOR SYNTHESIS OR SEMI-SYNTHESIS OF NOVEL COMPOUNDS WITH BIOLOGICAL ACTIVITY.**
- **THEY CAN ALSO DEVELOP INTO DIETARY SUPPLEMENTS NUTRACEUTICALS AND PHYTOMEDICINES.**
- **THE ETHNOBOTANICAL AND ETHNOMEDICINAL METHOD REPRESENT AN ENORMOUS SAVING IN R& D COSTS.**
- Known chemical structures and pharmacological activities can be used as drugs in the Western medicine. Although a drug is not approved to be marketable in Western pharmacies, it may still be valuable to use in the country of origin, especially the production and distribution cost must be low.
- We also need to take more care to ensure that rigorous standards **are applied at all stages in the research and development of such plant-derived drugs.**
- Additional, **clinical studies** can document safety and efficacy of crude drugs or tinctures of plants. '

NEW DRUGS TO DISEASES PREVENTION AND TREATMENT



Árbol nativo de Chile y Argentina:

El lingue mejora la acción de los antibióticos contra las bacterias

Investigadores daneses y chilenos descubrieron la propiedad al analizar unas muestras de hojas recogidas cerca de Osorno.

REPORTAJE

Una sustancia natural presente en el lingue (*Persea lingue*), árbol nativo chileno, combinada con un tratamiento de antibióticos tradicionales, podría mejorar la resistencia bacteriana, según dicen los investigadores de una universidad hospitalaria.

El problema es tan grande que, como que simplemente no ceden ante los tratamientos médicos y se ha detectado en Estados Unidos y en países europeos, como Corea.

El lingue aparece descrito en la sección especializada *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.

La mezcla que incluye el crecimiento bacteriano es resultado de un trabajo de investigación liderado por el doctor Jesper Høller, de la Universidad de Copenhague, quien está en Chile estudiando las propiedades del árbol lingue.

Sabiduría huilliche

Jesper Høller recolecta especímenes de esta y otras plantas empleadas en la medicina tradicional huilliche.



El lingue es una planta típica del lingue. Los investigadores de la Universidad de Copenhague.

Más que sanar

El etnobotánico Alfonso Guzmán destaca que el lingue es un árbol nativo muy usado para hacer maderas y "papas" (cajal de las casas). Además, como es blando para hacer con cuchillo, se pueden hacer flechas, vasos y platos. Además, que los huilches lo emplean mucho en la Región de Los Lagos. No hay que confundirlo con el radi, que es muy parecido en forma y color y que se emplea para arbores en la zona de Villarica y Pitrón.

la ayuda de Alfonso Guzmán, etnobotánico de esa comunidad e investigador de la Universidad de Los Lagos.

«Descubrimos el compuesto a partir de bioensayos sobre el extracto aislado de la planta. Posteriormente investigamos el compuesto combinado con los antibióticos disponibles en el mercado y encontramos que incrementa su actividad antimicrobiana», explica Jesper Høller a *«El Mercurio»*.

«Determinamos que el compuesto bloquea la capacidad de resistencia de la bacteria ante los antibióticos», dice el doctor. «Permitiendo que el antibiótico «ataque y la destruya», resalta el científico danés.

Alfonso Guzmán explica que antiguamente algunas familias huilches empleaban la corteza del lingue para combatir sus enfermedades. «Normalmente los huilches usaban esta hoja en el tratamiento de las enfermedades por las que se produce una más alta división a las bacterias o a las cargas de madera».



La fruta del lingue es venenosa y utilizada para darle sabor a la bebida.

La entregaban la hoja fresca para cocinar, a veces la pican y comen de inmediato. Así, al otro día el caballo estaba indigesto, explica el experto en etnobotánica huilliche.

Según Guzmán, a idea es desarrollar un producto natural que pueda combinarse con los antibióticos. Sin embargo, advierte que poner en el desarrollo de un medicamento requiere de mucha inversión.

Alcance de nombre

Las muestras llevadas a Europa las obtuvieron de un árbol en las inmediaciones de Osorno en



El compuesto aislado es combinado contra el antibiótico cefotaxima.

el año 2009.

Para su transporte las hojas fueron secadas en un gabinete especial durante 72 horas a 40 grados centígrados y se guardaron en bolsas hasta su uso.

El lingue (*Persea lingue*) pertenece al género *Persea*, el mismo del palo (*Persea odorata*).

De ahí que por una confusión en el nombre científico, el comunicado original de la Universidad de Copenhague hablaba de «Chitosan extract plant» (quitina chilena).

El error no fue corregido y publicaciones como el diario británico *Daily Mail* usaron la información con fotografías de especímenes palos.

HUILICHE MEDICINAL PLANTS. SOUTHERN CHILE

Database



Guzmán, A and Yefi, S. 2000 Viking Books. Denmark

Some of the 21 Huilliche medicinal plants



Gunnera chilensis
(Nalca)



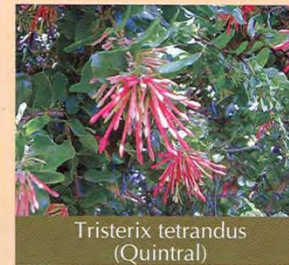
Cestrum parquii
(Palqui)



Chusquea quila
(Quila)



Lomatia hirsuta
(Radal)



Tristerix tetrandus
(Quintral)



Laureliopsis philippiana
(Laurel)



Pseudopanax laetevirens
(Sauco)



Cissus striata
(Voqui Colorado)



Laurelia sempervirens
(Laurel)



Buddeja globosa
(Matico)





Sara Nilian at the Saturday market



Lomatia sp.
also used in Denmark for decoration



Maria, a shaman colleague of Sara



Pacific coastal forest, now threatened



Stranded seaweed



Indian holy cliff



Copihue (*Lapageria rosea*) National flower of Chile



MUCHAS GRACIAS POR LA ATENCIÓN