Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud
Gobierno de Chile

INFORME DE EVALUACIÓN DE SOLICITUD DE RÉGIMEN DE CONTROL SANITARIO N° 9-A/22

Nombre: PALO NEGRO
Solicitado por: URCS-MC
Referencia: SI40/22 - SI41/22
Fecha ingreso: 15-09-2021

ANTECEDENTES:

1. La Unidad de Régimen de Control Sanitario y Medicinas Complementarias (URCS-MC), ha recibido reiteradas consultas, tanto de SEREMI, MINSAL y particulares, respecto al ingrediente vegetal "Palo negro", el cual se ha detectado que se promociona con fines terapéuticos, entre ellos el tratamiento del cáncer y se está distribuyendo en Chile sin la debida autorización sanitaria.
2. Teniendo en cuenta lo anterior, esta unidad ha decidido evaluar en Régimen de Control Sanitario este ingrediente vegetal y los productos que la contengan, con el fin de regularizar su situación sanitaria y poder dar respuesta a requerimientos de las autoridades sanitarias.
3. Por lo tanto, se ha solicitado mediante Memorándum al área de control de comercio nacional del Depto. ANAMED, que se tomen muestras de los productos elaborados a partir del ingrediente vegetal denominado vulgarmente como "Palo negro", que se encuentren en venta en farmacias.
4. De acuerdo a los antecedentes que disponemos se trataría de la especie vegetal *Leptocarpha rivularis* DC., la cual corresponde a una planta herbácea originaria de Chile, aunque también podría ser otra planta chilena denominada científicamente como *Adiantum chilense* Kaulf., por lo que se requirió que las muestras tomadas sean de todo producto que indique estar elaborado con el ingrediente vegetal denominado como "Palo negro".
5. Con fecha 9 de febrero de 2022, mediante Memo N° 23, de Jefe Subdepto. Control y Vigilancia, se informa que se realizó un muestreo en locales establecidos, y se adjuntan cuatro productos, con el ingrediente palo negro, requisados en farmacias, los cuales corresponden a:
   a. PALO NEGRO 20 BOLSITAS, CAJA - AGRÍCOLA LOS ESTEROS
   b. PALO NEGRO 125 GRAMOS, ENVASE - AGRÍCOLA LOS ESTEROS
   c. PALO NEGRO 90 CÁPSULAS, FRASCO - GRÜNE- LEBEN
   d. PALO NEGRO 500 mL INFUSIÓN - GRÜNE-LEBEN

FÓRMULA CUALI-CUANTITATIVA: de acuerdo a lo señalado en los rótulos de los productos requisados, es posible deducir la siguiente composición para cada uno.

a. **PALO NEGRO 20 BOLSITAS, CAJA - AGRÍCOLA LOS ESTEROS**

Cada bolsita contiene:

Hojas y tallos de *Leptocarpha rivularis*	2g

b. **PALO NEGRO 125 GRAMOS, ENVASE - AGRÍCOLA LOS ESTEROS**

Cada envase contiene:

Hojas y tallos de *Leptocarpha rivularis*	125g

c. **PALO NEGRO 90 CÁPSULAS, FRASCO – GRÜNE– LEBEN**

Cada cápsula contiene:
Polvo de *Leptocarpha rivularis* 400 mg aprox.

d. **PALO NEGRO 500 mL INFUSIÓN, FRASCO – GRÜNE–LEBEN**

Cada 50 mL de solución contiene
Infusión de *Leptocarpha rivularis* preparada con: agua, metilparabeno, sorbato de potasio
Excipientes:
Ácido cítrico, goma xantana, sucralosa

FORMA DE PRESENTACIÓN: de acuerdo a lo señalado en los rótulos de los productos requisados, la forma de presentación de cada producto es la siguiente:

a. **PALO NEGRO 20 BOLSITAS, CAJA – AGRÍCOLA LOS ESTEROS:** hierba deshidratada para infusión.

b. **PALO NEGRO 125 GRAMOS, ENVASE – AGRÍCOLA LOS ESTEROS:** hierba deshidratada para infusión

c. **PALO NEGRO 90 CÁPSULAS, FRASCO – GRÜNE– LEBEN:** cápsulas

d. **PALO NEGRO 500 mL INFUSIÓN, FRASCO – GRÜNE–LEBEN:** infusión

RÓTULADO:

a. **PALO NEGRO 20 BOLSITAS, CAJA – AGRÍCOLA LOS ESTEROS:** El producto se presenta en una caja de cartón, que contiene una bolsa sellada, con 20 bolsitas para infusión. **Cara principal de la caja**: El nombre Palo Negro, seguido de *Leptocarpha rivularis*, y la frase "ancestral tea from Patagonia" y su traducción al español. Arriba el logo de la empresa "Agrícola Los Esteros" que corresponde a una imagen con una taza para infusión. **Cara lateral izquierda de la caja**: tanto en idioma español como inglés señala: *Modo de uso: vierta en un tazón 300 ml de agua hervida junto a una bolsita de Palo negro (Leptocarpha rivularis). Tape y deje reposar 10 minutos. Consuma caliente o frío, tres veces al día. Consuma diariamente*. A continuación, señala, también en inglés y español: *Las bolsitas de papel filtrado de esta caja, no tienen etiqueta con hilo ni sobres individuales de papel, con el fin de contribuir a preservar nuestros recursos forestales y eliminar los desperdicios excesivos*. Luego detalla condiciones de almacenamiento. Producto, procesado y envasado en su origen por: Agrícola Los Esteros SpA Rut 76396801-4, Fca. Km 3,5 camino Los Lagos a Panguipulli s/n, sector El Cuatro, Los Lagos, Chile. **Cara posterior de la caja**: Señala en inglés y español, *Esta exclusiva hierba sólo crece y procesa en las puertas de la Patagonia. Durante siglos ha ayudado a mejorar la calidad de vida de quienes la consumen, y es producida por familias comprometidas con la calidad total y con usted*. Agrega Fecha de vencimiento, N° de lote, número telefónico, correo electrónico, dirección web www.palonegrochile.com. **Cara lateral derecha de la caja:** Información nutricional. Señala, además, Contenido: "100% de hojas y tallos de *Leptocarpha rivularis".*
b. **PALO NEGRO 125 GRAMOS, ENVASE – AGRÍCOLA LOS ESTEROS:** El producto se presenta en forma de bolsa sellada. **Cara anterior de la bolsa**: El nombre Palo Negro, seguido de *Leptocarpha rivularis*, y la frase "Hierba tradicional del Sur de chile, naturalmente Libre de

cafeína". Arriba el logo de la empresa "Agrícola Los Esteros" que corresponde a una imagen con una taza para infusión y el logo que señala "por un mundo todo Kosher. **Cara posterior de la bolsa**: en idioma español señala: *Un regalo de la madre naturaleza proveniente del Sur de Chile directamente a usted. Ahí, gracias a las cristalinas aguas de la Cordillera de Los Andes y al fértil suelo de Los Esteros, cultivamos y cosechamos en plantaciones propias y familiares esta hierba única en el mundo. Este es un producto finamente seleccionado y en óptimas condiciones para ser consumido por todos quienes buscan una mejor calidad de vida.* Luego señala: *Modo de preparación: agregue una cucharada sopera colmada (6g) de Palo negro (Leptocarpha rivularis) a un litro de agua caliente. Resuelva, tape y deje reposar por al menos 10 minutos. Cuele y consuma caliente o frío en el transcurso del día. Consuma diariamente,* señala marcado con color rojo. A continuación, señala, consumir preferentemente antes de la fecha indicada en el envase. Luego detalla Información nutricional. Señala, además, Contenido: "100% de hojas y tallos de *Leptocarpha rivularis".* Posteriormente señala: *Este producto está libre de los alérgenos más comunes: mariscos, pescado, huevo, leche, maní, soya, nueces, almendras, avellanas y trigo.* condiciones de almacenamiento. A continuación, indica "Mayor información y Estudios Científicos en: www.palonegrochile.com. Luego detalla número telefónico, correo electrónico, condiciones de almacenamiento. Envasado en su origen por: Agrícola Los Esteros SpA Rut 76396801-4, Fca. Km 3,5 camino Los Lagos a Panguipulli s/n, sector El Cuatro, Los Lagos, Chile.

c. **PALO NEGRO 90 CÁPSULAS, FRASCO – GRÜNE- LEBEN:** El producto se presenta en forma de cápsulas, en un frasco plástico, que contiene 90 cápsulas. **Cara lateral izquierda del frasco**: Indica información nutricional, no indica la parte usada de la droga vegetal, ni la forma de preparación, peso neto 44g. **Cara principal del frasco**: Señala Grüne – Leben, líderes en medicina natural, PALO NEGRO, 90 cápsulas. **Cara lateral derecha de la cápsula**: Modo de uso: Tomar una porción con agua u otro líquido. Elaborado y envasado en Chile por Sercolar S.a., San Francisco 1599- Santiago, Fono225560633, Res. Seremi de Salud R.M. 02153 del 05/06/07. **Nota:** mediante correo electrónico dirigido a directora técnica de Sercofar, se le consultó por el nombre científico del vegetal usado en su producto. En respuesta a esta solicitud envía copia de correo electrónico de Droguería AG (proveedor de la materia prima), en el que se señala: *Junto con saludar y en relación con su consulta, comento que el nombre científico de la planta "Palo negro" es Leptocarpha rivularis.*

d. **PALO NEGRO 500 mL INFUSIÓN, FRASCO – GRÜNE-LEBEN:** El producto se presenta en forma líquida, en un frasco plástico, que contiene 500 ml. **Cara lateral izquierda del frasco**: Indica información nutricional, no indica la parte usada de la droga vegetal, y señala que se prepara a partir de una infusión de palo negro en la que se utiliza agua, metilparabeno y sorbato de potasio, contenido neto 500 ml. IDA entre 0 – 15 mg/kg de peso corporal. **Cara principal del frasco**: Señala Grüne – Leben, líderes en medicina natural, PALO NEGRO, libre de azúcar, con sucralosa, infusión, 500 mL. **Cara lateral derecha de la cápsula**: Modo de uso: Tomar dos porciones. Condiciones de almacenamiento. Elaborado y envasado en Chile por Sercolar S.a., San Francisco 1599- Santiago, Fono225560633, Res. Seremi de Salud R.M. 02153 del 05/06/07. **Nota:** mediante correo electrónico dirigido a directora técnica de Sercofar, se le consultó por el nombre científico del vegetal usado en su producto. En respuesta a esta solicitud envía copia de correo electrónico de Droguería AG (proveedor de la materia prima), en el que se señala: *Junto con saludar y en relación con su consulta, comento que el nombre científico de la planta "Palo negro" es Leptocarpha rivularis.*

PROPIEDAD ATRIBUIDA: A ninguno de los productos se le atribuyen propiedades, aunque están etiquetados y distribuidos como alimento.

COMENTARIOS: Se evaluará el ingrediente vegetal *Letcorpha rivularis*, conocido como "Palo negro", ya que este vegetal está presente en todos los productos antes descritos y además para que quede definida la categoría que le corresponde a este ingrediente vegetal.

a. **DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA:**
   i. *Leptocarpha rivularis* DC: Tribu Heliánteas. Fam.: Compuestas. Crece en el plano como en los cerros y primeros cordones de ambas cordilleras, entre el Maule y Valdivia, en lugares húmedos y expuestos al sol, junto a cursos de agua y en las orillas de los bosques. Especie chilena. Muy abundante. Corresponde a un arbusto ramoso, de 1 a 2 m de altura, con ramas delgadas, peludas cuando nuevas, poco leñosas, de corteza casi negra y finalmente estriada. Hojas opuestas o alternadas, simples, aovado-oblongas, con el borde aserrado, de tono verde oscuro por encima y mucho más claro por envés, pecioladas, de 5 a 10 cm de largo, con la lámina muy delgada, pero cubierta de verruguitas y pelos; olor penetrante, parecido al de manzanilla. Flores compuestas, de cabezuelas axilares y terminales, largamente peciolada, con flores liguladas en el borde y tubulosas en el centro. Floración: de octubre a mayo. Fruto: un aquenio negro, de 3 mm de longitud, provisto de dos pequeñas púas. Usos: En medicina popular, el palo negro se emplea en infusiones contra afecciones estomacales (*Adriana E. Hoffmann J., Flora Silvestre de Chile, Zona Araucana, arboles arbustos y enredaderas leñosas. Segunda Edición Revisada y Aumentada. Ediciones Fundación Claudio Gay, 1991*).
   ii. Imagen de la planta:

   iii. Corresponde al vegetal *Leptocarpha rivularis* DC, denominado vulgarmente como Cüdu-mamëll en lengua Mapudungun, es una planta de la familia Asteraceae, y del género *Leptocarpha*; es un arbusto de hasta 2 metros de altura, hoja perenne, ramas poco delgadas de aspecto leñoso y con corteza oscura, por la cual recibe el nombre de *Palo Negro,* es nativo del sur de Chile; se encuentra en los bosques húmedos de Valdivia, lugar donde florece en primavera y verano, y genera frutos en otoño.

b. **USO TRADICIONAL**:
   i. Antecedentes describen un uso tradicional ante alteraciones gastrointestinales y estomacales desde la era prehispánica. En el libro de Botánica indígena de Ernesto Wilhelm de Mösbach, se señala que *"palo negro" es muy estimado y buscado para remedios: estomacales, digestivos y carminativos.*
   ii. En la actualidad el uso tradicional en Chile se ha extendido a actividad anticancerígena.

c. **COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS:**
   i. Este vegetal al igual que las demás plantas de la familia asteraceae, posee como metabolitos secundarios compuestos sesquiterpénicos, acetilénicos y lactonas sesquiterpénicas; dentro de los sesquiterpenos se encuentra el compuesto conocido como *heliantólido leptocarpín*, como principal principio activo, (*Jiménez-González A, Quispe C, Bórquez J, Sepúlveda B, Riveros F, Areche C, et al. UHPLC-ESI-ORBITRAP-MS analysis of the native Mapuche medicinal plant palo negro (Leptocarpha rivularis DC.-Asteraceae) and evaluation of its antioxidant and cholinesterase inhibitory properties. J Enzyme Inhib Med*

Chem [Internet]. 2018 [citado 25 de septiembre de 2018]; Disponible en: http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ienz20).

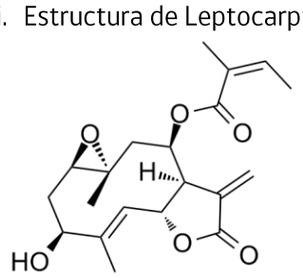
ii. De las hojas de *Leptocarpha rivularis* se aisló y determinó la estructura de dos nuevas lactonas sesquiterpénicas del tipo heliangolida, se describen como leptocarpina y dihidroleptocarpina de (*Martínez, R., Núñez-Alarcón, J. A., & de Vivar, A. R. (1979). Leptocarpin and 17, 18-dihydroleptocarpin, two new heliangolides from Leptocarpha rivularis. Phytochemistry, 18(9), 1527-1528.*)

iii. Además, las hojas y tallos de este vegetal contienen aceite esencial, que corresponden a sustancias lipofílicas como alfa-tuyona, beta-cariofileno, óxido de cariofileno, y son causantes de algunas de las características antioxidantes del Palo Negro.

iv. Estudios fitoquímicos parciales previos de esta planta mostró la presencia de sesquiterpenos y entre ellos, el principal compuesto activo es la heliangolida leptocarpina, que es un inhibidor de NF-kappa B y, por lo tanto, citotóxico para células cancerígenas. El palo negro es también fuente de compuestos lipofílicos presentes en su aceite esencial, a saber: alfa-tujona, beta-cariofileno y óxido de cariofileno, que se cuantificaron principalmente en las hojas e informado responsables de algunas de las propiedades antioxidantes de la planta. Sin embargo, no está tan clara la composición química de los extractos acuosos se ha informado (*Jiménez-González, A., Quispe, C., Bórquez, J., Sepúlveda, B., Riveros, F., Areche, C., ... & Simirgiotis, M. J. (2018). UHPLC-ESI-ORBITRAP-MS analysis of the native Mapuche medicinal plant palo negro (Leptocarpha rivularis DC.-Asteraceae) and evaluation of its antioxidant and cholinesterase inhibitory properties. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 33(1), 936-944.*)

v. Lactonas sesquiterpénicas: También llamados sesquiterpenos lactónicos, son compuestos químicos de naturaleza terpenoide caracterizados principalmente por estructuras de 15 carbonos y enlazados comúnmente en posiciones en C_6-C_7 o C_7-C_8 a gamma-butirolactonas. Dichas estructuras lactónicas pueden presentar configuración Cis o Trans y están sustituidas en posición alfa por grupos alquilo, metileno exociclos, entre otros. Están presentes en algunos taxones de plantas, donde destacan las Asteraceae. Algunas lactonas sesquiterpénicas representativas son: partenina, aiislada de la planta *Parthenium hysterophorus* y *Ambrosia psilostachya*; lactupicrina (aislada de *Cichorium intybus*4) y la Leptocarpina que se encuentra en

vi. Estructura de Leptocarpina:



Leptocarpina

vii. Leptocarpina en medio ácido:

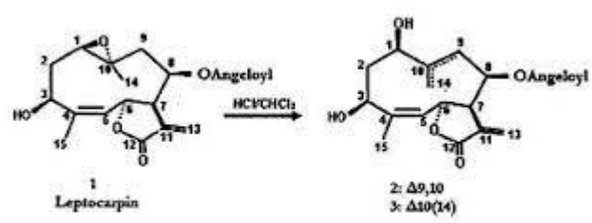


Figure 1. Acid treatment of leptocarpin with a saturated Chloroformic solution of HCl.

viii.

d. ACTIVIDAD DE SUS INGREDIENTES ACTIVOS:

i. Se ha observado que el compuesto *heliantólido leptocarpín*, inhibe el complejo proteico que

controla la transcripción del ADN a nivel celular (NF-KB), por lo que se deduce que posee actividad citotóxica en células cancerígenas.

ii. Los aceites esenciales presentes en esta planta, poseen actividad antioxidante, y se han hecho estudios sobre la propiedad antioxidante de las hojas y tallos del arbusto, el cual no estaría presente en la flor (*Montenegro, I., Ramírez, I., Dorta, F., Madrid, A. and Seeger, M. (2017). Micropropagation and determination of the antioxidant capacity of the Leptocarpha rivularis. In: X PLANT BIOLOGY MEETING. [Online] Valdivia: Chilean Society of Plant Biologists, p.153. Disponible en: http://www.biologiavegetal.cl/category/events/*).

e. **ESTUDIOS CON EL VEGETAL**: Se ha podido recopilar una gran cantidad de trabajos científicos (tesis y publicaciones científicas) sobre este vegetal, que se han realizado principalmente durante estos últimos años:

i. En un trabajo se aisló y determinó la estructura de dos nuevas lactonas sesquiterpénicas del tipo heliangolida, leptocarpina y 17,18-dihidroleptocarpina de *Leptocarpha rivularis*. La estructura de la leptocarpina se estableció como el éster 8β-angeloilo de 3β,8β-dihidroxi germacra-4,11(13)-dien-1(10)-oxido-6α,12-olida. El segundo componente fue el 17,18-dihidro derivado de la leptocarpina. En este trabajo la leptocarpina se aisló a partir del material vegetal recolectado en el Jardín Botánico de la Universidad Austral de Chile en Valdivia, utilizando las **hojas secas**, las cuales se molieron y sometieron a un proceso de extracción mediante diclorometano en frío (CHCl). (*Martínez, R., Núñez-Alarcón, J. A., & de Vivar, A. R. (1979). Leptocarpin and 17, 18-dihydroleptocarpin, two new heliangolides from Leptocarpha rivularis. Phytochemistry, 18(9), 1527-1528.*)

ii. En un trabajo de tesis se investigó el efecto hipoglicemiante de la administración oral del infuso de *Leptocarpha rivularis* en ratas diabéticas inducidas con Aloxano®. Concluyendo que el tratamiento de ratas diabéticas con la planta no sólo demostró un efecto antidiabético, sino también beneficiosos efectos hipocolesterolémicos y de otros parámetros bioquímicos analizados. Todos estos resultados fueron comparados con ratas diabéticas control y normales tratadas. Concluyendo que los hallazgos proporcionan bases bioquímicas para el uso de *Leptocarpha rivularis* en el manejo de pacientes con Diabetes mellitus tipo II, y confirma el rol de esta planta como una terapia de uso tradicional (*Martínez, R. (2005). EFECTO HIPOGUCEMIANTE DE LA INFUSIÓN DE Leptocarpha rivularis EN RATAS SPRAGUE-DAWLEY DIABÉTICAS TIPO II POR INDUCCIÓN CON ALOXANO*). **Nota: en este trabajo sólo se indica que se utilizó infuso de la planta *Leotocarpha rivularis*, no indica la procedencia del vegetal, ni la parte usada, ni menos la forma de preparación del infuso.**

iii. El trabajo titulado: SYNTHESIS AND CONFORMATIONAL ANALYSIS OF LEPTOCARPIN DERIVATIVES. INFLUENCE OF MODIFICATION OF THE OXIRANE RINGON LEPTOCARPIN'S CYTOTOXIC ACTIVITY. En el cual se evaluó el comportamiento de leptocapina y los compuestos obtenidos luego de someterla a un medio ácido. Para ello se usó leptocarpina aislada y purificada la cual se obtuvo mediante técnicas de extracción con acetato de etilo o etanol y el extracto obtenido se purificó mediante métodos cromatográficos en columnas de gel de sílice y mezclas de disolventes de polaridad creciente. La leptocarpina y sus compuestos derivados fueron establecidos por espectroscopía. La leptocarpina- ***compuesto 1*** y sus derivados: (8b-angeloil-1b,3b-dihidroxi-4,10-dimetil, -D11(13) metilen-4Z,9Z-dieneheliangol-6 ,12-olida 2) - ***compuesto 2*** y (8b-angeloil-1b,3b-dihidroxi-4-metil-D11(13), D11(14)-dimetilen-4Z-eneheliangol-6,12-olida 3)- ***compuesto 3***, fueron solubles en DMSO acuoso al 0,1%, lo que permitió realizar estudios biológicos in vitro sobre estos compuestos. Los estudios de actividad biológica se realizaron con la mezcla de productos 2 y 3 y Leptocarpina. El trabajo concluye que, la transformación de la leptocarpina es un proceso relativamente sencillo y sin mayores problemas técnicos para su síntesis, salvo la separación y purificación de los productos. En las pruebas biológicas La síntesis de ADN y ARN no se ve afectada por la leptocarpina ni por los productos sintéticos, por lo que su actividad biológica no está en

este nivel. La leptocarpina produce un marcado efecto sobre la biosíntesis de proteínas en diferente medida en las líneas celulares cancerosas y, por otro lado, los productos sintéticos 2 y 3 tienen un efecto muy bajo en comparación con la leptocarpina, lo que demuestra la importancia del anillo de oxirano para la actividad biológica. La efectividad de los resultados podría determinar que la leptocarpina es un agente antineoplásico de origen natural que puede ser utilizado en diferentes tipos de neoplasias. El comportamiento de la Leptocarpina en un ambiente ácido permite pensar que esta molécula es sensible a las condiciones ácidas y por lo tanto como posible futuro fármaco, no debe administrarse por vía oral, a menos que se proteja del ácido gástrico; porque se transforma en estructuras de heliangólidos con actividad biológica disminuida. (*Martínez, R., Kesternich, V., Carracso, H., Álvarez-Contreras, C., Montenegro, C., Ugarte, R., ... & Cárcamos, J. (2006). SYNTHESIS AND CONFORMATIONAL ANALYSIS OF LEPTOCARPIN DERIVATIVES: INFLUENCE OF MODIFICATION OF THE OXIRANE RINGON LEPTOCARPIN'S CYTOTOXIC ACTIVITY. Journal of the Chilean Chemical Society, 51(4), 1010-1014*).

iv. En el trabajo de Hermann M. Niemeyer, se examinó la composición química de los aceites esenciales de cinco Asteraceae aromáticas nativas de Chile mediante GC y GC/MS. Se usó material vegetal obtenido a partir de las partes aéreas, recolectado en época de floración, el cual se secó al aire, cortado en trozos pequeños, y sometido a hidrodestilación durante 3 h utilizando un aparato tipo Clevenger modificado. Los aceites obtenidos se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y almacenado en ampollas de vidrio a 4°C hasta su análisis. Los principales aceites esenciales identificados de *Leptocarpha rivularis* DC., fueron óxido de cariofileno (25,2%), el β-cariofileno (21,1%) y α-tujona (*11,9%). (Niemeyer, H. M. (2009). Composition of essential oils from five aromatic species of Asteraceae. Journal of Essential Oil Research, 21(4), 350-353*)

v. El trabajo titulado "Cytotoxic and Apoptotic effects of Leptocarpin, a plant-derived sesquiterpene lactone, on human cancer cell lines, el cual estudia la lactona sesquiterpénica "leptocarpina" (LTC) por su actividad biológica como anticancerígena, analizando el mecanismo de citotoxicidad de LTC en diferentes líneas celulares de cáncer. El resultado del trabajo muestra que en todos los casos LTC induce un proceso apoptótico e inhibición de NF-kB. Lo cual fue confirmado mediante la observación de la condensación de cromatina, fragmentación nuclear, liberación de citocromo c en el citosol y aumento de la actividad de la caspasa-3. También se encontró que LTC es un inhibidor eficaz de NF-kB, lo que sugiere que la citotoxicidad inducida por leptocarpina implica en algún grado la inhibición de la vía de señalización de NF-kB. Comparando la concentración de inhibición con otras lactonas sesquiterpénicas, determinando su similaridad e incluso menor al comparar con partenolido. Concluyendo que la leptocarpina es una molécula muy interesante que podría ser considerada como agente terapéutico para el tratamiento del cáncer. En este trabajo se usó como material vegetal **las hojas de la planta** proveniente del jardín botánico de la universidad Austral, las cuales fueron sometidas a métodos de extracción con solventes que permitieron el aislamiento de la Leptocarpina (*Bosio, C., Tomasoni, G., Martínez, R., Olea, A. F., Carrasco, H., & Villena, J. (2015). Cytotoxic and apoptotic effects of leptocarpin, a plant-derived sesquiterpene lactone, on human cancer cell lines. Chemico-Biological Interactions, 242, 415-421*).

vi. Se investigó la obtención de compuestos con actividad antioxidante de extractos de *Leptocarpha rivularis* mediante la técnica de extracción por CO_2 supercrítico. En este trabajo se usaron **hojas secas** de *L. rivularis*, libres de tallos, las que fueron adquiridas localmente en Valdivia, Chile, las cuales fueron molidas, tamizadas y luego colocadas en un desecador con gel de sílice y posteriormente mantenidas en envases protegidos de la luz. La extracción con CO_2 supercrítico se llevó a cabo en un equipo adecuado que controló presión y T°. Se realizó un período de extracción estática, seguido de uno de extracción dinámica. La masa de extractos obtenida se pesó y calculó el rendimiento de extracción (Y1), expresándolo en

gramos de extracto por kilogramo de sustrato seco (g/kg d.s.), las extracciones se realizaron por duplicado. Por otra parte, se realizó una extracción mediante hidrodestilación, la cual se hizo mediante la inmersión de hojas secas (40 g) en 500 mL de agua y destilación durante 4 h. El aceite separado se recogió en un vial y se pesó inmediatamente después, el cual se refrigeró antes del análisis. Luego se realizó una extracción hidroetanólica con 20 g de hojas secas con 120 mL de solvente binario etanol/agua (80:20, v/v) a 40°C por 3 h. El extracto se filtró al vacío y luego el solvente se evaporó a baja presión a 50∘C para obtener el extracto hidroetanólico. Estas extracciones convencionales se realizaron por duplicado. El trabajo estudió los efectos de la temperatura y la presión en la extracción de aceites esenciales de *L. rivularis*, utilizando la técnica de CO_2 supercrítico. Confirmando el aumento de la recuperación de aceite esencial y además de la actividad antioxidante, cuando la temperatura disminuyó y la presión aumentó, comparado con la hidrodestilación. Por otra parte, la extracción hidroetanólica, produjo el mayor contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, sin embargo, el extracto supercrítico también presentó alta actividad antioxidante, ya que su valor IC_{50} fue menor que el del extracto hidroalcohólico, lo que significa que presentará mejor actividad antioxidante en sistemas emulsionados. En el extracto se encontraron tres terpenoides con importantes propiedades biológicas. (*Uquiche, E., & Garcés, F. (2016). Recovery and antioxidant activity of extracts from Leptocarpha rivularis by supercritical carbon dioxide extraction. The Journal of Supercritical Fluids, 110, 257-264.*)

vii. Una memoria de título para ingeniero agrónomo, analiza la factibilidad de un proyecto de acopio del Palo Negro (*Leptocarpha rivularis* DC.) como materia prima para generar infusión medicinal y comercializar en la región de Los Ríos. Se presenta un estudio de mercado tomando como base información estadística secundaria, con el fin de determinar la oferta y demanda del producto y a su vez, generar un análisis financiero para evaluar el proyecto a través de los indicadores económicos, ideando estrategias de comercialización y marketing. Señala que las evaluaciones y análisis obtenidos determinaron que el proyecto es altamente factible, tomando en consideración los riesgos y las dificultades que tiene el mercado de medicinas alternativas en Chile, el cual es incipiente, con escaso conocimiento disponible en esta área. (Memoria de Título: Carlos Laing Valdes, Factibilidad de un acopio y comercialización de Palo Negro "Leptocarpha rivularis" en la región de Los Ríos. 2016)

viii. En un trabajo de investigadores chinos, se determina si leptocarpina (LTC) suprime la proliferación, migración e invasión de células MG63, y si el receptor del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1R) es uno de los objetivos en la supresión del osteosarcoma. La LTC se extrajo de **las hojas de** *Leptocarpha rivularis*, las cuales fueron sometidas a métodos de extracción con solventes que permitieron el aislamiento de la LTC. En este trabajo indican que la materia prima fue enviada a Scistd Testing Institute (Qingdao, China) para identificación estructural por espectroscopia, mediante técnicas (RMN 1H y 13C, IR, MS). Posteriormente la muestra de LTC se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich), con concentración primaria, ajustando a 1 mg/mL y almacenado a -20°C. Antes de usar, LTC (1 mg/mL) se diluyó con un medio adecuado según las concentraciones dadas de 1,0 a 25,0 μM. Se determinó la citotoxicidad de LTC mediante métodos descritos. Como resultados se estableció una concentración inhibidora del 50 % (IC_{50}) de LTC de 23.533 μM, concluyendo que LTC suprimió la proliferación, migración e invasión del osteosarcoma al inhibir la expresión de IGF-1R. IGF-1R (*Zheng, S. W., Wan, W. G., Miao, H. X., Tang, R., Wang, B., Huang, Q. Z., ... & Sun, C. H. (2017). Leptocarpin suppresses proliferation, migration, and invasion of human osteosarcoma by targeting type-1 insulin-like growth factor receptor (IGF-1R). Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research, 23, 4132.*).

ix. En el trabajo titulado UHPLC-ESI-ORBITRAP-MS analysis of the native Mapuche medicinal plant Palo Negro (*Leptocarpha rivularis* DC. - Asteraceae) and evaluation of its antioxidant

and cholinesterase inhibitory properties: Se identifican metabolitos biológicamente activos mediante la técnica de HPLC/UV (DAD)-espectrometría de masas (HPLC/MS), de un extracto con etanol, otro con acetil acetato y de una infusión acuosa, todos ellos preparados a partir de las **hojas y tallos** de la planta *L. rivularis*. Se encontraron y caracterizaron treinta y siete compuestos en el extracto acuoso (infusión), que incluye sesquiterpenos, flavonoides, oxilipinas, ácidos orgánicos y ácidos fenólicos. Además, se determinaron las actividades antioxidantes e inhibidoras de la colinesterasa. Se encontró una gran cantidad de polifenoles totales en la infusión. Concluyendo que esta planta es candidata para el aislamiento de compuestos que puede ser útil para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. También se destaca la importancia de los compuestos fenólicos (*Jiménez-González A, Quispe C, Bórquez J, Sepúlveda B, Riveros F, Areche C, et al. UHPLC-ESI-ORBITRAP-MS analysis of the native Mapuche medicinal plant palo negro (Leptocarpha rivularis DC.-Asteraceae) and evaluation of its antioxidant and cholinesterase inhibitory properties. J Enzyme Inhib Med Chem [Internet]. 2018 [citado 25 de septiembre de 2018]; Disponible en: http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ienz2*).

x. Un trabajo de memoria de título buscó evaluar cuál es el efecto que producen los **extractos de la flor** de *Leptocarpha rivularis* (Palo negro) sobre muestras de semen con alteraciones espermáticas, por sus propiedades antioxidantes disminuyendo los radicales libres, y así aumentando la capacidad de combatir el estrés oxidativo en la función testicular. No explica la forma de preparación de los extractos, al parecer se trata de extractos utilizando las flores de *L. rivularis* y usando distintos solventes como hexano (n-hexano), diclorometano (DCM), acetato de etilo (AcOEt), metanol (MeOH) y Dimetilsulfóxido (DSMO). El trabajo señala que hay variados resultados, que de forma general se aprecia que los extractos MeOH afectan positivamente el balance redox de los espermatozoides, disminuyendo la lipoperoxidación y mejorando la relación de glutatión (GSH/GSSG). Pero, sin embargo, los extractos n-hexano, DCM y AcOEt afectan de forma negativa a los espermatozoides aumentando la lipoperoxidación de algunos de los pacientes, pero esto a su vez está influenciado por la variabilidad individual que presenta cada paciente ya que no puede ser simplemente atribuible al diagnóstico propio del espermiograma. Por otro lado, en aquellos pacientes que fueron tratados con extractos MeOH se observó una tendencia en los valores que destaca una disminución de la lipoperoxidación. Señala, además que se observa que la mayoría de las muestras al ser tratadas con los extractos, aumentaron su capacidad antioxidante. En cuanto al efecto protector de los extractos (lipoperoxidación de los espermatozoides), por medio de la prueba de TBARS se aprecia que en la mayoría de las muestras los extractos disminuyen la peroxidación de lípidos. Indica también que los resultados pueden deberse a las características de los extractos utilizados, aunque en el estudio no se realizó la medición de los componentes que arrastran los solventes, según la literatura el Acetato de Etilo arrastra flavonoides como ácidos fenólicos, flavonoles y antiocianinas, los cuales son flavonoides de bajo peso molecular, que cuando se encuentran en exceso comienzan a oxidarse generando el radical fenoxi que produce la lipoperoxidación. Por su parte, los extractos n-Hexano arrastran lípidos y aceites esenciales. Mientras que el DCM arrastra terpenoides y esteroles los que tienen capacidad antioxidante, pero en menor grado que los fenoles. Los extractos metanólicos arrastran flavonoides, los cuales tienen una mayor capacidad antioxidante en comparación a los fenoles, además se aprecia en los resultados que una vez que se aplica el extracto metanólico hay una tendencia de reducir la lipoperoxidación. En el trabajo, también se plantea que sería interesante investigar si los extractos de la planta *Leptocarpha rivularis* tienen un efecto protector sobre espermatozoides u otros tipos de células humanas realizando un control positivo de oxidación como el peróxido de hidrógeno y un tratamiento antioxidante con N-acetilcisteína. Paralelamente adicionar un análisis de la ficha clínica del paciente con énfasis en los estilos de vida, alimentación, ambiente, etc. sería una buena

forma de evaluar todos los factores que podrían influenciar la variabilidad individual de los sujetos de estudio. El trabajo concluye que los resultados muestran que aquellos pacientes que fueron tratados con los extractos MeOH, afectan el balance redox de manera positiva ya que reduce la lipoperoxidación y mejoran la relación de glutatión (GSH/GSSG), ya que este extracto con MeOH muestra una tendencia a normalizar los valores en cada paciente respecto a su control, mientras que los extractos n-hexano, DCM y AcOEt en algunos pacientes no produjo el efecto antioxidante esperado (*Memoria: Efecto de los extractos de la flor del palo negro (Leptocarpha rivularis) en el balance redox de espermatozoides humanos de pacientes de la Unidad de Reproducción Humana de la Universidad de Valparaíso, durante el año 2019*).

xi. En un trabajo de tesis para conducir al grado de magister, se evaluó el efecto citotóxico y proapoptótico de **extractos de la flor** de *Leptocarpha rivularis* sobre diferentes líneas celulares de cáncer. Teniendo en cuenta que del palo negro es posible obtener extractos que contiene diversos metabolitos secundarios, tales como sesquiterpenos y lactonas sesquiterpénicas, que se caracterizan por tener efectos anticancerígenos y antiinflamatorios. Así mismo también de los extractos de *L. rivularis* se pueden obtener flavonoides y triterpenos, los cuales podrían tener un posible valor biológico y farmacológico para el tratamiento de diversos tipos de enfermedades y de tumores malignos, debido a una probable actividad citotóxica por su preferencia hacia las células tumorales y las células madre del cáncer, además de efectos antiinflamatorios. En este trabajo el material vegetal seco, fue utilizado para elaborar extractos seriados con solventes de polaridad creciente, los cuales fueron extraídos en orden de menor a mayor polaridad: hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol. Se obtuvieron 4 extractos de polaridad creciente de la flor de palo negro (hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol) utilizados en la investigación. Los extractos en diferentes concentraciones (0.625, 1.25, 2.5, 3.75, 6.25, 12.5, 25 y 37.5 µg/mL) se probaron en líneas celulares de: HEK-293 (línea celular embrionaria de riñón), MCF-7 (línea celular de cáncer de mama derivada de adenocarcinoma), PC-3 (línea celular de cáncer de próstata derivada de adenocarcinoma) y HT-29 (línea celular de cáncer de colon derivada de adenocarcinoma). Las células viables fueron cuantificadas mediante el método de tinción con sulforodamina B. Las diferentes líneas celulares fueron tratadas por 72 horas con los diferentes extractos y como resultado mostraron en general, una disminución en la viabilidad celular dependiente de la concentración del extracto de la flor de palo negro. En cada caso se evaluaron parámetros que dan cuenta de la viabilidad celular. La investigación señala en forma general que los extractos obtenidos de la flor de palo negro reducen la permeabilidad de membrana mitocondrial y concluye que los extractos obtenidos de la flor de palo negro con los solventes diclorometano, acetato de etilo y hexano disminuyen de forma significativa la viabilidad celular en las líneas celulares estudiadas de forma dosis dependiente y presentan un alto índice de selectividad, además, activan a caspasas en las líneas celulares estudiadas y finalmente inducen a cambios morfológicos característicos de la muerte celular por apoptosis (*Tesis: Jorge Moreira Jara "Evaluación del efecto citotóxico y proapoptótico de extractos de la flor de palo negro (Leptocarpha rivularis) sobre diferentes líneas celulares de cáncer". Universidad de Valparaíso de Chile, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina "Magíster en Ciencias Médicas Mención Biología Celular y Molecular", 2019*).

xii. El trabajo titulado In vitro propagation of *Leptocarpha rivularis*, a native medicinal plant, desarrolla una técnica de cultivo in vitro de la planta, para la obtención de biomasa necesaria para su propagación, considerando la importancia que tienen los extractos de esta planta por sus propiedades medicinales, las cuales son atribuibles a sus metabolitos secundarios, identificados principalmente como flavonoides y terpenos, entre los cuales se destaca la leptocarpina, que ha cobrado importancia como potente anticancerígeno (*Dorta, F., Polanco, V., Ramírez, I., Seeger, M., Madrid, A., & Montenegro, I. (2020). In vitro propagation*

of Leptocarpha rivularis, a native medicinal plant. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 56(6), 827-832).

xiii. El trabajo Chemical Composition, Antioxidant and Anticancer Activities of *Leptocarpha rivularis* DC Flower Extracts, confirma en algunos aspectos el estudio realizado en el 2015 por Bosio, en este trabajo se hizo una evaluación de la actividad antioxidante y anticancerígena de **extractos de flores** de *Leptocarpha rivularis* DC usando como solventes (n-hexano (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etilo (AcOEt) y etanol (EtOH)). Los extractos se compararon en cuanto a contenido total de flavonoides y fenoles, actividad antioxidante, potencial antioxidante, propiedades antioxidantes reactivas totales y absorbancia de radicales de oxígeno, además se evaluó viabilidad celular. Los extractos más activos se analizaron mediante análisis cromatográfico (GC/MS) y se evaluaron las rutas apoptóticas. El trabajo concluye que, los extractos de Hex, DCM y AcOEt redujeron la viabilidad celular, provocaron cambios en la morfología celular, afectaron la permeabilidad de la membrana mitocondrial e indujeron la activación de la caspasa en las líneas celulares tumorales HT-29, PC-3 y MCF-7. Estos efectos fueron generalmente menos pronunciados en la línea celular HEK-293 (células no tumorales), lo que indica una clara selectividad hacia las líneas celulares tumorales. Los autores atribuyen la probable actividad del extracto a la presencia de lactonas sesquiterpénicas, en combinación con otros componentes como esteroides y flavonoides (*Montenegro, I., Moreira, J., Ramírez, I., Dorta, F., Sánchez, E., Alfaro, J. F., ... & Seeger, M. (2020). Chemical composition, antioxidant and anticancer activities of Leptocarpha rivularis dc flower extracts. Molecules, 26(1), 67.*).

xiv. Otro trabajo realizó cultivo de células vegetales como fuente de material vegetal para obtener metabolitos bioactivos. En este trabajo se analiza la propagación in vitro de *Leptocarpha rivularis*. Se probaron y optimizaron diferentes medios para la introducción, pasos de propagación y enraizamiento del proceso de micropropagación. Indicando que al final de este proceso, el 83% de las plantas se aclimataron con éxito en condiciones de invernadero. El procedimiento fue realizado mediante la Inducción de callo desde el segmento internodal del tallo y se realizó utilizando diversas combinaciones de fitohormonas. A continuación, se evaluó la composición química de extractos y callos obtenidos de plantas clonales y los resultados indican que los perfiles fitoquímicos de extractos de plantas micropropagadas son como los encontrados para plantas recolectadas de hábitats naturales, siendo la leptocarpina (LTC) el componente principal. Sin embargo, no se detectó LTC en el extracto de callos. Células HeLa y CoN, tratadas con LTC o extractos de plantas micropropagadas, exhiben una disminución importante en la viabilidad celular y una disminución drástica en expresión génica de IL-6 y mmp2, genes asociados a actividad cancerígena, estos efectos son más importantes en las células cancerosas que en las células normales. Concluyendo que, se podría desarrollar *L. rivularis* micropropagada como una fuente potencial de agentes antiproliferativos eficientes (*Rubio, J., Arias, G., Robles-Kelly, C., Silva-Moreno, E., Espinoza, L., Carrasco, H., & Olea, A. F. (2022). Phytochemical Profiling and Assessment of Anticancer Activity of Leptocarpha rivularis Extracts Obtained from In Vitro Cultures. Plants, 11(4), 546.*).

DISCUSIÓN:

De acuerdo a la información revisada es posible señalar que:

- El vegetal *Leptocarpha rivularis*, ha sido usado tradicionalmente con fines terapéuticos y no con fines alimenticios, actualmente se promociona para el tratamiento del cáncer.
- Toda la planta posee lactonas sesquiterpénicas las que están distribuidas en distintas proporciones en los órganos de la planta. También la planta posee aceites esenciales, que se encuentran principalmente en la flor.
- La lactona sesquiterpénica "Leptocarpina", que es la que hasta ahora ha sido más estudiada por su acción antitumoral, se encuentra en mayor proporción en las hojas, seguida de la flor.

- El efecto farmacológico que producen los metabolitos secundarios de la planta, se debería a las lactonas sesquiterpénicas, en combinación con otros componentes como esteroides y flavonoides.
- Se han hecho estudios con diferentes tipos de extractos, incluyendo extractos acuosos, en animales de laboratorio e in vitro en líneas celulares, demostrando una actividad farmacológica, como hipoglicemiante, antiinflamatorio, para bajar el colesterol y como citotóxico para tratamiento del cáncer.
- Hay información no publicada de estudios clínicos preliminares, realizados en algunos centros hospitalarios los cuales se deberían regularizar.

- **CONCLUSIÓN**

El ingrediente vegetal *Leptocarpha rivularis* DC y los productos que lo contienen, incluyen los aspectos propios de un medicamento, por las siguientes razones:

a) Se trata de ingrediente de origen vegetal que se utiliza para uso oral;
b) Hay numerosos estudios que demuestran la actividad farmacológica de sus metabolitos secundarios como hipoglicemiante, antiinflamatorio, hipocolesterolémico y como citotóxico para tratamiento del cáncer;
c) El ingrediente vegetal ***Leptocarpha rivularis*** DC se clasifica como medicamento porque sus metabolitos secundarios, que corresponden a los ingredientes activos del vegetal actúan por medios farmacológicos;
d) Por lo tanto, dada la composición y la finalidad de uso de ***Leptocarpha rivularis*** DC, así como los antecedentes antes descritos, cumple con la definición de medicamento D.S. N° 3/10, art. 5°, número 18 y art.14°;

UNIDAD DE REGIMEN DE CONTROL SANITARIO Y MEDICINAS COMPLEMENTARIAS
AGENCIA NACIONAL DE MEDICAMENTOS
INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE