

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la
Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(10) Número de Publicación Internacional
WO 2012/100365 A1

(43) Fecha de publicación internacional
2 de agosto de 2012 (02.08.2012)

WIPO | PCT

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
A61K 36/185 (2006.01) A61K 127/00 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/CL2012/000001

(22) Fecha de presentación internacional:
27 de enero de 2012 (27.01.2012)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
183-2011 28 de enero de 2011 (28.01.2011) CL

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US):
POLANCO GONZÁLEZ, XIMENA, Laura [CL/CL];
Dresden 4640, San Miguel, Santiago, 8930009 (CL).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): LETELIER
MUÑOZ, María Eugenia [CL/CL]; Dresden 4640, San
Miguel, Santiago, 8930009 (CL). OSSANDÓN SALAS,
Enrique Antonio [CL/CL]; Dresden 4640, San Miguel,
Santiago, 8930009 (CL).

(74) Mandatario: MIRANDA MELO, Carla; Las palmeras
299, Centro de investigaciones, Farmacológicas y

Toxicológicas, Fac. Medicina, U. Chile, Santiago,
Santiago, 8350499 (CL).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección nacional admisible): AE,
AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR,
BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM,
KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA,
MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG,
NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,
RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA,
ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,
para toda clase de protección regional admisible):
ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ,
BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE,
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR,
HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL,
PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: USE OF A STANDARDISED DRY EXTRACT OF LEAVES OF *BUDDLEJA GLOBOSA HOPE*, BG-126, FOR THE TREATMENT AND PREVENTION OF GASTROINTESTINAL DISORDERS CAUSED BY TREATMENT WITH NITROFURANTOIN AND OTHER ANTIMICROBIALS

(54) Título : USO DE UN EXTRACTO SECO ESTANDARIZADO DE HOJAS DE *BUDDLEJA GLOBOSA HOPE*, BG-126, PARA EL TRATAMIENTO O PREVENCIÓN DE TRASTORNOS GASTROINTESTINALES CAUSADOS POR EL TRATAMIENTO CON NITROFURANTOÍNA Y OTROS ANTIMICROBIANOS

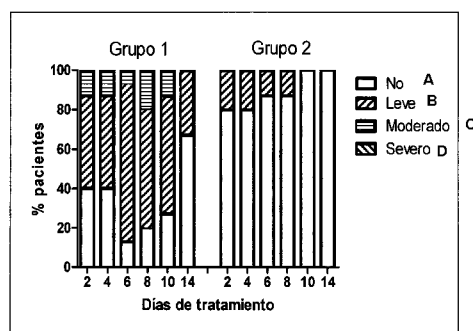


Figura 2

AA... % patients
BB... Days of treatment
CC... Group 1
DD... Group 2
EE None
FF Mild
GG Moderate
HH Severe

(57) Abstract: The invention relates to the use of a composition comprising extract of *Buddleja globosa Hope* and pharmacologically accepted excipients for the preparation of a phyto-pharmaceutical agent, a drug or a nutraceutical for the prevention of gastrointestinal disorders, particularly those associated with treatment with nitrofurantoin or gastric disorders produced by ulcers, gastric diseases or damage to the gastrointestinal tract. The aforementioned disorders can correspond to abdominal pain, dyspepsia, nausea, vomiting, diarrhea, constipation, inflammation and cephalalgia resulting from treatment with nitrofurantoin and other antimicrobials. In addition, the extract and the compositions thereof can be used to enhance the antibacterial action of nitrofurantoin, particularly against *Escherichia coli*.

(57) Resumen:

[Continúa en la página siguiente]

**Declaraciones según la Regla 4.17:**

- sobre el derecho del solicitante para solicitar y que le sea concedida una patente (Regla 4.17(ii))
- sobre la calidad de inventor (Regla 4.17(iv))

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))
- antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))

La presente invención se refiere al uso de una composición conformada por extracto de *Buddleja globosa* Hope y excipientes farmacológicamente aceptados para la preparación de un agente fitofarmacéutico, un medicamento o un nutraceutico para la prevención de trastornos gastrointestinales, particularmente aquellos asociados al tratamiento con nitrofurantoína o trastornos gástricos producido por úlceras, patologías gástricas o daño al aparato gástrico. Los trastornos pueden corresponder a dolores abdominales, dispepsia, náuseas, vómitos, diarrea, constipación, inflamación y cefaleas derivadas del tratamiento con nitrofurantoína u otros antimicrobianos. El extracto y sus composiciones son además, útiles para potenciar la acción antibacteriana de nitrofurantoína, especialmente contra *Escherichia coli*.

TITULO DE LA INVENCION

Uso de un extracto seco estandarizado de hojas de *Buddleja globosa Hope*, bg-126, para el tratamiento o prevención de trastornos gastrointestinales causados por el tratamiento con Nitrofurantoína y otros Antimicrobianos.

DESCRIPCION

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La infección urinaria o infección del tracto urinario (ITU), es la existencia de gérmenes patógenos en la orina, uretra, vejiga, riñón o próstata causada por una obstrucción del flujo de la orina, reflujo vesicouretral, orina residual, diabetes, embarazo, inmunodepresión, edad avanzada e infección previa. Entre los síntomas que acompañan a estas infecciones se pueden mencionar la polaquiuria (aumento de la frecuencia de las micciones de escasa cantidad), la disuria (escozor al orinar) o el tenesmo vesical (sensación de no haber orinado totalmente, con persistencia de los síntomas anteriores). Sin embargo, estas infecciones pueden ser también asintomáticas.

Las ITU se pueden dividir en dos categorías anatómicas: ITU de las vías bajas (uretritis, cistitis y prostatitis) e ITU de las vías superiores (pielonefritis aguda, absceso renal y absceso perinéfrico).

Las ITU bajas son muy comunes y afectan ampliamente a la población, desde niños pequeños hasta adultos mayores [Lee *et al.*, 2007]. La incidencia de esta enfermedad se incrementa con la edad debido a alteraciones asociadas con el envejecimiento, tales como la disminución de la inmunidad celular, disminución de las defensas de la vejiga seguida por uropatías obstructivas, disfunción neurogénica de la vejiga e incremento de la receptividad de las células uro-epiteliales hacia bacterias [Richards, 2004]. Estas infecciones son causadas por *Echerichia coli* (70-95%) y el porcentaje restante, causado por *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp.*, y *Staphylococcus saprophyticus* [Guay, 2008]. En el mundo, el porcentaje de ITU por infección con *E. coli* en adultos es cercano al 75% [Bishop, 2004].

Las mujeres son las principales afectadas por estas infecciones, con un 50 a 70% de riesgo y un 20 a 30% de que ésta infección se repita al menos una vez a lo largo de su vida. Esto es debido a la anatomía de sus vías urinarias (uretra más corta y la proximidad de ésta con el ano). En las mujeres de avanzada edad, la recurrencia de esta enfermedad aumenta, debido a que las defensas contra infecciones están disminuidas y además, porque se ven afectadas por otras patologías como la incontinencia urinaria y la diabetes, enfermedades que aumentan el riesgo de contraer una ITU [Lee *et al.*, 2007]. La gran mayoría de las recurrencias se producen por una re-infección provocada por bacterias provenientes de la flora intestinal normal, como la *E. coli* [Bishop, 2004]. Esto ha obligado a la comunidad médica a prescribir antibióticos en dosis bajas como una medida profiláctica.

En Chile, este tipo de infecciones es de interés público debido al desarrollo de resistencia a antibióticos y recurrencia a la infección [Guay, 2008; Cortés *et al.*, 2007]. En mujeres, las ITU ocurren en alta frecuencia, con una incidencia anual de un 10 a 15% [Guay, 2008]. En realidad, 40 a 50% de las mujeres podría sufrir al menos una ITU baja en el curso de su vida [Cortés *et al.*, 2007]. Además, las ITU bajas también son un problema importante para la salud pública geriátrica. Finalmente, la recurrencia de las ITU bajas en la población de mujeres chilenas (~30%) es un problema de salud pública adicional, alcanzando el 53% en mujeres mayores de 55 años de edad [Valdevenito, 2008]. Esta recurrencia se debe principalmente a la reinfección, no sólo por el desarrollo de resistencia bacteriana a los antibióticos, sino también a una mayor receptividad de las células uroepiteliales a estas bacterias en ciertos individuos [Valdevenito, 2008]. En un estudio realizado en Chile entre enero y septiembre del 2005, la *E. coli* fue responsable de un 88,5% de los casos de ITU en pacientes cuyo promedio de edad fue de 52 años. En el mundo, el porcentaje de ITU por infección con *E. coli* en adultos es cercano al 75% [Bishop, 2004; Cortés *et al.*, 2007; Valdebenito, 2008].

El tratamiento general para la ITU corresponde a la administración de antimicrobianos en periodos de 3 a 7 días. Los antimicrobianos más comúnmente usados son clotrimoxazol (sulfametoxazol + trimetoprima), ciprofloxacino, nitrofurantoína y algunas cefalosporinas. La elección del mejor agente antimicrobiano depende no sólo del tipo de agente infeccioso, sino también de la prevalencia de la resistencia en la comunidad, los efectos adversos potenciales, la farmacocinética del antimicrobiano y el tipo de población que se requiere tratar [Nicolle, 2002].

Entre estos fármacos profilácticos, la nitrofurantoína es uno de los más prescritos en Chile [Valdevenito, 2008], debido a que es uno de los pocos fármacos bactericidas que han conservado su eficacia en las ITU bajas, en contraste al clotrimoxazol, amoxicilina y ampicilina [Cortés *et al.*, 2007].

Nitrofurantoína: Reacciones adversas

La nitrofurantoína (N-(5-nitro-2-furfuriliden)-1-aminohidantoina) ha sido por más de 50 años, uno de los fármacos de elección para el tratamiento de la ITU no complicada, debido a que es efectiva contra infecciones provocadas por *E. coli*, *S. saprophyticus* y *K. pneumoniae*. Además, se utiliza como terapia profiláctica contra las ITU recurrentes, ya que permite reducir en un 95% las re-infecciones. Durante las últimas décadas, ha ido disminuyendo continuamente la utilización de este fármaco en esta indicación, debido al desarrollo de otros antimicrobianos que son más adecuados para las ITU. Sin embargo, debido al rápido crecimiento de resistencia de *E. coli* a los medicamentos estándar, a la baja tasa de resistencia que genera la nitrofurantoína en la población y a su bajo costo, actualmente este fármaco aparece como una excelente alternativa de tratamiento [Cortés *et al.*, 2007], a pesar de sus riesgos conocidos.

El mecanismo de acción de la nitrofurantoína es poco conocido. Al respecto existen reportes que indican que nitrofurantoína inhibe la síntesis de proteína de las bacterias [McOsker *et al.*, 1994]. Tras la administración oral, la nitrofurantoína se absorbe casi completamente. La semivida plasmática es de 20 a 30 minutos, y se alarga en caso de insuficiencia renal. En los tejidos se produce un rápido metabolismo del fármaco. Las concentraciones plasmáticas máximas sólo ascienden a alrededor de 1 mg/L, con lo que no se alcanzan concentraciones antibacterianas eficaces en plasma y tejidos. Por el contrario, alrededor del 30% de la administración de nitrofurantoína por vía oral se excreta en la orina sin ser biotransformada, llegando a alcanzar niveles entre 50 y 250 mg/L. Esto justifica su uso en infecciones de las vías urinarias bajas, ya que permite mantener las vías urinarias asépticas sin comprometer la flora intestinal normal [Nicolle, 2002]. Sin embargo, los estudios farmacodinámicos aún no han podido determinar con claridad el metabolismo del otro 70% y tampoco si el metabolismo puede generar metabolitos tóxicos, que contribuirían a los efectos secundarios asociados con este fármaco, especialmente los de carácter sistémico. Sólo existe evidencia de la nitroreducción enzimática de nitrofurantoína en estudios *in vitro*.

A pesar de sus ventajas, el uso de la nitrofurantoína se ve limitado debido a la alta incidencia de efectos adversos y a que su uso prolongado se ha asociado con daño sistémico [Guay, 2008]. Entre estos efectos adversos se encuentran la disfunción respiratoria [Witten, 1989; Bialas *et al.*, 1997; Goemaere *et al.*, 2008], daño pulmonar [Chudnofsky *et al.*, 1989], daño hepático [Penn *et al.*, 1982; Paiva *et al.*, 1992; Rossi *et al.*, 1988], polineuropatía periférica [Jacknowitz *et al.*, 1977; Jacknowitz, 1985], trastornos hematológicos [Gait, 1990] y gastrointestinales [Brumfitt *et al.*, 1998].

Primariamente, se ha postulado que la toxicidad pulmonar y hepática en los seres humanos [Martin, 1983a; Martin, 1983b; Minchin *et al.*, 1986; Moreno *et al.*, 1984; Rossi *et al.*, 1988; Viode *et al.*, 1999] se debería a la nitrorreducción de la nitrofurantoína. Esta reacción es catalizada por reductasas, que provocarían los trastornos gastrointestinales, los cuales incluyen náuseas, dolor abdominal, constipación, dispepsia y muchas veces vómitos y diarrea [Nitrofurantoin 2005; Brumfitt *et al.*, 1998]. Se postula que la nitrorreducción de la nitrofurantoína sería al menos una de las causas de los efectos adversos provocados por este fármaco.

Los trastornos gastrointestinales son la principal causa de abandono del tratamiento con nitrofurantoína y por ende, del fracaso de la terapia. Esto es de especial relevancia cuando la terapia se debe prolongar por periodos extensos, de al menos 6 meses, como es el caso del tratamiento de las ITU recurrentes.

Además de nitrofurantoína microcristalina, esta droga se ha formulado en forma de cápsulas con cubierta entérica, que retarda su absorción. Esto contribuiría a una mejor tolerancia gastrointestinal y así a reducir las reacciones adversas gastrointestinales. Sin embargo, la toxicidad sistémica a largo plazo no es superada por esta formulación. El bajo costo de

nitrofurantoína microcristalina sin capa entérica y la baja resistencia desarrollada contra esta droga (<6%) en los últimos 10 años en Chile [Cortés *et al.*, 2007], ha obligado al sistema de Salud Pública de Chile a continuar su prescripción terapéutica y profiláctica. Ello, a pesar de su asociación con la toxicidad a corto y largo plazo y al alto riesgo del abandono del tratamiento por parte del paciente, debido a la intolerancia a sus efectos secundarios.

Como se mencionó anteriormente, los mecanismos a través de los cuales se producen los efectos secundarios, producto de la ingesta de la nitrofurantoína, no están aun claros. La nitrorreducción de nitrofurantoína postulada como una de las causas de los efectos adversos producidos por la administración de este fármaco es catalizada por reductasas. Entre ellas se pueden mencionar las reductasas de la flora bacteriana y varias reductasas hepáticas, especialmente la citocromo P450 (CYP) reductasa, enzima que forma parte del sistema oxidativo citocromo P₄₅₀ [Sreider *et al.*, 1990; Bartel *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2008; Lemaire *et al.*, 1994; Pourahmad *et al.*, 2001]. La nitrorreducción de la nitrofurantoína procede en un ciclo fútil, generando especies reactivas del oxígeno (EROs). Estas especies, si no son controladas por la célula, provocan estrés oxidativo; en estas condiciones se sobrepasa la capacidad antioxidante celular, alterándose la funcionalidad de las biomoléculas, provocando daño celular.

En mayor o menor grado, todas las patologías están asociadas a estrés oxidativo. El organismo se defiende de los estados patológicos activando su sistema inmunológico, provocando procesos inflamatorios y la liberación de ciertas citoquinas [Konstan, 1998]. Estos procesos de defensa involucran la generación de EROs que tienen como objetivo eliminar las biomoléculas dañadas y reparar así los tejidos destruidos en el proceso patológico.

Nitrorreducción enzimática de nitrofurantoína

La nitrorreducción enzimática de la nitrofurantoína involucra la transferencia de un electrón desde donadores tales como el NADPH a la nitrofurantoína, generando un nitroanión radical ($-\text{NO}_2^{\cdot-}$), el cual puede entrar en reciclaje redox con el oxígeno molecular, regenerando la nitrofurantoína. Este "ciclo fútil" produce anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), que puede dismutar al peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y, en presencia de Fe^{2+} o Cu^+ , genera el radical hidroxilo ($\text{HO}^{\cdot}$) [Minchin *et al.*, 1986; Moreno *et al.*, 1984; Rossi *et al.*, 1988; Viode *et al.*, 1999; Letelier *et al.*, 2004]. Por otra parte, el radical $-\text{NO}_2^{\cdot-}$ puede continuar en un ciclo fútil, hacia la formación de los derivados nitroso, hidroxilamina, amina y finalmente la regeneración del compuesto nitro original [Letelier *et al.*, 2004].

Respuesta celular al estrés oxidativo y antioxidantes

En la célula, la activación del oxígeno molecular a sus especies radicalarias $\text{O}_2^{\cdot-}$ y radical hidroxilo ($\text{HO}^{\cdot}$), ocurre en condiciones aeróbicas. Bajo condiciones fisiológicas, la reducción parcial del oxígeno a sus especies radicalarias puede ocurrir por ejemplo en el citosol, catalizada

por la xantina-oxidasa; en la mitocondria, catalizada por la monoamino-oxidasa y en el retículo endoplásmico, a través de la CYP reductasa [Karuzina *et al.*, 2007]. Por otra parte, los metales de transición tales como el hierro y el cobre, vía la reacción de Haber Weiss/Fenton, pueden generar EROs [Goldstein *et al.*, 1986].

También se generan especies reactivas del nitrógeno en el organismo, pero en menor cantidad que las del oxígeno. Estas especies se originan principalmente a través del sistema óxido nítrico sintasa que produce óxido nítrico (NO), el que reacciona con el anión superóxido para formar el radical peroxinitrito (ONOO^-).

Existe creciente reconocimiento de que ciertas EROs participan en procesos de interés fisiológico, por ejemplo: acciones bactericida, viricida, vasopresora, regulatoria de la expresión de ciertos genes, etc. Como se mencionó anteriormente, bajo condiciones de generación excesiva y/o de remoción deficiente de dichas especies, éstas provocan modificaciones oxidativas de las macromoléculas biológicas: lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, provocando una alteración de sus estructuras y sus funciones, lo cual puede conducir a la muerte celular [Halliwell *et al.*, 1990].

Las células regulan la concentración de las EROs a través su actividad antioxidante en la mayoría de sus organelos, mediante mecanismos enzimáticos complementado con moléculas no enzimáticas. Entre los mecanismos enzimáticos podemos mencionar a la Cu,Zn-superóxido dismutasa (Cu,Zn-SOD), la catalasa [Greenwald, 1990; Bannister *et al.*, 1991; McCord *et al.*, 2002] y la glutatión peroxidasa (GSH-Px) [Margis *et al.*, 2008]. Entre los mecanismos no enzimáticos destacan sustancias antioxidantes tales como el GSH (glutatión reducido), la cisteína, la vitamina E y la vitamina C [Elias *et al.*, 2008; Linster *et al.*, 2007]. La Cu,Zn-SOD cataliza la dismutación de O_2^- en H_2O_2 y agua [Bannister *et al.*, 1991; McCord *et al.*, 2002], mientras que GSH-Px cataliza la reducción de hidroperóxidos y H_2O_2 [Margis *et al.*, 2008].

GSH es un antioxidante clave para la célula, en virtud de su concentración mM en el citoplasma, su directa actividad antioxidante como atrapador de radicales libres y su papel como cofactor para GSH-Px. Se ha demostrado la participación de GSH como antioxidante en el citoplasma, en el núcleo, en la matriz mitocondrial y en el retículo endoplásmico [Schafer *et al.*, 2001]. Algunos organelos celulares, como las mitocondrias y peroxisomas, contienen sistemas antioxidantes específicos, como la superóxido dismutasa manganeso (Mn-SOD) [McCord, 2002; Whittaker, 2000] y la catalasa [Kirkman *et al.*, 2007], respectivamente, para hacer frente a las EROs que se generan continuamente debido al metabolismo de la glucosa y de los ácidos grasos. Al igual que la Cu,Zn-SOD, la Mn-SOD cataliza la dismutación de O_2^- , con una compatible afinidad con la alta generación de este radical libre en la mitocondria, subproducto de la cadena de transporte de electrones [McCord, 2002; Whittaker, 2000]. La catalasa cataliza la reducción de H_2O_2 a agua en los peroxisomas, que se genera durante la oxidación de los ácidos grasos [Kirkman *et al.*, 2007].

Existe una gran cantidad de procesos que tienen lugar en los sistemas de membrana que conducen a la generación de EROs, entre ellos, la biotransformación de fármacos, provocando peroxidación lipídica. Sin embargo, son escasos los mecanismos antioxidantes localizados en membranas celulares. Hasta ahora, la glutatión S-transferasa microsómica es la única enzima integral de membrana con actividad antioxidante (lipoperoxidasa) reportada [Mosialou *et al.*, 1989; Hayes *et al.*, 1991]. Además, esta enzima en una acción suicida, puede unir covalentemente moléculas altamente electrofílicas [Hayes *et al.*, 1991; Ketley *et al.*, 1975], anulando así su toxicidad. La vitamina E es el principal compuesto no enzimático soluble en lípidos, que actúa como atrapador de radicales libres, anulando su reactividad [Clarke *et al.*, 2008]. Así, resulta de especial interés complementar estos mecanismos antioxidantes para ayudar a proteger las membranas celulares de la peroxidación lipídica, que ocurre especialmente bajo condiciones de estrés oxidativo.

Plantas medicinales y antioxidantes

Existen diversos preparados naturales, especialmente aquellos enriquecidos en polifenoles que han sido utilizados como antioxidantes en patologías asociadas a estrés oxidativo, como son las enfermedades cardiovasculares [Middleton *et al.*, 2000; Tak Yee Aw, 2005; Ruel *et al.*, 2005].

Los extractos herbales utilizados con fines terapéuticos están constituidos por diversos principios activos de diferente naturaleza fisicoquímica. Entre los compuestos antioxidantes presentes en los extractos naturales podemos mencionar:

- Polifenoles (flavonoides, catequinas, antocianidinas, etc.). Estos compuestos son oxidados por radicales libres, dando lugar a un radical más estable y por lo tanto, menos reactivo. Se ha demostrado que los flavonoides *in vivo*, inducen la actividad de la GSH-transferasa, enzima que participa en procesos de detoxificación, catalizando la formación de conjugados covalentes entre GSH y xenobióticos altamente electrofílicos [Middleton *et al.*, 2000].
- Ácido ascórbico. Su acción antioxidante está dada por su capacidad de secuestrar especies radicalarias del oxígeno y proteger las defensas antioxidantes celulares; además, regenera las especies reducidas de los antioxidantes fisiológicos (α -tocoferol y GSH) y no fisiológicos (β -caroteno).
- Isoprenoides. Son sustancias altamente liposolubles y por lo tanto, se distribuyen en zonas de la célula con mayor lipofilia. Ellos actúan como antioxidantes principalmente atrapando los radicales lipoperoxidos ($\text{ROO}^\bullet$) y $\text{O}_2^{\bullet-}$. Además, algunos terpenoides inhiben la actividad de COX-2 [García-Piñeres *et al.*, 2001], enzima que se induce frente a procesos inflamatorios.
- Polisacáridos. Estos compuestos en sus formas oligoméricas o poliméricas, tienen la posibilidad de unirse a membranas biológicas a través de interacciones de puentes de hidrógeno o dipolares, provocando una protección física que evita la interacción de los

oxidantes con las biomoléculas presentes en dichas membranas. Un ejemplo de este tipo de interacciones, está constituido por el efecto protector que los mucílagos de la *Opuntia sp.* ejercen sobre la pared gastrointestinal [Loro, 1999].

- Ácidos carboxílicos. Al igual que los polifenoles, estos compuestos quelan metales de transición, principalmente cobre y hierro en su estado iónico, los cuales están involucrados en la producción de radicales libres vía la reacción de Haber Weiss y/o Fenton [Pietta, 2000].
- Compuestos tiólicos. Existen algunas plantas que concentran particularmente compuestos tiólicos y fundamentalmente cisteína. Es reconocida la capacidad de los grupos tiólicos de atrapar radicales libres en forma similar a lo que ocurre con los compuestos fenólicos; un ejemplo de este tipo de compuestos endógenos es el GSH [Horie *et al.*, 1992].

La concentración de antioxidantes naturales en los extractos depende de muchos factores, entre ellos la parte de la planta utilizada (droga vegetal) y el solvente utilizado en la extracción. Es por ello que es importante definir la parte de la planta a utilizar y las condiciones del proceso de extracción para preparar extractos naturales conducentes al desarrollo de fitofármacos. Cabe señalar además, que en la literatura no existen estudios de dosis terapéuticas y los escasos estudios toxicológicos se refieren a dosis letal 50 (LD50).

Efecto de los extractos herbales sobre el hemograma y el perfil bioquímico

Los principios activos herbales se consideran xenobióticos debido a que son sustancias extrañas al organismo. Éstas podrían producir reacciones adversas y/o tóxicas dependiendo de la dosis administrada o provocar una respuesta del sistema inmune, observándose un aumento de los leucocitos totales, por un aumento en la producción de linfocitos (alterando la serie blanca). Además, la presencia y concentración de algunos polifenoles presentes en los xenobióticos, entre ellos algunos flavonoides, al ser metabolizados en el hígado podrían inducir estrés oxidativo, fenómeno que inespecíficamente puede provocar daño celular, a la serie roja [Pérez, 2003]. En ambos casos se afectaría el hemograma.

Por otra parte, varias de las posibles reacciones adversas asociadas a los xenobióticos son provocadas a través de su metabolización hepática (biotransformación). Las reacciones de biotransformación de fármacos pueden provocar cambios cuantitativos y cualitativos en la actividad farmacológica de ellos. Así por ejemplo, un profármaco se biotransforma a su forma farmacológicamente activa y un fármaco activo puede por biotransformación anular o disminuir parcialmente su actividad farmacológica. Generalmente, estas reacciones conducen a metabolitos más hidrosolubles que la molécula original. También se pueden generar metabolitos muy reactivos que conducen a la alteración de las funciones fisiológicas de biomoléculas [Sierra *et al.*, 2005; Kanter *et al.*, 2002].

Las reacciones de biotransformación se dividen convencionalmente en dos grupos, llamados respectivamente de fase I y de fase II o conjugación [Ioannides, 2002; Parkinson *et al.*, 2008]. Las reacciones de fase I pueden ser de oxidación, reducción o hidrólisis. Estas reacciones exponen o introducen un grupo funcional (-OH, -NH₂, -SH o -COOH) a los cuales se pueden unir posteriormente moléculas endógenas polares. El principal responsable de las reacciones de fase I es el sistema oxidativo del CYP, mayoritariamente localizado en el retículo endoplásmico hepático. Las reacciones de fase II corresponden a la conjugación de determinados grupos funcionales presentes en el fármaco o un metabolito de fase I con moléculas endógenas polares como el ácido glucurónico, glutatión, sulfatos, glicina u otros aminoácidos. Estas reacciones son catalizadas por enzimas microsómicas (UDP-glucuronil transferasas), mitocondriales, citosólicas (sulfottransferasas, N-acetiltransferasas, metil-transferasas) o presentes en varios compartimentos celulares (glutatión-S-transferasas). La reacción de fase II mayoritaria es la glucuronidación; en ella un grupo hidroxilo fenólico u alcohólico se une al ácido glucurónico activado como UDPGA. Estas reacciones producen compuestos biológicos altamente polares, por lo general inactivos [Ioannides, 2002; Parkinson *et al.*, 2008].

Una reacción adversa a drogas se define como "Cualquier tipo de reacción detectada peligrosa o no placentera, que resulta de una intervención relacionada al uso de productos medicinales, los cuales predicen riesgos para una administración futura y amerita su prevención, tratamiento específico, alteración en la dosis o incluso el retiro definitivo del producto" [Sierra *et al.*, 2005]. Si el metabolismo hepático de un xenobiótico genera metabolitos tóxicos, el primer órgano afectado sería el hígado, desencadenándose un proceso inflamatorio en el tejido. Es el caso por ejemplo, de la toxicidad de los solventes orgánicos (Ej.: tetracloruro de carbono), los cuales inducen estrés oxidativo por metabolización hepática que provoca cambios en la permeabilidad de los hepatocitos y por tanto, la liberación al torrente sanguíneo de enzimas tales como: aspartato amino transferasa, alanino aminotransferasa, lactato deshidrogenasa y fosfatasa alcalina. Es por ello, que se acepta como marcadores de daño hepático el aumento de los niveles séricos de estas enzimas. Asimismo, los niveles séricos de bilirrubina aumentan porque disminuye su metabolización hepática; la bilirrubina es conjugada en el hígado a un diglucuronido, el cual es excretado por vía renal. Es por ello que la determinación de bilirrubina es útil en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas [Schettini *et al.*, 2005].

Como se mencionó anteriormente, el 30% de la nitrofurantoína administrada oralmente se excreta como tal. El 70% restante de la dosis administrada sufriría biotransformación, principalmente hepática, dado a que en este órgano se encuentran localizadas mayoritariamente las enzimas de biotransformación de xenobióticos. No obstante, el segundo órgano en importancia respecto a la localización de enzimas de biotransformación de xenobióticos es el riñón. Por lo tanto, la nitrorreducción de la nitrofurantoína (reacción a través de la cual se induce estrés oxidativo), podría provocar daño hepático y renal. Al respecto existen antecedentes que señalan

que los intermediarios reactivos podrían ser excretados por el riñón afectando así la excreción renal [Albert *et al.*, 1974]. Es por ello que, como marcadores de la función renal se utiliza: el nitrógeno ureico sanguíneo, producto de la degradación de proteínas, el cual aumenta en casos de insuficiencia renal [Kanter *et al.*, 2002] y la creatinina, producto de degradación de la creatina en el músculo esquelético que se libera al torrente sanguíneo en forma constante y que aumenta en casos de daño renal. Más aún, los sistemas de transporte, entre ellos los transportadores de iones localizados en membranas celulares (calcio, fósforo, potasio, cloruro, etc.) también pueden ser dañados por metabolitos reactivos, afectando su excreción urinaria y por ende, los niveles séricos de estos iones.

Cabe señalar que la nitrorreducción de la nitrofurantoína puede ser catalizada además, por reductasas de la flora bacteriana intestinal, provocando estrés oxidativo local después de la administración oral de este fármaco. Este mecanismo podría explicar por qué los efectos adversos gastrointestinales son los primeros que se observan en los pacientes tratados con nitrofurantoína oral; estos efectos son los que priman en el abandono del tratamiento por parte de los pacientes.

El uso de plantas medicinales ha cobrado especial interés en los últimos años. A nivel internacional, se ha promovido el uso de estos preparados para mejorar la calidad de vida de los ancianos, en los cuales el balance redox celular está ya deteriorado. Asimismo, el desarrollo de fitofármacos que consideran los usos tradicionales que la medicina nativa le ha dado a las plantas medicinales, ha aumentado a nivel internacional y se promueve su uso como terapia alternativa o asociada a fármacos alopáticos [Hoffman *et al.*, 1992].

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Dentro de las plantas utilizadas con fines medicinales se encuentra la *Buddleja globosa* Hope (matico), de la cual existen ya varios estudios agronómicos, tanto de su composición como de sus principios activos. Los extractos, especialmente de sus hojas, son utilizados por la medicina nativa como cicatrizantes y anti-inflamatorios. Esta planta medicinal es una planta nativa chilena de reconocida actividad antioxidante, antiinflamatoria y cicatrizante [Doll *et al.*, 2003; Hoffmann *et al.*, 1992; Mensah *et al.*, 2001]. El género *Buddleja* se considera en el orden Escrofulariales, que comprende cerca de 100 especies entre árboles y arbustos de los trópicos de América, Asia y África. En Chile crecen 2 especies en forma silvestre en cerros y quebradas entre la Región de Valparaíso y la de los Lagos, *Buddleja suaveolens* Kunth et Bouché y *Buddleja globosa* Hope, donde sólo la última se usa medicinalmente [Hoffman *et al.*, 1992; Muñoz *et al.*, 2001]. Los extractos, especialmente de sus hojas, son utilizados por la medicina nativa como cicatrizantes y anti-inflamatorios. Sin embargo, no existen estudios sobre las dosis que se utilizan; las dosis de los distintos preparados que se administran a pacientes son muy diversas, ellas se administran empíricamente bajo la creencia popular que los productos naturales son inocuos al ser humano.

Composición de *Buddleja globosa* Hope

Entre los compuestos químicos de esta planta se han reportado los siguientes: Flavonoides, Escutelarena, Fenilpropanoides (verbascósido, ácidos caféicos), Terpenos: Iridoides, Sesquiterpenoides (buddlejinas A, B, C), Diterpeno (buddlejona), Glicósido feniletanoide (angarósido) y Taninos [Muñoz *et al.*, 2001; Pardo *et al.*, 1993, Pardo *et al.*, 1997; Houghton y Hikino, 1989; Liao *et al.*, 1999; Mensah *et al.*, 2000; Vogel *et al.*, 2002]. Estos se disponen de forma heterogénea en las diferentes estructuras de las plantas, por ejemplo:

- En Hojas: Terpenoides, Iridoides (Aucubina), Feniletanoides (Verbascosido y Echinacosido), Flavonoides (Linarina, luteolina y 6-OH-Luteolina) [Houghton y Mensah, 1999].
- En Corteza: Diterpenos (buddlejona y deoxibuddlejona), Bisditerpeno (mayenona), Sesquiterpenos (buddlejina A y buddlejina B), Ésteres de ácidos grasos fenólicos [Houghton y Mensah, 1999; Mensah *et al.*, 2000].
- En Raíces: Terpenoides (dihidrobuddlejina A, buddlejona A y buddlejona B), buddlejina (A, B y C) y zerumbona [Liao *et al.*, 1999].

Estudios farmacológicos realizados a *Buddleja globosa*

- Actividad gastroprotectora: el extracto crudo (metanólico) de las hojas de *B. globosa* Hope permiten la recuperación de lesiones ulcerosas gástricas inducidas por ácido acético [Yáñez, 2001; Arroyo, 2000].
- Actividad antioxidante: en compuestos aislados de hojas *B. globosa*, tanto de extractos hidroalcohólico como propilenglicólico [Mensah *et al.*, 1998; Mensah *et al.*, 2001; Holst-Schlager y Letelier, 2004].
- Actividad analgésica y antiinflamatoria: el extracto lipofílico de raíces y corteza de *B. globosa* inhiben la actividad de las enzimas COX-2 y 5-Lipooxigenasa [Liao *et al.*, 1999]. Sin embargo, no existen estudios que aborden protocolos de dosis a utilizar; ello probablemente porque existe la creencia de que los principios activos naturales no son tóxicos. El extracto de hojas de *B. globosa* (*Buddlejaceae*) tiene una actividad analgésica dosis dependiente en varios modelos de dolor a partir de extracción alcohólica global de *B. globosa* [Backhouse *et al.*, 2008a; Backhouse *et al.*, 2008b].

Finalmente, utilizando ratones albinos raza swiss pedigree a quienes se les administró vía tópica, el decocto (en NaCl) del polvo-cernido de matico a dosis: 100 mg/Kg se observó disminución del edema en forma rápida en relación al grupo control que recibió diclofenaco. Los autores concluyen que es viable y recomiendan su uso tópico como antiinflamatoria [Martínez, 1994]. Con esto se ha validado el uso de matico en la medicina folklórica chilena (uso de matico en tratamiento de heridas).

- Actividad sobre el hígado: efecto protector de los constituyentes flavonoides y glucósidos fenilpropílicos [Houghton *et al.*, 1989].

- Actividad sobre la piel: extracto acuoso de *B. globosa* aumenta la proliferación de fibroblastos en cultivos; esta actividad puede acelerar la cicatrización de heridas [Mensah *et al.*, 1998; Mensah *et al.*, 2001].
- Actividad antimicrobiana: extractos lipofílicos de tallo de corteza de *B. globosa* tiene una actividad antifúngica contra tres especies de hongos dermatofitos (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale* y *Epidermophyton floccosum*). Los compuestos presentes en este extracto fueron diterpenos (buddlejona), bisditerpeno (mayenona) y dos sesquiterpenos (buddlejina A y buddlejina B) [Mensah *et al.*, 2000]. Además, se ha reportado que glucósidos de *B. globosa* presentan actividad bactericida [Pardo *et al.*, 1993; Pardo *et al.*, 1997].
- Usos terapéuticos ancestrales: Hojas, tallos y raíces se utilizan tradicionalmente en afecciones respiratorias, contusiones, luxaciones, conjuntivitis, trastornos digestivos, hemostáticos, como carminativo, antidiabético, sedante, antihemorroidal; en insomnio, eczemas, malaria, como antiinflamatorio ocular y bucal, piel y mucosas, cicatrizante, antiulceroso, también usado en hemorragias, diarreas sanguinolentas, antitusígeno, expectorante.

Estudios toxicológicos realizados a *Buddleja globosa*

La toxicidad de cualquier compuesto depende de la dosis administrada, así por ejemplo, un aumento de 10 veces la dosis administrada de la mayoría de los fármacos alopáticos genera toxicidad aguda. Además, los posibles efectos benéficos y/o adversos que un preparado herbal puede provocar en el organismo, generalmente se traducen en alteraciones de la homeostasis sanguínea.

- Buddlejinas A, B y C: en ratones, se ha mostrado que la administración oral del extracto crudo hasta 2 g/Kg e intraperitoneal hasta 600 mg/Kg, no evidencia efectos tóxicos [Yañez, 2001]. Otros autores han informado citotoxicidad observada en concentraciones mayores a 50 µg/mL [Mensah *et al.*, 2001].

Estudios clínicos realizados a *Buddleja globosa*

- Actividad antiinflamatoria y cicatrizante: en modelos de animales, resultados que se correlacionan con la actividad inhibitoria de la actividad de las enzimas COX-2 y 5-Lipooxigenasa observada *in vitro* [Konstan, 1998]. Sin embargo, ellos no definen los mecanismos a través de los cuales los principios activos ejercerían los efectos terapéuticos observados.

Los inventores de la presente solicitud han encontrado que, sorprendentemente, el tratamiento con un extracto de matico disminuye de forma considerable las reacciones adversas gastrointestinales provocadas por la administración oral de nitrofurantoína a pacientes con infecciones bacterianas del tracto urinario bajo. Al respecto, el análisis del estado del arte muestra una serie de documentos relacionados con especies de *Buddleja* y sus propiedades. De estos, los

inventores han considerado como más cercanos los documentos KR20100028202 y KR100644773 que se refieren a una especie de *Buddleja* originaria de China y con otras propiedades terapéuticas que no resulta atingente al análisis de patentabilidad de la presente invención. La patente norteamericana US4855138 describe una mezcla que contiene un extracto (agua-aceite) de hojas secas de matico (2 – 35%) y su uso contra desórdenes de la piel (acné, soriasis, quemaduras, etc.). La composición contiene, además del extracto de matico, sulfoderivados como sulfotioazol (2-15%), aminas alcohólicas, aceites y una base lipofílica. También se puede agregar un pigmento inerte como óxido de zinc y una fragancia. No se describe el procedimiento de obtención del extracto, el cual además, no corresponde a un extracto hidroalcohólico ni tampoco se dirige a resolver el problema técnico planteado en la presente invención.

De acuerdo a lo anterior, la presente solicitud protege el uso y la composición de extracto seco de hojas de *Buddleja globosa Hope* (matico) para el tratamiento de las afecciones gastrointestinales asociadas a la administración oral de nitrofurantoína (especialmente en su formulación microcristales que es la de más bajo costo) en pacientes con ITU.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos son preferidos pero no excluyentes de la invención:

Ejemplo 1. Caracterización botánica del extracto

La tabla 1 resume los resultados obtenidos mediante un procedimiento de extracción hidroalcohólica estándar de *Buddleja globosa* Hope.

Tabla 1: Caracterización botánica y química del extracto hidroalcohólico de *Buddleja globosa* que dio origen al extracto seco estandarizado BG126

Producto: Matico Extracto 1:3,8 Fecha: 11.11.05 Serie: 11 962 5 N° Registro: **SE- 616 Código: 1110031 * B- 371		
Características botánicas	Especificación	Análisis
Especie	<i>Buddleja globosa</i>	Cumple
Parte utilizada	Hojas	Cumple
Características organolépticas		
Aspecto	Líquido	Cumple
Color	Café oscuro	Cumple
Olor	Característico	Cumple
Características Físico-Químicas		
pH	4,0 – 7,00	5,2
Graduación Alcohólica (15°C)	N. D.	59° GL
Peso específico (20°C)	N.D.	0,913 g/mL
Residuo sólido (peso constante)	N. D.	4,5 %
Identificación Química		
Flavonoides	Positivo	Cumple
Taninos	Positivo	Cumple
Saponinas	Positivo	Cumple
Azúcares reductores	Positivo	Cumple
Caracterización Botánica		
Las características de género y especie de una muestra de material vegetal corresponden a material vegetal estándar por confrontación de muestras. (N.D.: no detectado).		
Identificación Química		
Las manchas de identificación en cromatografía en capa fina de una alícuota de muestra, son similares a las manchas de identificación de una alícuota estándar.		
Cuantificación de polifenoles del extracto hidroalcohólico de <i>Buddleja globosa</i>		
Extracto	Polifenoles Totales	
<i>Buddleja globosa</i>	30,6 ± 2,36 nmoles catequina/μL extracto	
N° de serie 119625	116,28 μmoles de catequina /g de droga vegetal	

Ejemplo 2. Ejemplo de formulación

Para la fabricación de una cápsula de 250-550 mg, se utiliza 250-550 mg de BG-126, extracto seco de *Buddleja globosa* Hope estandarizado y valorado en polifenoles totales expresados en mg de catequina por mg extracto. El extracto seco estandarizado BG-126, se obtiene deshidratando el extracto líquido con ayuda de un excipiente inerte como Maltodextrina por "spray dry", se valora el extracto seco, y esto constituye la materia prima de las cápsulas. No hay otro excipiente.

Ejemplo 3. Administración y posología para enfermedades Infecciones del tracto urinario.

La cápsula puede ser administrada en las siguientes afecciones con la posología a continuación señalada:

- a. Infecciones del Tracto urinario bajo: 1 cápsula cada 12 horas
- b. Trastornos gastrointestinales: 1 cápsula cada 8 horas

Ejemplo 4. Estudios de toxicidad de *Buddleja globosa* en ratas

Se determinó por primera vez la toxicidad del extracto hidroalcohólico referido en esta patente (en ausencia del excipiente) en ratas adultas machos (*Rattus norvegicus*) de la cepa Sprague Dawley. Este estudio consistió en la administración por vía oral del extracto hidroalcohólico de hojas de *Buddleja globosa* (dosis 12 veces mayor que la dosis aconsejada para el fitofármaco GUG/X® Laboratorios Ximena Polanco Chile S.A.) cada 8 horas durante 12 días. No se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros determinados en el hemograma (serie roja y serie blanca) ni en el perfil bioquímico ($p > 0,05$). Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros macroscópicos (peso relativo, eje longitudinal y transversal) e histológicos de cortes de bazo teñidos con hematoxilina-eosina (número de PALS y centros germinales; diámetro y área de los centros germinales). No se observó evidencias de efectos tóxicos.

Tabla 2. Esquema de sacrificio de los animales del grupo (1) y grupo (2)

	Grupo Control (1)	Grupo Tratado (2)
Día 3	1-2-3	11-12-13
Día 8	4-5-6	14-15-16
Día 12	7-8-9	17-18-19

Esto indica la baja toxicidad del extracto ensayado, porque no altera la función hepática y renal de los animales, ni tampoco el hemograma; más aún, el metabolismo hepático de los metabolitos presentes en el extracto tampoco parece inducir efectos tóxicos. Así, la dosis utilizada en este ensayo parece no estimular efectos adversos, ni tóxicos sobre los animales y sería por lo tanto, una dosis segura.

Ejemplo 5. Ejemplo de aplicación

Se realizó un ensayo clínico, doble ciego randomizado, en pacientes del sexo femenino que requerían tratamiento por infección del tracto urinario bajo (urocultivo positivo, bacteria susceptible a nitrofurantoína), los cuales eran atendidas de manera ambulatoria atendidos en el Policlínico de Urología del Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Aquellas que cumplieron con los criterios de inclusión firmaron un consentimiento informado para participar del estudio. Las pacientes fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos:

Grupo 1: Formado por 15 pacientes las cuales recibieron nitrofurantoína (microcristales) de 100 mg y una cápsula de placebo (excipiente del extracto seco estandarizado BG-126 de hojas de matico), cada 12 horas, por un período de 10 días.

Grupo 2: Constituido por 15 pacientes los cuales recibieron un comprimido de nitrofurantoína (microcristales) de 100 mg y una cápsula de extracto seco estandarizado BG-126 de hojas de matico cada 12 horas, por un período de 10 días.

Durante del tratamiento por 14 días bajo control médico y de enfermería se realizó registros de reacciones adversas, hemograma, perfil bioquímico, urocultivo y determinación de capacidad antioxidante plasmática. Todos estos resultados se pueden apreciar en las figuras 2 a 9.

El control de las reacciones adversas gastrointestinales provocadas por la administración de nitrofurantoína, y nitrofurantoína más el extracto de matico mostró que el uso conjunto de este fármaco y cápsulas de matico disminuyó la frecuencia e intensidad de las reacciones adversas gastrointestinales analizadas.

No se encontraron diferencias significativas en: el análisis de hemograma, perfil bioquímico de ambos grupos de pacientes. Tampoco se observaron diferencias significativas en la capacidad antioxidante plasmática de las pacientes lo cual parece indicar que el preparado de matico tendría preferentemente acción local. Cabe señalar además, que dos pacientes no terminaron el tratamiento porque no soportaron las reacciones adversas gastrointestinales; estos pacientes habían recibido sólo nitrofurantoína.

Los urocultivos realizados al día siguiente de finalizado el tratamiento mostraron el urocultivo negativo; sin embargo, uno de ellos que recibió sólo nitrofurantoína mostro su urocultivo positivo.

Los resultados de este estudio permiten concluir que el uso concomitante de nitrofurantoína y matico, representa una alternativa de tratamiento frente a ITUs, conducente a disminuir los efectos adversos de nitrofurantoína y también, a evitar el abandono de la terapia, especialmente en pacientes que se atienden en Consultorios de atención primaria.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1. Ciclo redox de la nitrofurantoina y generación de EROs (adaptada de Wang *et al* 2008).

Figura 2. La figura muestra los resultados obtenidos respecto del dolor abdominal de las pacientes sometidas a los tratamientos. Grupo 1: nitrofurantoina más placebo; Grupo 2: nitrofurantoina más cápsulas de extracto seco de matico estandarizado BG-126. La clasificación de la intensidad de los síntomas se describe en métodos (tabla1). Los valores representan el porcentaje de pacientes que presentó el síntoma en estudio; n: 15 pacientes por grupo.

Figura 3. La figura muestra los resultados obtenidos respecto de la dispepsia de las pacientes sometidas a los tratamientos. Grupo 1: nitrofurantoina más placebo; Grupo 2: nitrofurantoina más cápsulas de extracto seco estandarizado de matico BG-126. La clasificación de la intensidad de los síntomas se describe en métodos (tabla1). Los valores representan el porcentaje de pacientes que presentó el síntoma en estudio, n: 15 pacientes por grupo.

Figura 4. La figura muestra los resultados obtenidos respecto de la manifestación de náuseas por parte de las pacientes sometidas a los tratamientos. Grupo 1: nitrofurantoina más placebo; Grupo 2: nitrofurantoina más cápsulas de extracto seco estandarizado de matico BG-126. La clasificación de la intensidad de los síntomas se describe en métodos (tabla1). Los valores representan el porcentaje de pacientes que presentó el síntoma en estudio, n: 15 pacientes por grupo.

Figura 5. La figura muestra los resultados obtenidos respecto de la observación de vómitos en las pacientes sometidas a los tratamientos. Grupo 1: nitrofurantoina más placebo; Grupo 2: nitrofurantoina más cápsulas de extracto seco estandarizado de matico BG-126. La clasificación de la intensidad de los síntomas se describe en métodos (tabla1). Los valores representan el porcentaje de pacientes que presentó el síntoma en estudio, n: 15 pacientes por grupo.

Figura 6. La figura muestra los resultados obtenidos respecto de la observación de diarrea en las pacientes sometidas a los tratamientos. Grupo 1: nitrofurantoina más placebo; Grupo 2: nitrofurantoina más cápsulas de extracto seco estandarizado de matico BG-126. La clasificación de la intensidad de los síntomas se describe en métodos (tabla1). Los valores representan el porcentaje de pacientes que presentó el síntoma en estudio, n: 15 pacientes por grupo.

Figura 7. La figura describe los resultados del Hemograma en donde se aprecian los promedios de los parámetros analizados en el hemograma de las pacientes sometidas a la administración de nitrofurantoina más placebo (grupo 1) y a nitrofurantoina más cápsulas de extracto seco estandarizado de matico BG-126. (grupo 2). En ella se observan los valores promedios obtenidos de los hemogramas tomados el día 1 (inicio del tratamiento) y el día 11 (una vez finalizado el tratamiento), como también los valores de referencia para cada uno de los parámetros analizados. No se observaron diferencias significativas entre el grupo 1 y 2, en ninguno de los parámetros analizados: N° eritrocitos, hematocrito, hemoglobina, VCM (volumen corpuscular medio),

HCM (Hemoglobina corpuscular media), CHCM (concentración de hemoglobina corpuscular media), N° de Leucocitos, Neutrófilos: Segmentado, Eosinófilos, Linfocitos, Monocitos, VHS (Velocidad de eritro-sedimentación), RAN (recuento absoluto de neutrófilos) y N° de Plaquetas ($p>0,05$). Más aún, los valores tampoco fueron estadísticamente diferentes a los valores de referencia, dados como rangos normales ($p>0,05$).

Figura 8. La figura muestra el resultado del perfil bioquímico de pacientes tratadas. Se aprecian los promedios obtenidos en la determinación de los perfiles bioquímicos realizados a las pacientes del grupo 1 (nitrofurantoína más placebo) y del grupo 2 (nitrofurantoína más matico). En ella se expresan los promedios de los resultados obtenidos de los exámenes realizados al inicio (día 1) y al final del tratamiento (día 11) como también los valores de referencia para cada uno de los parámetros analizados. No se observaron diferencias significativas entre el grupo 1 y 2, en ninguno de los parámetros analizados: glucosa, nitrógeno ureico, ácido úrico, calcio, fósforo, proteínas totales, albúmina, colesterol total, bilirrubina total, transaminasa oxalacética, fosfatasa alcalina total, deshidrogenasa láctica total ($p>0,05$). Más aún, los valores tampoco fueron estadísticamente diferentes a los valores de referencia, dados como rangos normales ($p>0,05$).

Figura 9. La figura muestra los resultados de la determinación de la capacidad antioxidante plasmática. Se aprecian los promedios de los resultados de los análisis de capacidad antioxidante plasmática realizados a las pacientes sometidas a la administración de nitrofurantoína más placebo (grupo 1) y a nitrofurantoína más cápsulas de extracto seco estandarizado de matico BG-126. (grupo 2). Los parámetros evaluados fueron: capacidad reductora de hierro férrico plasmático (FRAP) y niveles plasmáticos de malondialdehído (MDA). En la tabla se muestran los resultados de los exámenes realizados al inicio del tratamiento (día 1) y una vez finalizado (día 11). El valor correspondiente al día 1 nos entrega el nivel basal de las pacientes, el valor obtenido en las muestras tomadas el día 11 refleja el efecto que produjo sobre este parámetro los 10 días de tratamiento. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre sí ni entre los grupos ($p>0,05$).

REFERENCIAS

- Albert K., Sedman A., Wilkinson P., Stoll R., Murray W. and Wagner J. (1974). Bioavailability Studies of Acetaminophen and Nitrofurantoin. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 14: 264-270.
- Arroyo J, Quino M, Ronceros S, Oyanguren P, Herrera N y Flores C. (2000). Reporte Preliminar Tratamiento de la úlcera péptica con el micronizado de hojas de *Pipar angustifolium*. Primer Congreso Internacional FITO 2000. Instituto de Fitoterapia Americano. Lima - Perú; pp: 175-6.
- Backhouse, N., C. Delporte, C. Apablaza, M. Farias, L. Goity, S. Arrau, R. Negrete, C. Castro, and H. Miranda. 2008a. Antinociceptive activity of *Buddleja globosa* (matico) in several models of pain. *J Ethnopharmacol* 119:160-165.
- Backhouse, N., L. Rosales, C. Apablaza, L. Goity, S. Erazo, R. Negrete, C. Theodoluz, J. Rodriguez, and C. Delporte. 2008b. Analgesic, anti-inflammatory and antioxidant properties of *Buddleja globosa*, *Buddlejaceae*. *J Ethnopharmacol* 116:263-269.
- Bannister W., Bannister J., Barra D., Bond J. and F. Bossa. (1991). Evolutionary aspects of superoxide dismutase: the copper/zinc enzyme. *Free Radic Res Commun*, 12-13pt 1: 349-361.
- Bartel L., Montalto de Mecca M. and Castro J. (2009). Nitroreductive metabolic activation of some carcinogenic nitro heterocyclic food contaminants in rat mammary tissue cellular fractions. *Food Chem Toxicol*, 47: 140-144.
- Bialas M., Shetty H., Houghton J., Woods F. and Routledge P. (1997). Nitrofurantoin rechallenge and recurrent toxicity. *Postgrad Med J*, 73: 519-520.
- Bishop M. (2004). Uncomplicated urinary tract infection. *EUA Update Series*, 2(3): 143-150.
- Brumfitt W., Hamilton-Miller J. (1998). Efficacy and safety profile of long term nitrofurantoin in urinary infections: 18 years experience. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 42: 363-371.
- Chudnofsky C. (1989). Otten, E. J. Acute pulmonary toxicity to nitrofurantoin. *Journal of Emergency Medicine*. 17(1): 15-19;
- Clarke M., Burnett J. and Croft K. (2008). Vitamin E in human health and disease. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 45: 417-450.
- Cortés M., Salazar A., Acuña J., Armijo G., López de Santa María J., Berner R., Estrugo A., Riffo C. and Moraga V. (2007). Cambios en la sensibilidad antibiótica de *E. coli* en mujeres con infección urinaria baja ambulatoria en un período de 10 años. *Revista Chilena de Urología*, 72: 289-291.
- Doll U., Vogel H., Jeldres P. and Muñoz M. (2003). Estudios de Propagación Vegetativa en Matico (*Buddleja globosa*). *Ciencia e Investigación Agraria: Revista Latinoamericana de Ciencias de la agricultura*, 30(3): 211-216.
- Elias R., Kellerby S. and Decker E. (2008). Antioxidant activity of proteins and peptides. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 48: 430-441.
- Gait J. (1990). Hemolytic reactions to nitrofurantoin in patients with glucose-6- phosphate dehydrogenase deficiency: theory and practice. *DICP The Annals of Pharmacotherapy*, 24(12): 1210-1213.

- García-Piñeres A., Castro V., Mora G., Schnidt T., Strunck E., Pahl H. and Merfort I. (2001). Cysteine 38 in p65/NF-B plays a crucial role in DNA binding inhibition by sesquiterpene lactones. *J. Biol. Chem*, 276(43): 39713-39720.
- Goemaere N., Grijm K., van Hal P. and den Bakker M. (2008). Nitrofurantoin-induced pulmonary fibrosis: a case report. *J Med Case Reports*, 2: 169.
- Goldstein S. and Czapski G. (1986). The role and mechanism of metal ions and their complexes in enhancing damage in biological systems or in protecting these systems from these systems from the toxicity of O_2^- . *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine* 2(1): 3-11.
- Greenwald R. (1990). Superoxide dismutase and catalase as therapeutic agents for human diseases a critical review. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(2): 201-209.
- Guay D. (2008). Contemporary management of uncomplicated urinary tract infections. *Drugs*, 68: 1169-1205.
- Halliwell B. and Gutteridge J. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Methods in Enzymology*, 186: 1-85.
- Hayes P., Bouchier I. and Beckett G. (1991). Glutathione S-transferase in humans in health and disease. *Gut*, 32: 813-818.
- Hoffmann A., Farga C., Lastra J. and Veghazi E. (1992). Plantas Medicinales de uso común en Chile. A. Hoffmann, Segunda edición, Ediciones Fundación Claudio Gay, Santiago, Chile.
- Holst-Schlager M. and Letelier M. E. (2004). Actividad antioxidante de extractos naturales de uso medicinal: Validación de sistemas biológicos como estándar. XLVII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Chile. Pucón, 23 al 26 de Noviembre. Libro de Resúmenes, R-112.
- Horie T., Awazu S., Itakura Y. and Fuwa T. (1992). Identified diallyl polysulfides from an aged garlic extract which protects the membranas from lipid peroxidation [letter]. *Planta Med*, 58: 468-469.
- Houghton P. and Hikino H. (1989). Anti-hepatotoxic activity of extracts and constituents of *Buddleja* species. *Planta Medica*, 55: 123-6.
- Houghton P. and Mensah A. (1999). Biologically-active compounds from *Buddleja* species; En: Romeo JT, ed. Human health protection, nutrition, and plant defense: Recent Advances in Phytochemistry: Phytochemicals. New York: Kluwer Academic/Plenum 33: 343-68.
- Ioannides C. (2002). Xenobiotic Metabolism: An Overview. En: Ioannides C, Enzyme systems that metabolise drugs and other xenobiotics (current toxicology), Ed. C. Ioannides. John Wiley y Sons, pp. 1-32.
- Jacknowitz A., Le Frock J. and Prince R. (1977). Nitrofurantoin polyneuropathy: report of two cases. *Am J Hosp Pharm*, 34: 759-762.
- Jacknowitz A. (1985). Nitrofurantoin ad peripheral neuropathy. *Annals of Internal Medicine*, 102(1): 138-139.
- Kanter, Monshouwer M., Meijer D. and Groothuis G. (2002). Precision-Cut Organ Slices as a Tool to Study Toxicity and Metabolism of Xenobiotics with Special Reference to Non-Hepatic Tissues. *Current Drug Metabolism*, (3): 39-59.
- Karuzina I. and Archakov A. (1994). The oxidative inactivation of cytochrome P450 in monooxygenase reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 16(1): 73-97.

- Ketley J., Habig W. and Jakoby W. (1975). Binding of nonsubstrate ligands to the glutathione S-transferases. *J Biol Chem*, 250: 8670-8673.
- Kirkman H. and Gaetani G. (2007). Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. *Trends Biochem Sci*, 32: 44-50.
- Konstan, M. (1998). Therapies aimed at airway inflammation in cystic fibrosis. *Clin. Chest. Med*, 19(3): 505-513.
- Lee J. and Neild G. (2007). Urinary tract infection. *Medicine*, 35(8): 423-428.
- Lemaire P. and Livingstone D. (1994). Inhibition studies on the involvement of flavoprotein reductases in menadione- and nitrofurantoin-stimulated oxyradical production by hepatic microsomes of flounder (*Platichthys flesus*). *Journal of Biochemical Toxicology*, 9: 87-95.
- Letelier M.E., Izquierdo P., Godoy L., Lepe A.M. and Faúndez M. (2004). Liver microsomal biotransformation of nitro-aryl drugs: A mechanism for potencial oxidative stress induction. *Journal of Applied Toxicology*, 24(6): 519-525.
- Liao Y., Houghton P. and Hoult J. (1999). Novel and known constituents from *Buddleja* species and their activity against leukocyte eicosanoid generation. *J. Nat. Prod*, 62(9): 1241-1245.
- Linster C. and Van Schaftingen E. (2007). Vitamin C. Biosynthesis, recycling and degradation in mammals. *FEBS J*, 274: 1-22.
- Loro J., del Río I. and Perez-Santana L. (1999). Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Opuntia dillenii* aqueous extract. *J. Ethnopharmacol*, 67(2): 213-218.
- Margis R., Dunand C., Teixeira F. and Margis-Pinheiro M. (2008). Glutathione peroxidase family - an evolutionary overview. *FEBS J*, 275: 3959-3970.
- Martin W. J. 2nd. (1983a). Nitrofurantoin: evidence for the oxidant injury of lung parenchymal cells. *Am Rev Respir Dis*, 127: 482-486.
- Martin, W. J. 2nd. (1983b). Nitrofurantoin. Potential direct and indirect mechanisms of lung injury. *Chest*, 83: 51S-52S.
- Martínez O. (1994). Evaluación farmacológica del efecto antiinflamatorio del preparado de matico. Tesis Fac. Medicina. Universidad Nacional san Antonio Abad del Cuzco - Perú.
- McCord J. M. (2002). Superoxide dismutase in aging and disease: an overview. *Methods Enzymol*, 349: 331-341.
- McOsker C. and Fitzpatrick P. (1994). Nitrofurantoin: mechanism of action and implications for resistance development in common uropathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 33(Suppl A): 23-30.
- Mensah A., Houghton P., Bloomfield S., Vlietinck A. and Van den Berghe. (2000). Known and novel terpenes from *Buddleja globosa* displaying selective antifungal activity against dermatophytes. *J Natural Products*, 63(9): 1210-1213.
- Mensah A., Houghton P., Hughes M. and Cherry G. (1998). *In vitro* investigation of the wound-healing properties of *Buddleja globosa*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50: 83.
- Mensah A., Sampson J., Houghton P., Hylands P., Westbrook J., Dunn M., Hughes M. and Cherry G. (2001). Effects of *Buddleja globosa* leaf and its constituents relevant to wound healing. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(2-3): 219-226.

- Middleton E., Kandaswami C. and Theoharides T. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4): 673-751.
- Minchin R., Ho P. and Boyd M. (1986). Reductive metabolism of nitrofurantoin by rat lung and liver in vitro. *Biochem Pharmacol*, 35: 575-580.
- Moreno S., Mason R. and Docampo R. (1984). Reduction of nifurtimox and nitrofurantoin to free radical metabolites by rat liver mitochondria. Evidence of an outer membrane-located nitroreductase. *J Biol Chem*, 259: 6298-6305.
- Mosialou E. and Morgenstern R. (1989). Activity of rat liver microsomal glutathione transferase toward products of lipid peroxidation and studies of the effect of inhibitors on glutathione-dependent protection against lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 275: 289-294.
- Muñoz O., Montes M. and Wilkomirsky T. (2001). Plantas medicinales de uso en Chile – Química y farmacología. Santiago de Chile: Editorial Universitaria, pp. 69-72.
- Nicolle L. (2002). Urinary tract infection: traditional pharmacologic therapies. *The American Journal of Medicine*, 113(1): 35-44.
- Nitrofurantoin, Adverse Effects. In: Sweetman, S.C (Editor). Martindale: the complete drug reference. 34ª edición. (2005). Pharmaceutical Press, Londres, pp. 237.
- Paiva L., Wright P. and Koff R. (1992). Long-term hepatic memory for hypersensitivity to nitrofurantoin. *Am J Gastroenterol*, 87: 891-893.
- Pardo F., Perich F. and Torres R. (1997). Un nuevo glicósido de *Buddleja globosa* con actividad bactericida. *Bol. Soc. Chil. Quim*, 42 (1): 101-104.
- Pardo F., Perich F., Villarroel L. and Torres R. (1993). Isolation of verbascoside, an antimicrobial constituent of *Buddleja globosa* leaves. *J Ethnopharmacol*, 39: 221-222.
- Parkinson A. and Ogilvie B. (2008). Biotransformation of Xenobiotics. En: Cassaret y Doull's, Toxicology, 7a edición, McGraw-Hill, New York, USA, pp. 161-305.
- Penn R. and Griffin J. (1982). Adverse reactions to nitrofurantoin in the United Kingdom, Sweden, and Holland. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 284: 1440-1442.
- Pérez G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Rev. Cubana Invest. Biomed.* 22(1):48-57.
- Pietta, P. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod*, 63: 1035-1042,
- Pourahmad J., Khan S. and O'Brien P. (2001). Lysosomal oxidative stress cytotoxicity induced by nitrofurantoin redox cycling in hepatocytes. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 500: 261-265.
- Richards C. (2004). Urinary tract infections in the frail elderly: issues for diagnosis, treatment and prevention. *Int Urol Nephrol*, 36:457-463.
- Rossi L., Silva J., McGirr L. and O'Brien P. (1988). Nitrofurantoin-mediated oxidative stress cytotoxicity in isolated rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology*, 37: 3109-3117.
- Ruel G., Pomerleau S., Couture P., Lamarche B. and Couillard C. (2005). Changes in plasma antioxidant capacity and oxidized low-density lipoprotein levels in men after short-term cranberry juice consumption. *Metabolism*, 54: 856-861.

- Schafer F. and Buettner G. (2001). Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med*, 30: 1191-1212.
- Schettini L., Li E., Gálvez H., Montoya E. and Sánchez N. (2005). Perfil bioquímico sanguíneo hepático y renal en el sajino (*Tayassu tajacu*) criado en cautiverio en la amazonía peruana. *Rev. Inv. Vet. Perú*, 16(2): 175-179.
- Sierra F. and Torres D. (2005). Enfermedad hepática tóxica inducida por drogas: Revisión sistemática estructurada. *Rev. Colombiana Gastroenterología*, 20(1).
- Sreider C., Grinblat L. and Stoppani A. (1990). Catalysis of nitrofurantoin redox-cycling and superoxide anion production by heart lipoamide dehydrogenase. *Biochemical Pharmacology*, 40: 1849-1857.
- Tak Yee Aw. (2005). *Intestinal glutathione: determinant of mucosal peroxide transport, metabolism, and oxidative susceptibility. Toxicology and Applied Pharmacology*, 204: 320-328.
- Valdebenito J. (2008). Infección urinaria recurrente en la mujer. *Rev Chilena Infectol*, 25: 268-276.
- Viode C., Bettache N., Cenas N., Krauth-Siegel R., Chauviere G., Bakalara N., and Perie J. (1999). Enzymatic reduction studies of nitroheterocycles. *Biochem Pharmacol*, 57: 549-557.
- Vogel H., Razmilic I., Doll U. and San Martín J. (2002). Domestication Studies in Matico (*Buddleja globosa* Hope). *Acta Horticulturae*, 576: 203-6.
- Wang Y., Gray J., Mishin V., Heck D., Laskin D. and Laskin J. (2008). Role of cytochrome P450 reductase in nitrofurantoin-induced redox cycling and cytotoxicity. *Free Radic Biol Med*, 44: 1169-1179.
- Whittaker J. (2000). Manganese superoxide dismutase. *Met Ions Biol Syst*, 37: 587-611.
- Witten C. (1989). Pulmonary toxicity of nitrofurantoin. *Arch Phys Med Rehabil*, 70: 55-57.
- Yáñez T. (2001). Matico, otro arbusto chileno con potencial exportador: Efecto de la infusión de hojas de matico en la úlcera gástrica. Talca: Memoria Instituto de Biología Vegetal y Biotecnología, Universidad de Talca.

REIVINDICACIONES

1. Uso de una composición conformada por extracto seco estandarizado de *Buddleja globosa* BG-126 y excipientes farmacológicamente aceptados CARACTERIZADO porque sirve para preparar un fitofármaco, medicamento o un nutraceutico, útil para prevenir o tratar trastornos gastrointestinales causados por tratamientos antimicrobianos.
2. Uso de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque el extracto es un extracto esencialmente seco.
3. Uso de acuerdo a la reivindicación 2 CARACTERIZADO porque el extracto es un extracto que contiene menos del 5% de humedad.
4. Uso de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque el extracto sirve para preparar un fitofármaco, un medicamento o un nutraceutico útil para prevenir o tratar trastornos gastrointestinales asociados al tratamiento con nitrofurantoína o trastornos gástricos producido por úlceras, patologías gástricas o daño al aparato gástrico.
5. Uso de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque el extracto sirve para preparar un fitofármaco, un medicamento o un nutraceutico útil para prevenir o tratar el dolor abdominal, la dispepsia, nauseas, vómitos diarrea, constipación, inflamación y cefaleas derivadas del tratamiento con nitrofurantoína.
6. Uso de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque el extracto sirve para preparar un fitofármaco, un medicamento o un nutraceutico, útil para potenciar la acción antibacteriana de nitrofurantoína.
7. Uso de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque el extracto sirve para preparar un fitofármaco, un medicamento o un nutraceutico, útil para potenciar la acción antibacteriana de nitrofurantoína, especialmente contra *Escherichia coli*.
8. Uso de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque el medicamento se encuentra en estado sólido o líquido.
9. Uso de acuerdo a la reivindicación 8 CARACTERIZADO porque el medicamento en estado sólido puede ser polvo, polvo liofilizado, cápsulas, comprimidos o grageas.
10. Uso de acuerdo a la reivindicación 8 CARACTERIZADO porque el medicamento en estado líquido puede ser una solución acuosa, un jarabe o una suspensión.
11. Uso de acuerdo a la reivindicación 1 CARACTERIZADO porque la composición contiene entre 250 mg y 550 mg de extracto seco

1/9

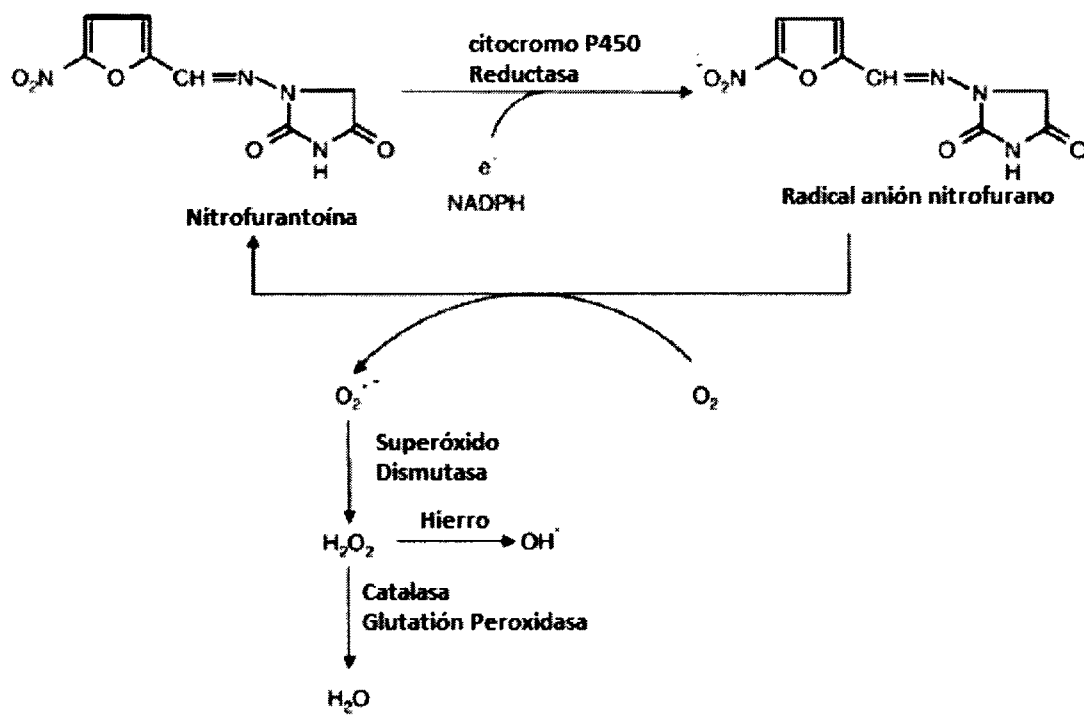


Figura 1

2/9

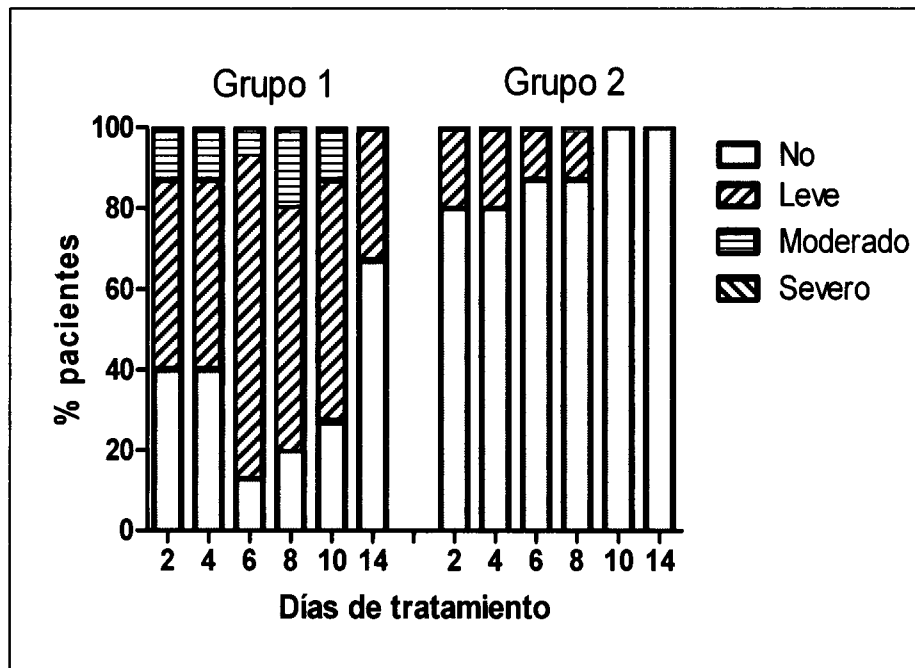


Figura 2

3/9

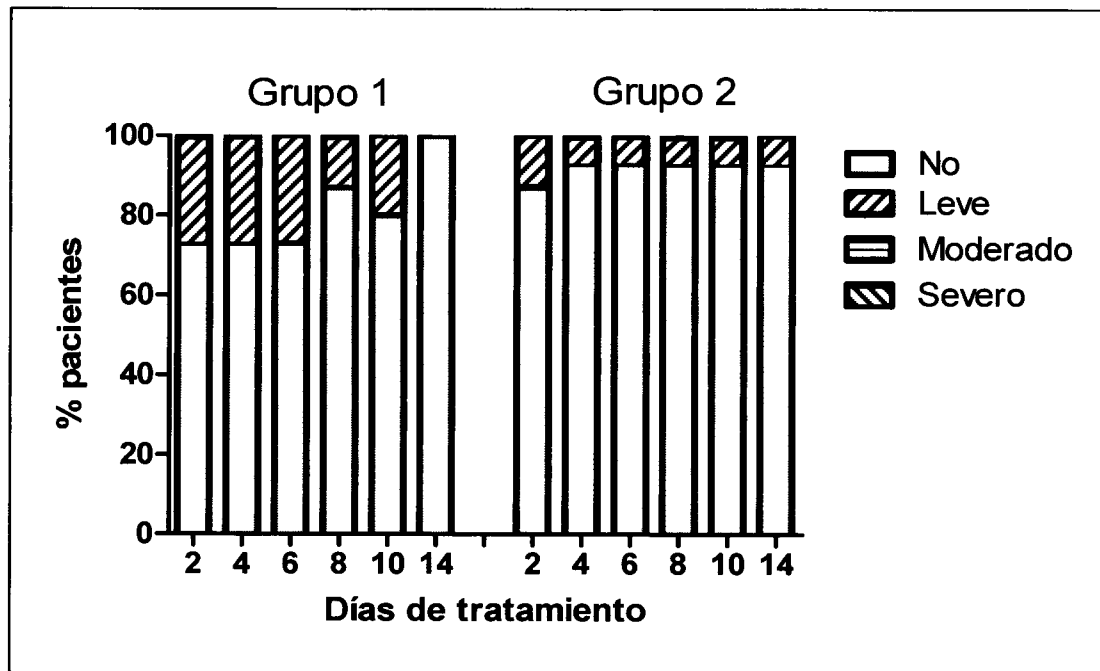


Figura 3

4/9

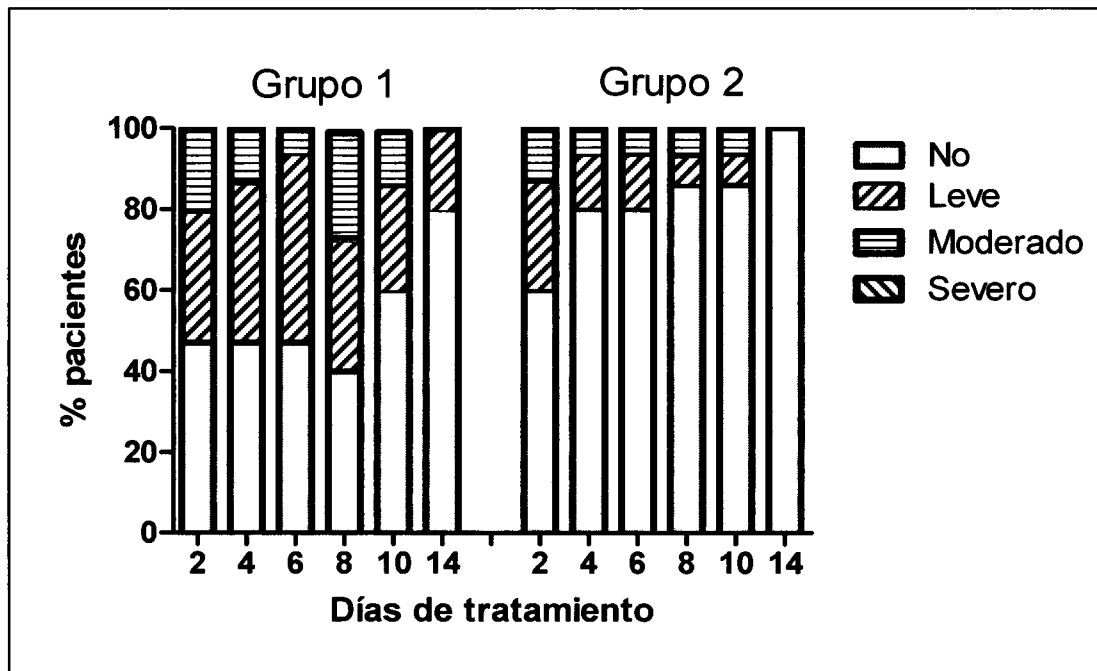


Figura 4

5/9



Figura 5

6/9

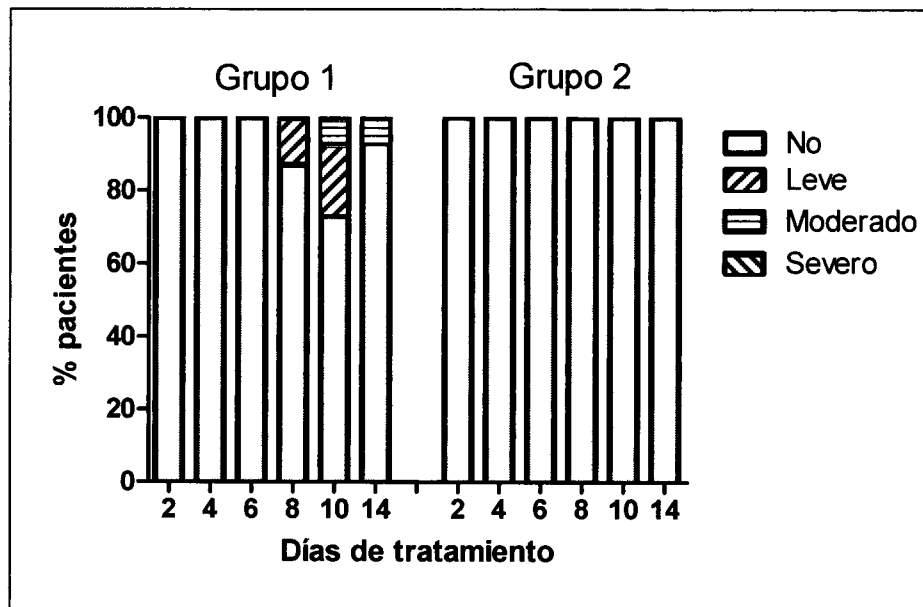


Figura 6

		Grupo 1		Grupo 2	
Parámetro	Valores de referencia	Promedio Día 1 n = 15 ($\pm$ D.E)	Promedio Día 11 n = 15 ($\pm$ D.E)	Promedio Día 1 n = 15 ($\pm$ D.E)	Promedio Día 11 n = 15 ($\pm$ D.E)
Serie roja					
Eritrocitos (M/ μ L)	4,5 – 4,9	4,5 $\pm$ 0,33	4,4 $\pm$ 0,473	4,3 $\pm$ 0,42	4,4 $\pm$ 0,34
Hematocrito (%)	37 – 47	39 $\pm$ 2,8	38 $\pm$ 4,2	38 $\pm$ 3,9	39 $\pm$ 3,0
Hemoglobina (g/dl)	12 – 16	13 $\pm$ 1,0	13 $\pm$ 1,5	13 $\pm$ 1,4	13 $\pm$ 1,1
V,C,M (fl)	82 – 95	87 $\pm$ 4,6	87 $\pm$ 5,0	87 $\pm$ 5,0	88 $\pm$ 3,6
H,C,M (pg)	27 – 31	30 $\pm$ 1,5	30 $\pm$ 1,8	30 $\pm$ 2,0	30 $\pm$ 1,5
C,H,C,M (g/dl)	32 – 36	34 $\pm$ 0,7	34 $\pm$ 0,9	34 $\pm$ 0,9	34 $\pm$ 0,7
R,A,N		3986 $\pm$ 1277	3485 $\pm$ 1222	3868 $\pm$ 1100	3443 $\pm$ 1413
Plaquetas (/ μ L)	150.000 – 400.000	261.733 $\pm$ 103.260	264.833 $\pm$ 73.285	274.600 $\pm$ 118.405	282.083 $\pm$ 103.069
VHS (mm/hr)	0 – 30	30 $\pm$ 18,1	30 $\pm$ 15,6	25 $\pm$ 20,9	22 $\pm$ 17,3
Serie blanca					
Leucocitos (/ μ L)	4.000 – 10.000	6.773 $\pm$ 1.726	6.050 $\pm$ 1.817	6.913 $\pm$ 1.764	6.525 $\pm$ 2.101
Segmentados		58,3 $\pm$ 6,90	57,2 $\pm$ 8,10	55,7 $\pm$ 5,94	52,4 $\pm$ 8,78
Eosinófilos		2,5 $\pm$ 1,36	3,7 $\pm$ 2,39	3,3 $\pm$ 1,58	3,4 $\pm$ 1,97
Monocitos		7,6 $\pm$ 2,47	7,0 $\pm$ 1,13	7,0 $\pm$ 1,60	6,5 $\pm$ 1,78
Linfocitos		31,3 $\pm$ 6,14	32,2 $\pm$ 9,11	33,8 $\pm$ 6,75	37,1 $\pm$ 9,62

Figura 7

		Grupo 1		Grupo 2	
Parámetro	Valores de referencia	Promedio Día 1 n = 15 (± D.E)	Promedio Día 11 n = 15 (± D.E)	Promedio Día 1 n = 15 (± D.E)	Promedio Día 11 n = 15 (± D.E)
Glucosa (mg/dL)	74 – 100	105 ± 65,9	120 ± 72,3	84 ± 11,2	85 ± 10
Nitrógeno ureico (mg/dL)	7 – 17	16 ± 6,35	16 ± 3,6	14 ± 3,9	13 ± 3,1
Acido úrico (mg/dL)	2,5 - 7,5	4,7 ± 1,04	4 ± 0,54	4 ± 1,10	3,9 ± 1,38
Calcio (mg/dL)	8,4 - 10,2	9,5 ± 0,65	9,5 ± 0,59	9,3 ± 0,21	9,2 ± 0,25
Fósforo (mg/dL)	2,5 - 4,5	3,9 ± 0,44	3,9 ± 0,99	4,2 ± 0,53	4,1 ± 0,47
Proteínas totales (g/dL)	6,3 - 8,2	7,3 ± 0,42	7,2 ± 0,42	7,5 ± 0,52	7,6 ± 0,40
Albúmina (g/dL)	3,5 - 5,0	4,3 ± 0,30	4,3 ± 0,24	4,3 ± 0,31	4,4 ± 0,31
Colesterol total (mg/dL)	Menor a 200	196 ± 31,3	185 ± 38,6	190 ± 36,5	186 ± 31,4
Bilirrubina total (mg/dL)	0,2 - 1,3	0,4 ± 0,17	0,4 ± 0,16	0,5 ± 0,38	0,6 ± 0,33
Transaminasa oxalacética (GOT) (U/L)	13 - 36	32 ± 13,6	29 ± 11,4	27 ± 11,6	30 ± 8,4
Fosfatasa alcalina total (FAT) (U/L)	38 – 126	119 ± 31,4	108 ± 18,6	107 ± 35,0	108 ± 33,7
Deshidrogenasa láctica total (LDH) (U/L)	313 – 618	492 ± 75,4	502,1 ± 113,7	514 ± 136,4	508 ± 137,5

Figura 8

		Grupo 1		Grupo 2	
Parámetro	Valores de referencia	Promedio Día 1 n = 15 ($\pm$ D.E)	Promedio Día 11 n = 15 ($\pm$ D.E)	Promedio Día 1 n = 15 ($\pm$ D.E)	Promedio Día 11 n = 15 ($\pm$ D.E)
FRAP		292 $\pm$ 40,999	280,32 $\pm$ 58,321	282,48 $\pm$ 66,697	278,50 $\pm$ 52,473
MDA		0,73 $\pm$ 0,318	0,71 $\pm$ 0,173	0,71 $\pm$ 0,211	0,76 $\pm$ 0,349

Figura 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CL2012/000001

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/185 (2006.01)

A61K127/00 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, WPI, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MOLARES S. ET AL., "Ethnobotanical review of the Mapuche medicinal flora: Use patterns on a regional scale" ,(2009), Journal of Ethnopharmacology, vol.122, pág. 251-260, the whole document.	1-11
A	MOLARES S. ET AL., "Chemosensory perception and medicinal plants for digestive ailments in a Mapuche community in NW Patagonia, Argentina", (2009), vol. 123, pág. 397-406.	1-11
A	BACKHOUSE N. ET AL., " Anagesic, anti-inflammatory and antioxidant properties of Buddleja globosa , Buddlejaceae", Journal of Ethnopharmacology, (2008), vol. 116, pág. 263-269, the whole document.	1-11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents , such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
08/06/2012

Date of mailing of the international search report
(19/06/2012)

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer
M. Hernandez Cuellar

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)

Facsimile No.: 91 349 53 04

Telephone No. 91 3498409

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CL2012/000001

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LETELIER M.A. ET AL., "DPPH and oxygen free radicals as pro-oxidant of biomolecules" Toxicology In Vitro, (2008), vol. 22, pág. 279-286, the whole the document.	1-11
A	LETELIER M.E. ET AL., "Liver microsomal biotransformation of nitro-aryl drugs: mechanism for potentialoxidative stress induction." J Appl Toxicol, (2004), volo.24, pág.:519-25, the whole document.	1-11
A	SPEISKY H. ET AL., "Antioxidant screening of medicinal herbal teas", Phytother Res. (2006) vol.20, pág. 462-7, the whole document.	1-11

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°
PCT/CL2012/000001

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K36/185 (2006.01)

A61K127/00 (2006.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, WPI, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	MOLARES S. ET AL., "Ethnobotanical review of the Mapuche medicinal flora: Use patterns on a regional scale", (2009), Journal of Ethnopharmacology, vol.122, pág. 251-260, todo el documento.	1-11
A	MOLARES S. ET AL., "Chemosensory perception and medicinal plants for digestive ailments in a Mapuche community in NW Patagonia, Argentina", (2009), vol. 123, pág. 397-406.	1-11
A	BACKHOUSE N. ET AL., " Anagesic, anti-inflammatory and antioxidant properties of Buddleja globosa , Buddlejaceae", Journal of Ethnopharmacology, (2008), vol. 116, pág. 263-269, todo el documento.	1-11

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☐ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
08/06/2012

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
19 de junio de 2012 (19/06/2012)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
N° de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
M. Hernandez Cuellar
N° de teléfono 91 3498409

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/CL2012/000001

C (Continuación).			DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°	
A	LETELIER M.A. ET AL., "DPPH and oxygen free radicals as pro-oxidant of biomolecules" Toxicology In Vitro, (2008), vol. 22, pág. 279-286, todo el documento.	1-11	
A	LETELIER M.E. ET AL., "Liver microsomal biotransformation of nitro-aryl drugs: mechanism for potentialoxidative stress induction." J Appl Toxicol, (2004), volo.24, pág.:519-25, todo el documento.	1-11	
A	SPEISKY H. ET AL., "Antioxidant screening of medicinal herbal teas", Phytother Res. (2006) vol.20, pág. 462-7, todo el documento.	1-11	