

Diss. ETH ex. B

Diss. ETH No. 12324

**Medical Ethnobotany of the
Isthmus-Sierra Zapotecs (Oaxaca, Mexico) and
Biological-Phytochemical Investigation of
Selected Medicinal Plants**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH
for the degree of
Doctor of Natural Sciences

Presented by
BARBARA FREI

Eidg. dipl. Apothekerin
born February 6, 1964
citizen of Au (SG)



CatE

Accepted on the recommendation of
Prof. O. Sticher, examiner
Dr. M. Heinrich, co-examiner

Zürich 1997

Resumen

Los zapotecos, habitantes de la Sierra del Istmo de Tehuantepec (Oaxaca, México), viven en una zona tropical con una gran diversidad botánica. Para este grupo indígena, las plantas y su uso tradicional juegan un rol importante tanto en la vida diaria como en los tratamientos médicos. Los curanderos, las parteras y los hierberos usan en sus tratamientos empíricos y sus rituales más de 445 especies de plantas diferentes procedentes de 110 familias botánicas.

En el marco de unos estudios de investigación etnobotánico-fitoquímica, a lo largo de 17 meses se documentaron, con trabajos etnológicos de campo, el uso y la aplicación de plantas medicinales y la manera de pensar medicinal de los curanderos, las parteras y los hierberos zapotecos. Se lograron describir 3611 posibles aplicaciones, integrando en el herbario 445 plantas medicinales. Como los conceptos de enfermedad más frecuentes entre los zapotecos pudieron averiguarse en primer lugar diversos conceptos dualísticos (p. ej. caliente-frío, dulce-agrio, húmedo-seco) así como la doctrina de signaturas y algunas clasificaciones organolépticas. Los zapotecos coleccionan plantas procedentes de seis zonas ecológicas que se caracterizan según criterios indígenas y se diferencian en cuanto a su forma de explotación y localización. Para estos estudios también se documentaron y se discutieron las posibilidades y las vías de suministro así como los criterios de selección para plantas medicinales. Estos datos son de gran importancia a la hora de establecer estrategias sostenibles para el uso de la vegetación tropical.

Tras un análisis cuantitativo de los datos coleccionados en el trabajo de campo se evaluaron las enfermedades epidemiológicas más importantes. En esa región, los problemas medicinales más frecuentes son las enfermedades dermatológicas y las afecciones gastrointestinales. En una segunda parte de los estudios, mediante unos bioensayos se analizaron los extractos crudos de 11 especies botánicas indicadas para las enfermedades dermatológicas y las afecciones gastrointestinales según su actividad antimicrobiana, antifúngica,

citotóxico-antitumoral, antiinflamatoria, inmunomoduladora y antisecretoria. En estos bioensayos se llegaron a encontrar diversas actividades que respaldan las aplicaciones tradicionales, suministrando al mismo tiempo información adicional sobre esas plantas. Además se llevó a cabo un rastreo químico con cromatografía en capa fina (CCF) y con reactivos de aspersión por las sustancias secundarias más importantes.

Begonia heracleifolia Schltdl. & Cham. (Begoniaceae) mostró en los análisis preliminares unas actividades antibacteriana y citotóxico-antitumoral, dando así evidencias farmacológicas de su uso tradicional en la medicina zapoteca. Con diversos métodos cromatográficos (VLC, MPLC, HPLC, CCF) se aislaron seis cucurbitacinas, tres esteroides, un glicósido de esteroide, cinco ácidos grasos y un oligosacárido. El elucidación estructural de estas sustancias se llevó a cabo mediante métodos espectrométricos (DCI-MS, EI-MS, FAB-MS) y con técnicas RMN uni- y bi-dimensionales (DFQ-COSY, HBMC, HMQC, ROESY, TOCSY).

Tres de las cucurbitacinas aisladas mostraron efectos citotóxico-antitumorales de diferente intensidad, mientras que los tres restantes eran inactivos. Estas actividades selectivas pueden explicarse con mecanismos de estructura-actividad.

La investigación sobre plantas medicinales procedentes de regiones tropicales y que se usan en los sistemas medicinales indígenas evoca grandes esperanzas a la hora de buscar nuevas sustancias para el tratamiento de problemas patológicos locales y globales. En este tipo de estudios no puede olvidarse, sin embargo, que el fundamento para un eventual éxito de investigación se basa en una selección indígena empírica elaborada a lo largo de los siglos. En cuanto al problema de los derechos de propiedad intelectual ("intellectual property rights"), hay que encontrar una solución rápida y justa para las dos partes – la de los informadores, generalmente indígenas, y la de los investigadores –, para que la importante búsqueda de productos naturales con efectos biológicos siga contribuyendo a solucionar problemas medicinales.

Summary

The Zapotec inhabitants of the Isthmus' Sierra of Tehuantepec in Oaxaca (Mexico) live in a tropical area of great botanical diversity. In daily subsistence and in response to illness, plants still play a major role. Healer, midwives, and herbalists use more than 445 different plant species belonging to 110 different botanical families during empirical therapies and ritual healing sessions.

For the present ethnobotanical and phytochemical study the indigenous uses of medicinal plants and the healing specialists' way of reasoning in medicinal matters were documented during a 17-month stay in the field. 3,611 medicinal uses were documented and sets of 445 voucher specimens have been deposited in several herbaria. The Zapotec employ binary forms, usually opposing systems, of classifying illnesses (e.g. hot-cold, sweet-sour, wet-dry). This dichotomy is dominant, but also doctrines of signatures, and taste and smell properties were used to classify plants and illnesses. The Zapotecs gather plants for healing purposes from six indigenous ecological zones which are defined by their respective distance to the community and by the way they are managed. These ecological data are valuable concerning sustainable resource management of the tropical vegetation.

In a quantitative approach, the epidemiologically most important plants were evaluated. Dermatological illnesses and gastrointestinal complaints are the most frequent medical problems in this region. In a second part of the study, extracts of eleven plant species were prepared and subjected to biological assays for the evaluation of antimicrobial, antifungal, cytotoxic/antitumoral, anti-inflammatory, immunomodulatory, and antisecretory activity. Several activities have been evaluated corroborating the alleged properties as described in traditional medicine and additional information on the plants was obtained. Also, a chemical screening on thin-layer chromatography (TLC) and with spray reagents has been conducted.

Begonia heracleifolia Schltldl. & Cham. (Begoniaceae) showed antibacterial and cytotoxic/antitumor activity in the screening corroborating the medicinal use of

this plant among the Zapotec healers. With different chromatographic methods, (VLC, MPLC, HPLC, TLC), six cucurbitacins, three sterols, a sterol glycoside, five fatty acids, and an oligosaccharide have been isolated. Structure elucidation was conducted mainly by spectrometric methods (DCI-MS, EI-MS, FAB-MS) and 1D- and 2D-NMR techniques (COSY, HMBC, HMQC, ROESY, TOCSY).

Three of the isolated cucurbitacins showed varying cytotoxic/antitumoral activity, while three were inactive. These selective activities may be due to specific structural features of the respective compounds.

Research on traditionally used medicinal plants from tropical countries shows great promise in the search for new drugs in the treatment of local and global medicinal problems. In case of successful results, it should never be forgotten that the primary selection has been based on empirical indigenous criteria applied over centuries. Solutions to the "intellectual property rights" problems must be found soon, since it is necessary to carry on the important search for natural products which are valuable for medicine.

Zusammenfassung

Die Zapoteken, Bewohner der Sierra im Isthmus von Tehuantepec (Oaxaca, Mexiko) leben in einer tropischen Zone mit hoher botanischen Vielfalt. Pflanzen und ihre traditionelle Verwendung spielen für diese indigene Gruppe eine wichtige Rolle im täglichen Leben und somit auch in medizinischen Behandlungen. Heiler, Hebammen und Arzneipflanzenspezialisten verwenden in empirischer Therapie und Ritualen über 445 verschiedene Pflanzenspezies aus 110 botanischen Familien.

In Rahmen einer ethnobotanischen - phytochemischen Forschungsarbeit wurde während 17 Monaten in ethnologischer Feldforschung der Gebrauch und die Anwendung von Medizinalpflanzen und die medizinische Denkweise der zapotekischen Heiler, Hebammen und Arzneipflanzenspezialisten dokumentiert. Es konnten 3611 mögliche Anwendungen beschrieben und 445 Medizinalpflanzen herbarisiert werden. Als wichtige Krankheitskonzepte konnten in erster Linie verschiedene dualistische Konzepte (z.B. heiss-kalt, süß-sauer, feucht-trocken) und im Weiteren die Signaturenlehre und einzelne organoleptische Klassifizierungen eruiert werden. Die Zapoteken verwenden Pflanzen aus sechs nach indigenen Kriterien eingeteilten ökologischen Zonen, die in Abhängigkeit von der jeweiligen Nutzung und Entfernung vom Ort unterschieden werden. Die Möglichkeiten und Wege der Beschaffung, sowie die Selektionskriterien für Medizinalpflanzen wurden dokumentiert und diskutiert. Diese Daten sind wichtig hinsichtlich nachhaltiger Nutzungsstrategien der tropischen Vegetation.

In einer quantitativen Auswertung der Felddaten wurden die epidemiologisch wichtigsten Erkrankungen evaluiert. Entzündliche Hauterkrankungen und gastrointestinale Beschwerden sind die wichtigsten medizinischen Probleme in dieser Region. In einem zweiten Teil der Forschung wurden Rohextrakte von 11 Pflanzenspezies aus den Indikationsgebieten Hauterkrankungen und gastrointestinale Beschwerden in biologischen Tests auf antimikrobielle, antifungale, zytotoxische/antitumorale, anti-inflammatorische, immunmodulierende und antisekretorische Aktivität untersucht. In diesen Bio-

Assays wurden verschiedene Aktivitäten gefunden, die die traditionellen Verwendungen untermauern, aber auch zusätzliche Informationen über diese Pflanzen liefern. Ein chemisches Screening mit Dünnschichtchromatographie (DC) und Sprühreagenzien auf hauptsächliche Sekundärpflanzenstoffe wurde zusätzlich durchgeführt.

Begonia heracleifolia Schltl. & Cham. (Begoniaceae) zeigte in den Voruntersuchungen antibakterielle und zytotoxische-tumorhemmende Aktivitäten, die pharmakologische Belege für die traditionelle Anwendung in der zapotekischen Medizin liefern. Mit Hilfe verschiedener chromatographischer Methoden (VLC, MPLC, HPLC, DC) wurden sechs Cucurbitacine, drei Sterole, ein Sterolglykosid, fünf Fettsäuren, und ein Oligosacharid isoliert. Die Strukturaufklärung dieser Substanzen erfolgte mit Hilfe spektrometrischer Methoden (DCI-MS, EI-MS, FAB-MS) und eindimensionalen und zweidimensionalen NMR-Techniken (DFQ-COSY, HMBC, HMQC, ROESY, TOCSY).

Drei der isolierten Cucurbitacine zeigen unterschiedlich starke zytotoxisch/tumorhemmende Wirkungen, während drei weitere inaktiv waren. Diese selektive Aktivität kann durch Struktur-Wirkungs-Mechanismen erklärt werden.

Forschung über Medizinalpflanzen aus tropischen Gebieten, die in indigenen Medizinalsystemen verwendet werden, birgt grosse Hoffnungen in der Suche nach neuen Wirkstoffen für die Behandlung von lokalen und globalen Krankheitsproblemen. Dass das Fundament für einen eventuellen Erfolg in der Forschung auf einer über Jahrhunderten, empirischen indianischen Auswahl basiert, sollte bei solchen Studien nicht vergessen werden. Für die Problematik der „intellectual property rights“ muss für beide Seiten, die der (meist) indigenen Informanten und die der Forscher eine schnelle und faire Lösung gefunden werden, damit die wichtige Suche nach neuen Naturstoffen mit biologischer Wirkung weiterhin ihren Beitrag zur Lösung von medizinischen Problemen leisten kann.