

## BÚSQUEDA DE SUSTANCIAS ANTIPARASITARIAS DE LA FLORA COLOMBIANA

### THE SEARCHING OF ANTIPARASITE COMPOUNDS FROM COLOMBIAN FLORA

Diana Cardona<sup>1</sup>, Winston Quiñones<sup>1</sup>, Fernando Torres<sup>1</sup>, Iván D. Vélez<sup>2</sup>, Sara Robledo<sup>2</sup>, Ramiro Fonnegra<sup>3</sup>, Omar Triana<sup>4</sup>, Lía Cristina Upegui-González<sup>5</sup>, Clara I. Orozco<sup>6</sup>, Rubén Torrenegra<sup>7</sup>, Fernando Echeverri<sup>1,8</sup>

#### Resumen

En este trabajo se analiza la funcionalidad de una investigación dirigida hacia la búsqueda de sustancias antiparasitarias de la flora colombiana, sus fundamentos y desarrollo. Además se presentan los criterios de selección de los materiales promisorios del proyecto así como de otros ejemplos reportados en la literatura.

*Palabras clave:* bioprospección, leishmaniosis, productos naturales, tripanosomiasis.

#### Abstract

This paper analyzes the functionality of research focusing in the finding natural antiparasite compounds from the colombian flora, specially bases and development. Additionally, selection criteria of promisory material from the project and cases of the literature are presented as well.

*Key words:* bioprospection, leishmaniosis, natural products, tripanosomiasis.

## INTRODUCCIÓN

La química de productos naturales sigue siendo un interesante campo para farmacólogos y químicos sintéticos, porque ofrecen moléculas bioactivas que sirven como modelo y a partir de las cuales se pueden generar sustancias para aplicación en farmacología o en agricultura (Overwalle, 2005; Prasad et al., 2005; Rahman et al., 2001, 2002, 2005; Wagner, 2005). Aproximadamente un 60% de la población mundial recurre a las plantas para el

tratamiento de sus enfermedades. Dado que en los países tropicales como Colombia se dispone de una gran riqueza en biodiversidad, muchos investigadores se han dedicado a la búsqueda de compuestos activos contra diferentes agentes infecciosos en plantas, microorganismos y organismos marinos.

Los países del tercer mundo son afectados por varias enfermedades, entre las cuales las ocasionadas por parásitos (leishmaniosis, malaria, chagas), mycobacterias (tuberculosis), bacterias (neumonía,

Universidad de Antioquia-SIU. A. A. 1226. Medellín (Antioquia), Colombia: <sup>1</sup> Grupo Química Orgánica de Productos Naturales; <sup>2</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales; <sup>3</sup> Herbario HUA-Estudios Botánicos; <sup>4</sup> Grupo de Chagas; <sup>5</sup> Mutagénesis y Carcinogenesis.

<sup>6</sup> Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Colombia.

<sup>7</sup> GIFUJ, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

<sup>8</sup> Correo electrónico: <echeverri@quimbaya.udea.edu.co>.

enfermedad diarreica aguda) y virus (dengue, fiebre amarilla) son las que causan la mayor morbilidad y mortalidad. Para las primeras de ellas existe una rica tradición etnomédica que aprovecha la amplia biodiversidad paradójicamente disponible en estos países.

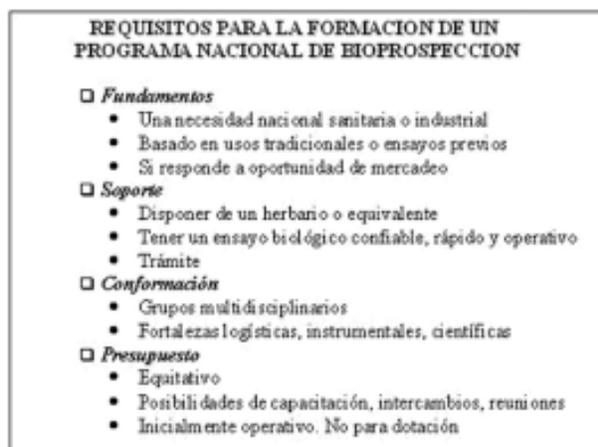
Son muy pocos los intentos que se han hecho en Colombia y en general en América Latina para estudiar de manera sistemática si las tradiciones y usos etnomédicos realmente tienen asidero y validez científica y a la vez generar información valiosa socialmente apropiable. Como fruto de lo anterior se unieron los grupos de la Universidad de Antioquia (PECET, Carcinogénesis, Chagas, Sustancias Bioactivas, Estudios Botánicos, Química Orgánica de Productos Naturales), Universidad Javeriana (GIFUJ) y el Instituto de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia, quienes emprendieron un proyecto en varias fases para buscar sustancias contra leishmaniosis y tripanosomiasis. En este artículo se presentan las bases fundamentales de dicha propuesta, sus metodologías y alcances. Finalmente y durante el desarrollo del proyecto han surgido varias circunstancias que hicieron necesario replantear los parámetros inicialmente propuestos y que marcan una pauta metodológica para futuras búsquedas de este tipo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**La propuesta de investigación.** Inicialmente el proyecto se justificó con base en parámetros muy específicos (figura 1) que determinaron las bases sobre las cuales descansaba y la clase de necesidades a que respondía. El reunir fortalezas de grupos multidisciplinarios con experiencia en la temática, permitiría generar buenos resultados con la infraestructura disponible.

El proyecto de investigación se enfoca más hacia una bioprospección que a un proyecto en sí, pues tiene un objetivo muy específico como es generar información apropiable sobre el uso y la actividad experimental de plantas empleadas contra *Leishma-*

*nia* y *Trypanosoma*. Además se lleva a cabo en tres fases (exploratoria, confirmatoria y desarrollo) y es realizado por grupos multidisciplinarios. Cada una de estas fases produce un valor agregado importante. En la primera fase (figura 2) se evaluó experimentalmente el material usado en etnomedicina y un análisis citotóxico preliminar. De esta manera se valida el uso tradicional de plantas para combatir las enfermedades parasitarias mencionadas y además se arrojan luces acerca de sus riesgos preliminares potenciales. Luego de seleccionar los extractos mas promisorios con base en la citotoxicidad/efectividad se pasa a la segunda fase confirmatoria de bioactividad en un modelo que permita definir con certeza la acción antiparasitaria del extracto y el aislamiento e identificación de la(s) sustancia(s) responsable(s). En la última fase se optimiza la molécula mediante síntesis orgánica asistida por modelación molecular.



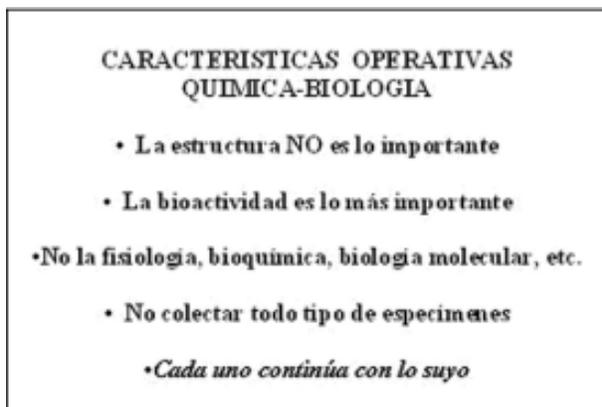
**Figura 1.** Requisitos para la formación de un programa nacional de bioprospección

Dentro de este modelo se derivan secuencialmente valores agregados a la propuesta. De esta forma, en las primeras fases se beneficia la sociedad por la confirmación o negación de un uso o alerta sobre posibles efectos tóxicos; en la segunda se posibilita la formación de investigadores al más alto nivel y en la tercera se pone de relieve el desarrollo de un medicamento. No obstante su uso como un producto con base en recursos naturales puede ser justificado desde la primera fase.



**Figura 2.** Fases de un programa de bioprospección

Respecto a las características operativas (figura 3) se definen varios parámetros que en el pasado han afectado negativamente los proyectos de investigación relacionados con sustancias bioactivas. De un lado se establece que el objetivo al menos en la primera fase no es aislar o purificar compuestos, excepto que se generen en los procesos de partición o fraccionamiento. Para el caso de los ensayos biológicos se enfatiza más en el ensayo en sí que en otros temas (fisiología, biología molecular, etc.). Estos puntos limitan el proceso creativo para químicos y parasitólogos, pero permiten mantenerse constantemente en el objetivo de la investigación, pues en el pasado buena parte de los esfuerzos y del presupuesto se han disipado en la asignación estructural de moléculas sin ninguna bioactividad o analizando eventos biológicos que poco redundan en la búsqueda de sustancias bioactivas.



**Figura 3.** Características operativas Química-Biología

Para los botánicos también se presentaron restricciones pues la colecta debía responder a algo muy específico y concreto y no a toda clase de especímenes. Visto de esta manera el esquema permite además que cada grupo mantenga activas otras líneas de investigación y genere una productividad diferente que en primera instancia no es fácil de obtener y mantener con las primeras fases de la propuesta.

**Parámetros de selección. Lo promisorio.** Para el caso del proyecto de investigación “Búsqueda de antiparasitarios de la flora colombiana” hubo que redefinir en tres oportunidades los parámetros de selección, pues se presentaron las siguientes situaciones: **a)** índices de selectividad óptimos,  $IS = CL_{50} / CE_{50} > 10$ , pero que se alcanzaban por concentraciones muy altas, por ejemplo  $CL_{50}$  1000 mg/ml y  $CE_{50}$  100 mg/ml; **b)** índices de selectividad bajos ( $< 10$  mg/ml) con toxicidades elevadas y concentraciones efectivas bajas. Esto deja abierta la posibilidad de que los altos índices de toxicidad sean enmascarados por las altas actividades reportadas. En otras palabras, existen moléculas muy activas pero también muy tóxicas; sin embargo cabe la posibilidad de que la molécula activa sea muy diferente de la tóxica y solo dereplicaciones sucesivas de un extracto permitirán definir quien es quien en un extracto; **c)** las moléculas bioactivas debido a la alta toxicidad no pueden ser excluidas de plano como posibles candidatos antiparasitarios, pues pueden servir como plantillas para desarrollar moléculas activas mediante procesos de modelación molecular y síntesis orgánica. Algunos fármacos de uso actual (cardiotónicos y algunos anticancerosos) pueden ser extremadamente tóxicos si no se aplican con precauciones, dado su índice terapéutico tan estrecho.

Adicional al IS también es conveniente evaluar el porcentaje de inhibición a 50 mg/ml, una dosis que permite definir el potencial de un material cuando este valor es superior al 50%. Más que el valor intrínseco su importancia radica en la posibilidad de mejorar su perfil de actividad por transformaciones químicas.

**Productos naturales y la búsqueda de antiparasitarios. Limitaciones.** Las limitaciones anteriormente descritas trascienden más allá de lo operativo de la propuesta en sí, pues los criterios para seleccionar lo más promisorio al parecer son muy subjetivos y sus bondades puede sobrevalorarse o solaparse con algunas limitaciones e inconvenientes derivados del mismo hecho experimental. Continuamente se reporta en la literatura científica moléculas con actividad biológica muy variada y en primera instancia muchas de ellas tendrían un futuro promisorio como moléculas líderes para desarrollar nuevos fármacos.

A pesar de todos los esfuerzos hechos y de la multitud de moléculas y extractos analizados y de la abundancia de moléculas naturales reportadas en la literatura, ¿por qué razón se han obtenido tan pocos éxitos? Esta es una pregunta con pertinencia científica y social, pero que en alguna manera pone en tela de juicio a la naturaleza como fuente de moléculas bioactivas, sino que pone en tela de juicio nuestra manera de tratar de aprovechar los recursos naturales, debido a la carencia de una visión de complejidad.

Sin embargo son los métodos, la organización de la investigación farmoquímica y los objetivos planteados a diferentes niveles los que deben ser analizados.

Varias aproximaciones pueden presentarse como respuesta a esta carencia de desarrollo de nuevos productos: **a)** el modelo experimental no es el adecuado, bien sea por el estadio del organismo modelo o porque no es una forma infecciosa y patogénica en la vida real; **b)** algunas dosis son francamente extremas e incluso ocasionalmente no se tiene en cuenta que la actividad puede originarse por una propiedad fisicoquímica (pH, alteración de la osmolaridad, etc.) más que por una acción bioquímica definida y específica; **c)** pocas veces se emprenden ensayos confirmatorios en modelos experimentales más seguros y no se realiza una fase de optimización molecular que permita definir que partes de la molécula están involucradas en la actividad; **d)** la frecuencia de aplicación, la dosificación, las interacciones moleculares, la inactivación/activación

metabólica e incluso la misma toxicidad no son considerados en los inicios investigativos. Más aun, usualmente se reportan altos niveles de actividad pero no la citotoxicidad asociada; **e)** usualmente se toma una gran cantidad de especies y de extractos, de tal manera que la capacidad operativa y analítica es desbordada en sus aspectos logísticos y económicos; los ensayos preliminares *per se* justifican una hipotética y amplia exploración etnobotánica; **f)** la dereplicación de las sustancias activas e identificación de los principios activos son lentos y azarosos. Incluso puede existir descomposición y carencia de actividad por un posible sinergismo de una mezcla de sustancias; **g)** finalmente la casi totalidad de la investigación tiene orígenes netamente académicos y para la industria farmoquímica su renuencia para abordar el tema puede tener connotaciones más mediáticas que económicas; por suerte está cambiando este paradigma hacia una aproximación más racional de los recursos de la biodiversidad y el respeto de los derechos de los megadiversos; **h)** posiblemente la actividad se debe a residuos de solventes altamente tóxicos, como por ejemplo metanol.

**Interpretación de resultados.** Hasta el momento se tienen extractos refinados de 15 especies que poseen altas actividades *in vitro* y bajas citotoxicidades sobre amastigotes de *Leishmania (V.) panamensis* y/o *Trypanosoma cruzi*. Cinco especies se han evaluado en su acción genotóxica a través del ensayo de migración de célula única, de las cuales solamente una exhibió este tipo de acción. La mayoría de los extractos han sido sometidos a un perfil de sus componentes mediante resonancia magnética nuclear. Adicionalmente se han aislado e identificado varios metabolitos que han sido caracterizados por métodos espectroscópicos.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Antioquia y a Colciencias la financiación del proyecto "Búsqueda de antiparasitarios de la flora colombiana" y a los investigadores y estudiantes que desarrollan la parte operativa del mismo.

## REFERENCIAS

- Rahman A, Choudhary MI.** 2001. Bioactive natural products as a potential source of new pharmacophores. A theory of memory. *Pure and Applied Chemistry*, 73:555-560.
- Rahman A, Choudhary MI.** 2002. Biodiversity-a wonderful source of exciting new pharmacophores. Further to a new theory of memory. *Pure and Applied Chemistry*, 74:511-517.
- Rahman A, Choudhary MI.** 2005. Biodiversity as a source of new pharmacophores: A new theory of memory. Part 3. *Pure and Applied Chemistry*, 77:75-81.
- Overwalle GV.** 2005. Protecting and sharing biodiversity and traditional knowledge: Holder and user tools. *Ecological Economics*, 53:585-607.
- Prasad AK, Kumar AP, Kumar S, Dabur R, Singh N, Chhillar AK, Sharma GL, Ghosh B, Wengel J, Olsen CE, Parmar VS.** 2005. Investigations toward new lead compounds from medicinally important plants. *Pure and Applied Chemistry*, 77:25-40.
- Wagner H.** 2005. Natural products chemistry and phytomedicine in the 21st century: New developments and challenges. *Pure and Applied Chemistry*, 77:1-6.

