

QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES COMO FUENTE DE MOLÉCULAS BIOACTIVAS

por

Luis Fernando Echeverri López*

Resumen

Echeverri López, L. F.: Química de productos naturales como fuente de moléculas bioactivas. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 27(104): 423-439, 2003. ISSN 0370-3908.

Los productos naturales son fuente de moléculas con aplicaciones en diferentes campos de la vida humana. En este artículo se describe el aislamiento, la identificación y la actividad de varios metabolitos secundarios obtenidos de plantas colombianas. Estos incluyen sustancias con aplicación en agronomía y en farmacología humana y animal. También se mencionan algunos aspectos relacionados con la bioprospección y la utilización de esos metabolitos.

Palabras clave: Productos naturales, Agronomía, Farmacología, estructura, bioensayo, bioprospección.

Abstract

The natural products are source of molecules with applications in different fields of the human life. In this article the isolation, identification and activity of several secondary metabolites obtained from Colombian plants is described. These include substances with application in agronomy and in human and animal pharmacology. Finally, some aspects related with bioprospection and the use of those compounds are also reported.

Key words: Natural products, Agronomy, Pharmacology, structure, bioassay, bioprospection.

Introducción

Los productos naturales en forma bruta o refinada siempre han hecho parte fundamental de la vida humana: curan el cuerpo, alivian el alma, eliminan el dolor, embellecen, saborizan, perfuman, o causan éxtasis y además controlan pestes. Las moléculas aportadas son de muy diversas estructuras y actividades: captopril, epibatidina, alcaloides de

vinca, curare, quina, morfina, opio, penicilina, taxol, piretrinas, esencias, ciclosporina, eugenol, mentol, rifampicina, prostanoïdes, esteviosido, hormonas del crecimiento de plantas y feromonas (Newman, *et al.* 2000; Hadacek, 2002; Pietra, 2002). Actualmente los productos naturales se exploran más como una fuente de nuevas plantillas farmacológicamente activas que como materia prima empleada para fabricar y producir medicamentos directamente.

* Universidad de Antioquia. Grupo de Química Orgánica de Productos Naturales. E-mail: echeverri@catios.udea.edu.co; feche@epm.net.co. Apartado Aéreo 1226, Medellín-Colombia

conidias y ascósporas (Figura 3) (Luis, *et al.* 2000; Quiñones *et al.* 2000; Escobar *et al.* 2002). Esta última forma es especialmente resistente contra factores ambientales adversos, como la temperatura y la humedad.

Como se discute más adelante, se ha encontrado una íntima relación entre la resistencia a microorganismos patógenos y la presencia de varias de estas fitoalexinas; adicionalmente, han sido aislados la casi totalidad de los intermedios biosintéticos, incluyendo algunos dímeros y productos de degradación metabólica.

1.1.4. Fitoalexinas en papaya

La papaya (*Carica papaya*) es una fruta muy susceptible a enfermedades de origen fúngico, especialmente a *Colletotrichum gloeosporoides*. Tanto cuando se tratan rodajas de esta fruta con cloruro de cobre como cuando se exponen a esporas de este hongo, se generan pequeñas concentraciones de dos sustancias químicamente muy emparentadas; una de ellas se identificó posteriormente por resonancia magnética nuclear y fue confirmada posteriormente por difracción de Rayos X como la hidroxacetosiringona (Echeverri *et al.*, 1996b). Este compuesto además es un reconocido activador de eventos bioquímicos relacionados con la patogénesis de *Agrobacterium tumefaciens* (Tzfira & Citovsky, 2002); su síntesis fue realizada mediante una sencilla secuencia de reacciones (Echeverri *et al.*, 2000) (Figura 4).

1.1.5. Resistencia y de la susceptibilidad a microorganismos patógenos

Como resultado de las investigaciones netamente químicas con fitoalexinas, se ha emprendido una evaluación

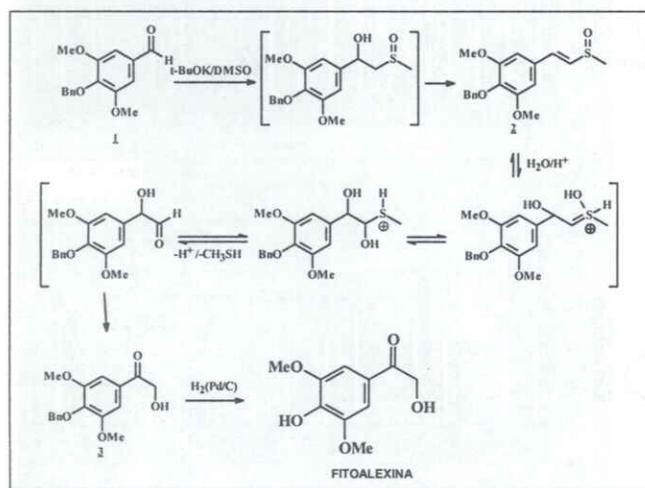


Figura 4. Estructura y síntesis de la fitoalexina de papaya

de las sustancias presentes/ausentes en variedades de plantas resistentes y susceptibles a microorganismos, especialmente hongos. Desde un punto de vista simplista, podríamos asumir que la resistencia de una planta contra un microorganismo patógeno se debe a la producción en el momento y en las cantidades precisas de fitoalexinas o sustancias estructuralmente análogas a ellas (van Etten *et al.*, 2001).

Algunos hechos altamente correlacionables con esta hipótesis de presencia/ausencia de metabolitos han sido encontrados recientemente. Así por ejemplo, se comparó la química de variedades fríjol susceptibles a la antracnosis (ICA Calima, Cargamanto Rojo, Cargamanto Mocho, Cargamanto Corriente, Uribe Rosado) con las variedades resistentes (ICA Citará, Quimbaya y muy especialmente LAS 106 y LAS 220). Las primeras tienen limitada capacidad para producir fitoalexinas mientras que las del segundo grupo, además de tener buenos niveles de fitoalexinas preformadas, poseen una alta capacidad para producirlas en altas concentraciones y rápidamente (Figura 5); el principal compuesto responsable de la resistencia parece ser el pterocarpano phaseollina (Durango *et al.*, 2002).

Un análisis del esquema biosintético de los flavonoides (Druka *et al.*, 2003; Akashi *et al.*, 1999) y su correlación con las fitoalexinas de fríjol estudiadas en este trabajo, indican que la susceptibilidad puede originarse por fallas en la regulación metabólica (Figura 6):

a. A diferencia de lo que han encontrado otros autores (Blount *et al.*, 2000; Winkel-Shirley, 2001) no parece ser PAL la enzima limitante del proceso biosintético, pues en todas se observan buenas cantidades de una mezcla de isoflavonoides.

b. Ninguna de las variedades colombianas produce cantidades detectables de kievitona, una de las principales fitoalexinas en materiales norteamericanos y europeos, aunque en ambas se generan igualmente sus precursores, la genisteina y dalbergioidina. (Liu *et al.*, 1995; Hargreaves & Selby, 1978).

c. A pesar de producir niveles similares de daidzeina, solamente las resistentes tienen una alta capacidad para convertirla eficientemente a phaseollina.

d. La diferencia más importante radica en que tanto para la producción de kievitona como para la de phaseollina se requiere la acción de dos prenilasas, enzimas que introducen un residuo de isopreno en el núcleo de isoflavonoide; al parecer la ciclación del precursor para generar un pterocarpano no es la limitante del proceso biosintético. (López-Meyer & Paiva, 2002; Dewick & Steele, 1982).

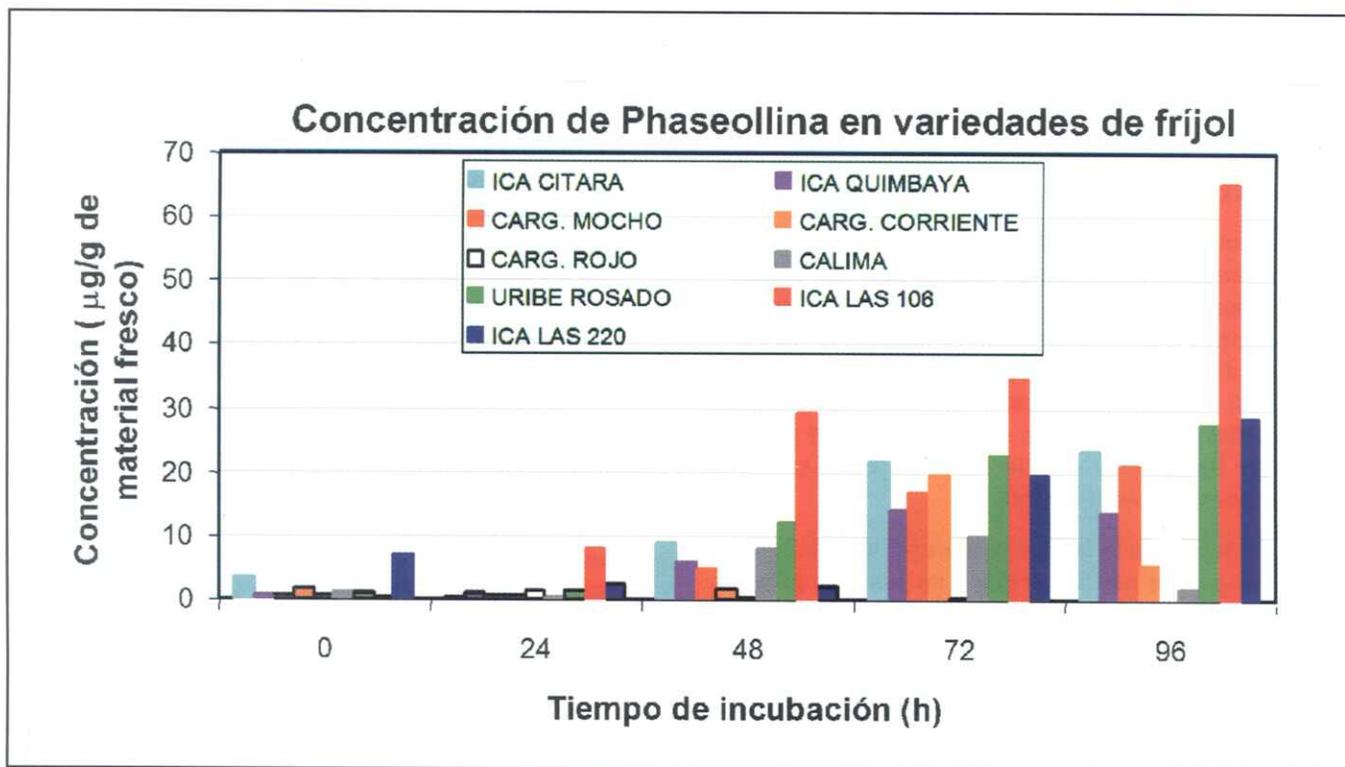


Figura 5. Producción de Phaseollina por algunas variedades de frijol

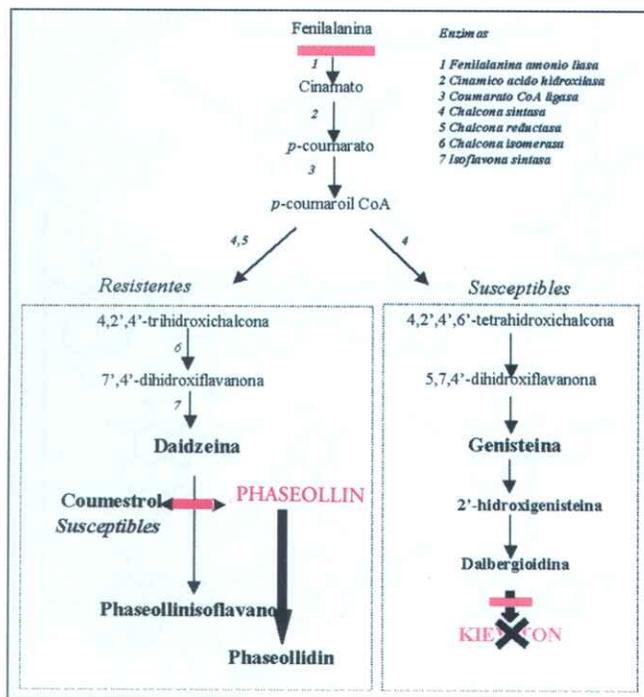


Figura 6. Biosíntesis de isoflavonoides en frijol

e. De otro lado, la variedad Uribe Rojo tiene un perfil similar al de las variedades resistentes, lo que coincide con la observación de que no es completamente susceptible a antracnosis.

En banana y plátano también se halló una alta correlación entre la presencia de determinados compuestos y la resistencia a sigatoka negra (Otálvaro *et al.*, 2002a). Existe una respuesta muy diferente en la producción de fitoalexinas fenilfenalenónicas; en la variedad de plátano Pelipita, hay una respuesta química más rápida y compleja al ataque por sigatoka negra, generando altos niveles de varias fitoalexinas fenilfenalenónicas, principalmente anigorufona, irenolona y la 4'-metoxiirenolona. En la variedad de banana susceptible Cavendish, la respuesta química es menos diversificada y más pobre en cuanto a la concentración de nuevas sustancias de defensa (Figura 7).

Es importante resaltar que las musanolonas son sustancias que se producen casi exclusivamente bajo factores de stress, pero aún no hay luces concretas con respecto a su biosíntesis. Aunque se han aislado casi todos los productos biosintéticos de la ruta de las fenilfenalenonas en *Musa*, (Otálvaro *et al.*, 2002b; Otálvaro *et al.*, 2002c)

(Figura 8), no existe ningún reporte respecto a la bioquímica enzimática. De manera similar al caso anteriormente descrito para el fríjol, este hecho es muy importante para establecer los puntos en los cuales está regulada la ruta para las especies resistentes y susceptibles no sólo a la sigatoka negra sino también al “Mal de Panamá”.

Así como la presencia de un metabolito es correlacionable con la resistencia a un microorganismo patógeno, también es posible que se presente el caso contrario, es decir, que la presencia de alguna o algunas sustancias sea la responsable de la susceptibilidad de las plantas a determinados microorganismos e insectos. Por ejemplo, los resultados de la inducción de fitoalexinas en papaya no siempre fueron muy correlacionables con la producción y la actividad antifúngica.

Esto ha replanteado la hipótesis acerca de si la hidroxiacetosiringona es una fitoalexina o un factor de patogenicidad, como han señalado algunos autores *tumefasciens* (Tzfira & Citovsky, 2002). Esto se comprobó de varias maneras: en la variedad Hawaiana (susceptible) la concentración de esta sustancia se incrementa a medida que

la fruta madura; dicho evento bioquímico está asociado a una alta colonización por *C. gloeosporoides*. Además, la aplicación de soluciones acuotánolicas de hidroxiacetosiringona en la superficie de frutas de las variedades Sofía (resistente) y Cotové (susceptible) también desencadena una alta patogénesis (Figura 9) (Echeverri *et al.*, 2003a, sin publicar).

Otro ejemplo de estos “errores metabólicos” se presentan en el tabaco pero de una manera un poco más compleja. En algunas variedades una sutil mezcla de compuestos del tipo divatrienos y labdanos, son indispensables para atraer la larva del fitófago *Heliothis tergemina*; sin embargo, en otras variedades tiene que existir una asociación con otros compuestos químicos para que la atracción exista (Figura 10). De igual manera, es posible clasificar las variedades de tabaco de acuerdo con sus perfiles químicos e incluso asociar la ausencia/presencia de un compuesto con el comportamiento de la larva hacia dicho material (Amaya, 2001).

1.1.6. Elicitores de fitoalexinas

En varias ocasiones se ha demostrado que algunos aminoglicósidos son agentes inductores de la producción

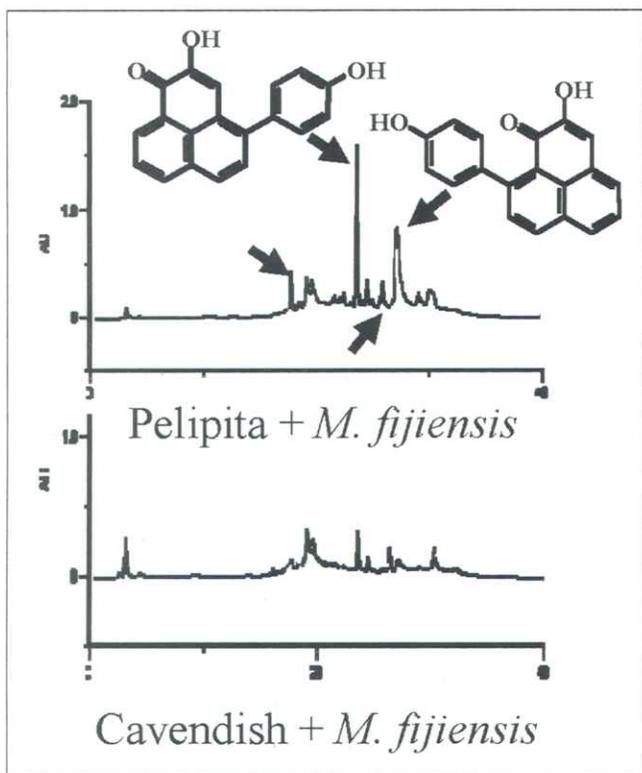


Figura 7. Producción de fitoalexinas en hojas de plátano vars. Pelipita (resistente) y Cavendish (susceptible) atacadas por sigatoka negra.

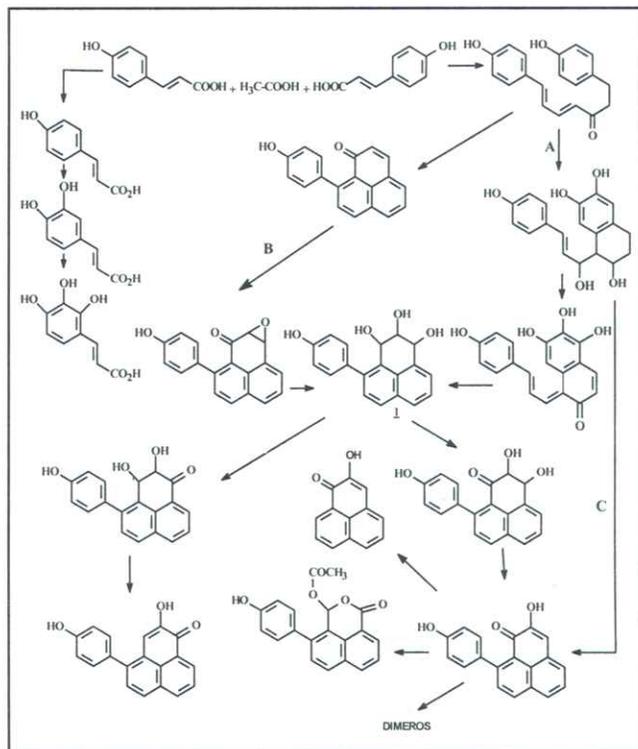


Figura 8. Biosíntesis propuesta para los metabolitos de *Musa*

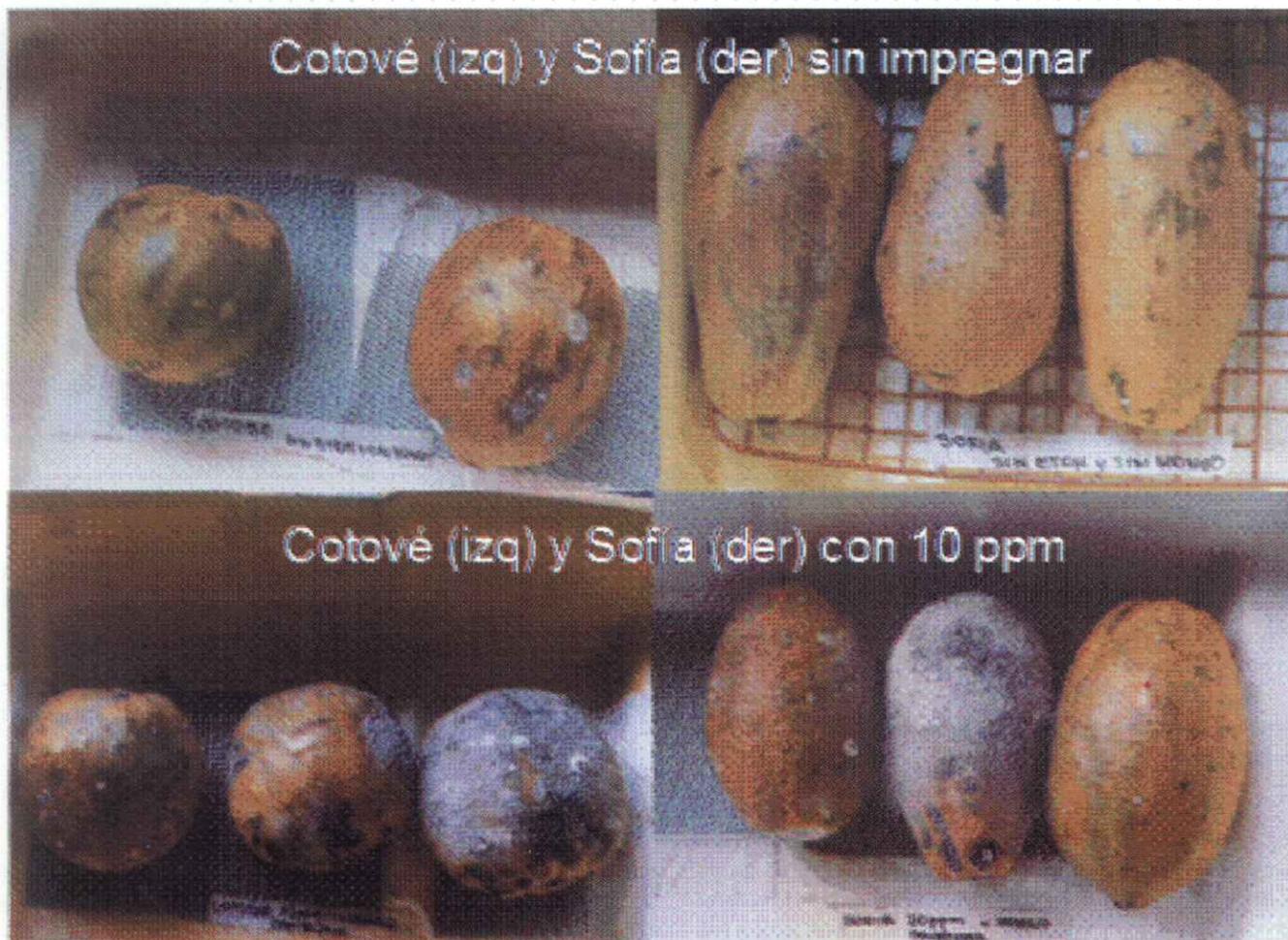
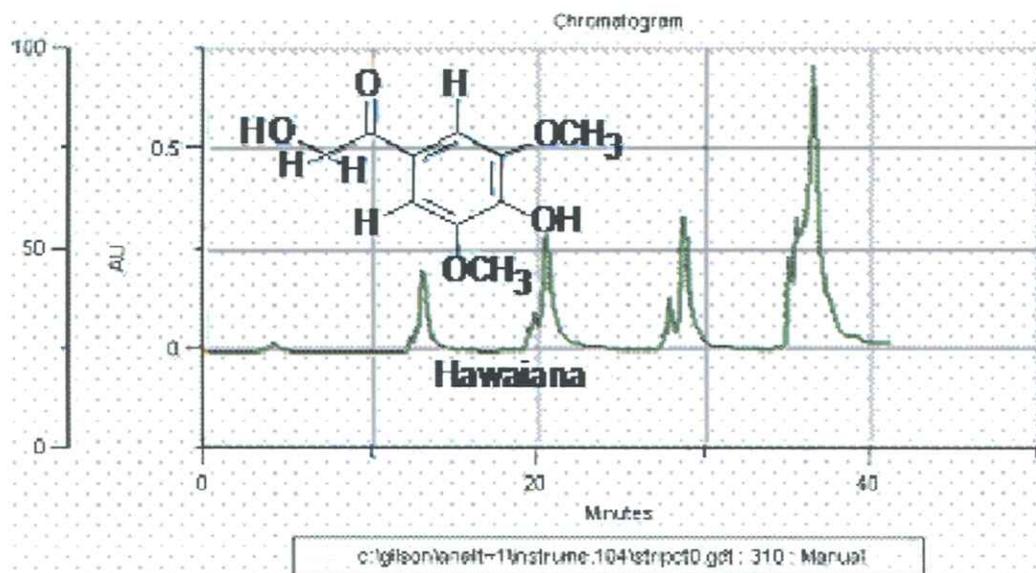


Figura 9. Acumulación de hidroxiaetosiringona en var. Hawaiana y patogénesis por Antracnosis. Arriba, estado natural, abajo, rociadas con 10 ppm de hidroxiaetosiringona

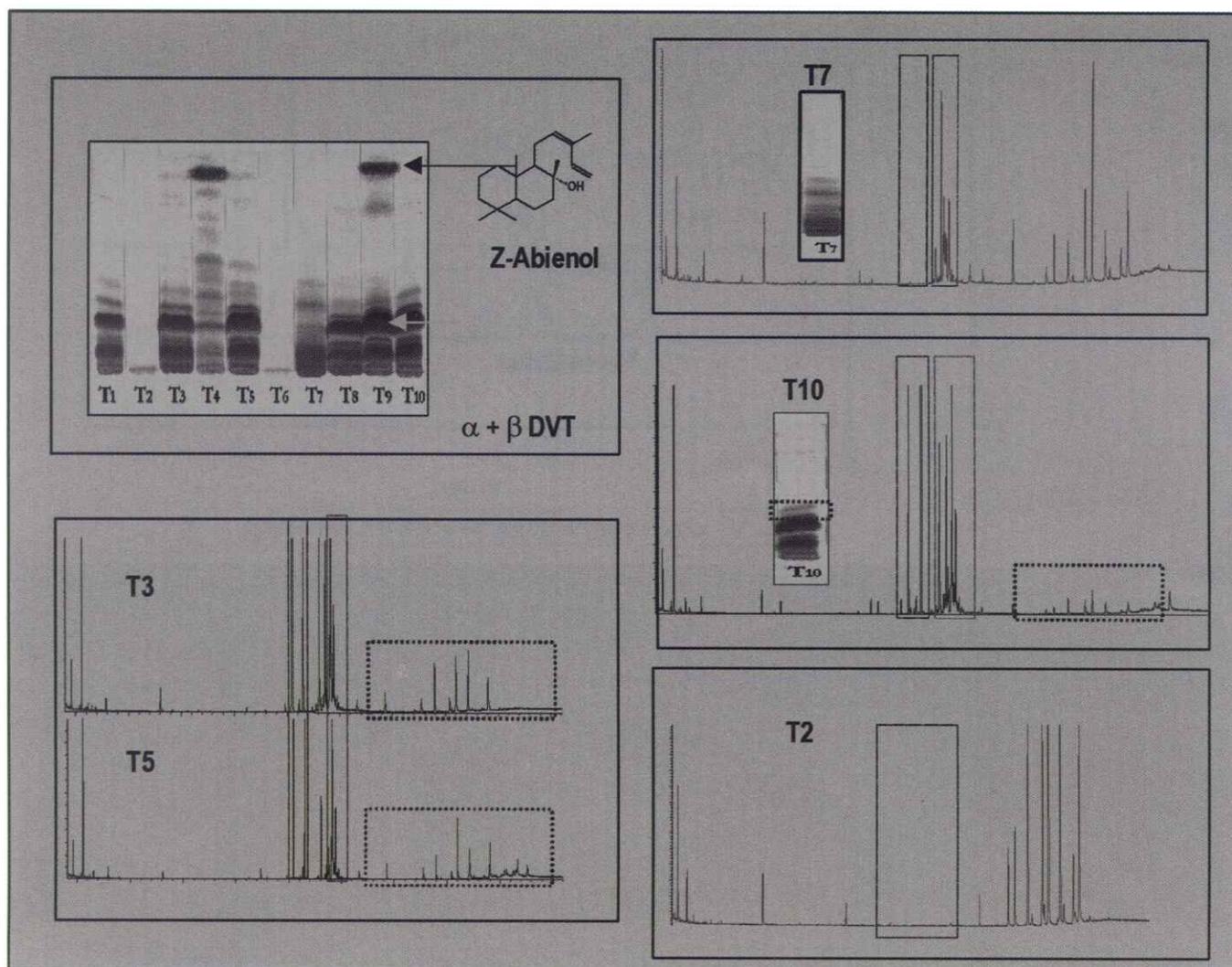


Figura 10. Clasificación de variedades de tabaco (T) en varios grupos, de acuerdo al perfil químico obtenido por GC; cromatografías en capa fina de los metabolitos más importantes

de fitoalexinas; por tal razón, también se tiene prevista la síntesis de otros aminoglicósidos inductores de la generación de fitoalexinas, a partir de materias primas abundantes y baratas; también cabe la posibilidad de emplear algunos compuestos aminados como la quitina y el quitosano, que en ensayos previos en fríjol demuestran un alto poder inductivo de fitoalexinas isoflavonoides.

Con la aplicación de estos derivados es factible proponer un nuevo modo de proteger las cosechas, ya que al inducir la síntesis de antibióticos naturales se facilita la defensa propia de la planta. Una vez se hace presente el microorganismo patógeno, la planta posee altos niveles de mecanismos químicos de defensa; los elicitores actuarían de manera similar a como lo hacen las vacunas en humanos y en animales.

Por lo tanto, las alternativas que tienen las fitoalexinas como sustancias candidatas para proteger cultivos de plantas importantes son los siguientes:

- a. Emplearlas directamente como antibióticos o tomarlas como plantillas para crear moléculas más activas que las originales.
- b. Aplicar elicitores que induzcan su producción en un momento y en un órgano específico.
- c. Manipular genes que regulen su biosíntesis, bien sea transfiriéndolos desde especies o variedades que las produzcan espontáneamente hacia aquellas plantas que tengan deficiencias en su producción (Figura 11). Es posible diseñar plantas resistentes a patógenos, interviniendo

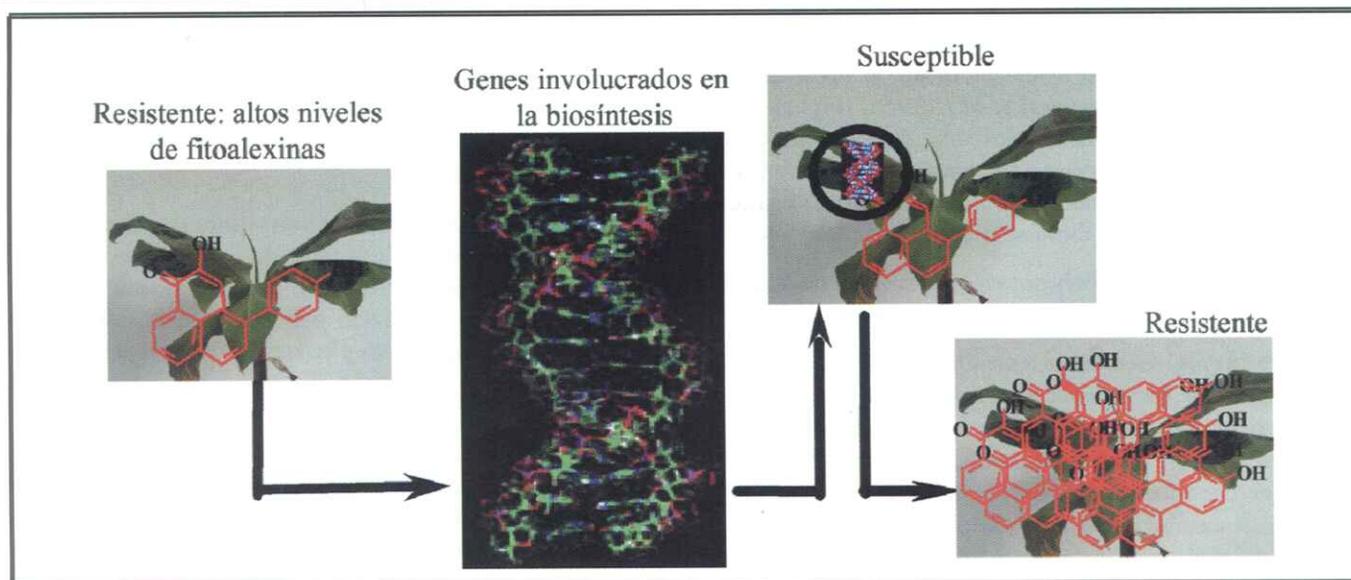


Figura 11. Diseño de plantas transgénicas con altos niveles de fitoalexinas

do directamente en los genes que regulan las enzimas involucradas en el proceso biosintético que conduce a las fitoalexinas (Hammerschmidt & Kagan, 2001; Essenberg, 2001; Zhang *et al.*, 2002). La metabolómica permitirá diseñar plantas transgénicas con una alta especificidad por la producción de un metabolito secundario importante en su respuesta hacia factores de estrés físico, químico y biológico (Sumner *et al.*, 2003)

1.2. Compuestos activos contra insectos y garrapatas

1.2.1. Disuasor de ingestión de *Passifloras*

Las hojas de varias *passifloras* comestibles como la badea, el maracuyá y la curuba, son atacadas por el insecto *Dione juno*; no obstante, la maleza *Passiflora foetida* no es atacada por esta larva. Bioensayos dirigidos condujeron al aislamiento de un flavonoide, el cual actúa como disuasor

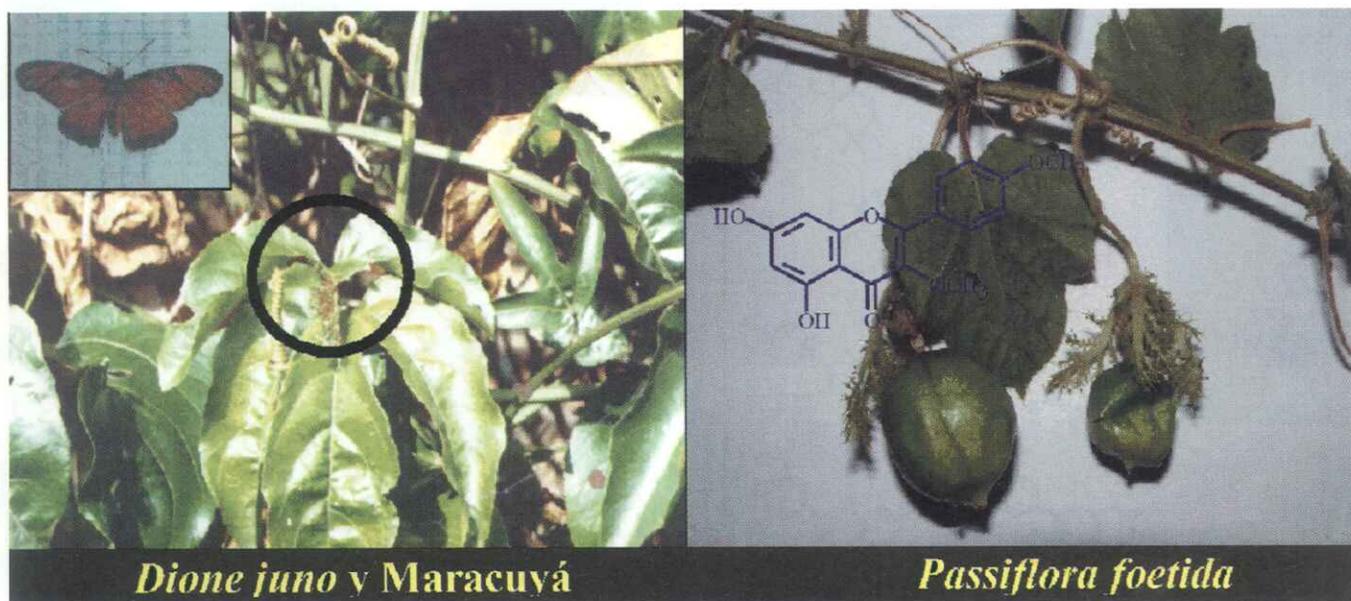


Figura 12. Oviposición de *D. juno* (izq); *P. foetida* y flavonoide disuasor de ingestión

de ingestión. La impregnación de hojas de maracuyá con esta molécula disminuye ostensiblemente el nivel de ingestión de la larva (Echeverri *et al.*, 1991b) (Figura 12). De esta misma planta y en el transcurso de este trabajo, se obtuvieron varios compuestos que aparentemente eran ceras pero resultaron ser moléculas muy interesantes estructural y biológicamente, como se describe más adelante.

1.2.2. Repelente en *Polygonum punctatum* y nuchicida en *Abelmoschus esculentus*.

En varias regiones del oriente antioqueño se emplean decocciones de *Polygonum punctatum* (familia Polygonaceae) para controlar garrapatas en el ganado; algunas especies de esta misma familia, principalmente *P. hydropiper*, son fuente de varios sesquiterpenos insecticidas. En este caso se obtuvieron varios sesquiterpenos, uno de ellos no registrado antes en la literatura (Echeverri *et al.*, 1997a) así como también flavonoides, cuyas estructuras y estereoquímica se asignaron mediante 2D RMN (Marín *et al.*, 2001) (Figura 13).

Los ensayos *in vitro* han permitido definir que el efecto de los componentes de la planta son netamente repelentes y no tóxicos como se presumía inicialmente; además, el efecto parece ser mediado por los sesquiterpenos, aunque la estabilidad del polygodial es muy baja en los extractos acuosos.

Otra planta con reputada acción insecticida contra el nuche (*Dermatobia hominis*) y empleada en el campo, es

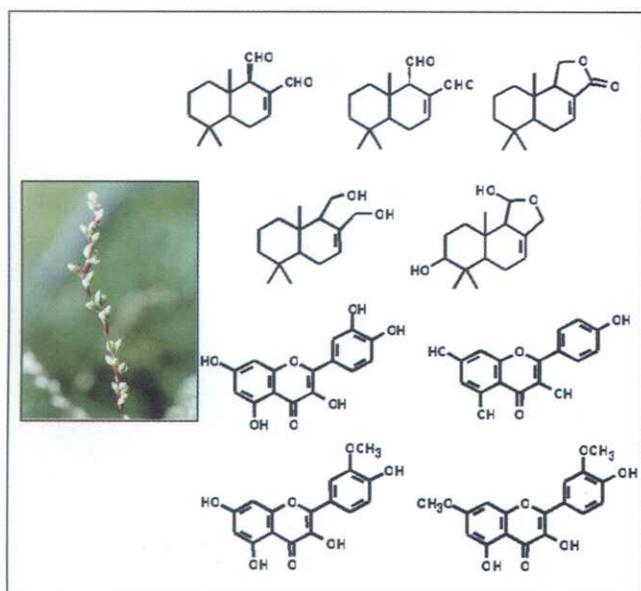


Figura 13. Metabolitos de *P. punctatum*

Abelmoschus esculentus (familia Malvaceae). Procediendo de manera similar a la descrita para la planta anterior, se aislaron varios hidroxiácidos grasos y dos flavonoides (Figura 14), observándose actividad insecticida en las fracciones lipofílicas.

Esto es de significativa importancia estructural y biológica, porque los hidroxiácidos son productos de la transformación enzimática de los ácidos grasos ciclopropanicos, un tipo de núcleo que también se halla en los insecticidas del tipo de los piretroides (Echeverri, 1997b).

1.2.3. Metabolismo

Las hojas del helecho *Davallia fejeensis* son ingeridas por la larva *Callopietria sp.*, un insecto peste de muchos cultivos. Por cromatografía en capa fina, se encontró que algunos compuestos de la planta no están presentes en las heces del insecto (Echeverri *et al.*, 2003b) (Figura 15).

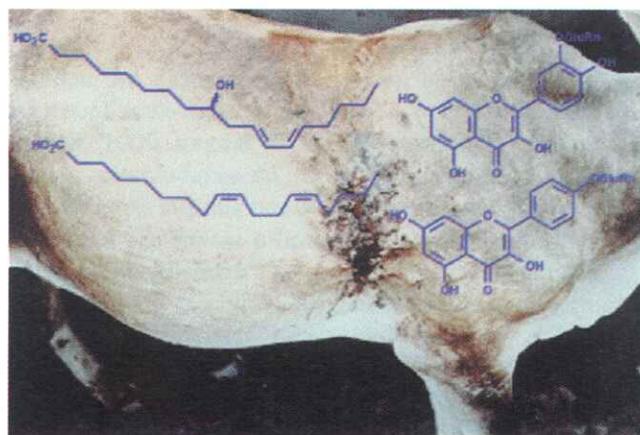


Figura 14. Algunos compuestos aislados de *A. esculentus*

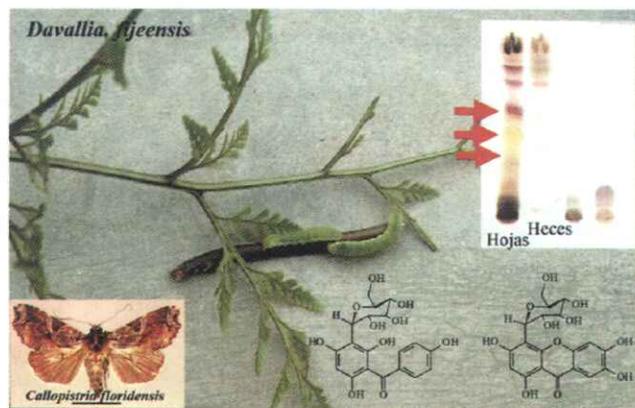


Figura 15. Alelopáticos en *D. fejeensis* (izq) y larva fitófaga *C. floridensis*, incluyendo el perfil cromatográfico de heces y de hojas intactas

Esto da lugar a dos hipótesis: de un lado que hayan sido rápidamente metabolizados por el insecto, o bien que hayan sido secuestrados para hacer parte posteriormente de la coloración del adulto. Ambas hipótesis abren interesantes expectativas para la agroquímica, pues ambas moléculas son plantillas químicas susceptibles de transformarse en otras moléculas que inhiban competitivamente una enzima básica para el metabolismo o para la coloración del insecto.

Un caso similar existe en el insecto *Ceroplastes* sp., que también es peste de varios cultivos y en la ciudad de Medellín ha sido encontrado desarrollando gran parte de su ciclo en *Tabernaemontana coronaria* (Figura 16).

Esta planta secreta un látex rico en alcaloides tóxicos del tipo del indol; no obstante, la química del insecto es más rica en sustancias terpénicas. Se plantean, por lo tanto, dos interrogantes para ser solucionados próximamente: la detoxificación de los alcaloides y el origen biosintético de los metabolitos del insecto.

1.2.4. Perla de tierra

Eurhizococcus colombianus es un insecto que ataca preferiblemente frutales de clima frío tales como la mora y el brevo. Fisiológicamente el organismo se caracteriza porque se recubre de una gruesa capa lipídica que lo aísla del medio (Figura 17). En una especie brasilera se registró la presencia de ácido valérico (Willkins & Soria, 1996), pero

en especies colombianas se han detectado principalmente triglicéridos de ácidos grasos superiores (Echeverri *et al.*, 2003c, sin publicar). Debido a la alta resistencia del insecto contra pesticidas tradicionales, se está estudiando la composición completa de la capa lipídica, sus variaciones según el estado morfológico del insecto y el efecto de inhibidores de la biosíntesis de ácidos grasos, como una medida para contrarrestar sus efectos dañinos.

1.3. Alelopatía

Durante la esporulación, las hojas del helecho ornamental *Davallia fejeensis* se cubren de un polvo amarillo, el cual tiene un potente efecto alelopático sobre yemas y botones florales de algunas plantas; las sustancias responsables de dicha acción fueron identificadas como una benzofenona y la xanthona manguiferina (Echeverri *et al.*, 1998a). Una observación de este tipo es extrapolable a un campo tan poco afín, en primera instancia, como el control de malezas; el mecanismo de acción alelopática y las mismas moléculas pueden ser el punto de partida para crear nuevos herbicidas.

2. Sustancias de interés en salud humana

2.1. Insecticidas contra vectores de enfermedades

El control de los vectores que transmiten enfermedades como la malaria, el dengue y la fiebre amarilla, es una alternativa complementaria a la aplicación de vacunas y

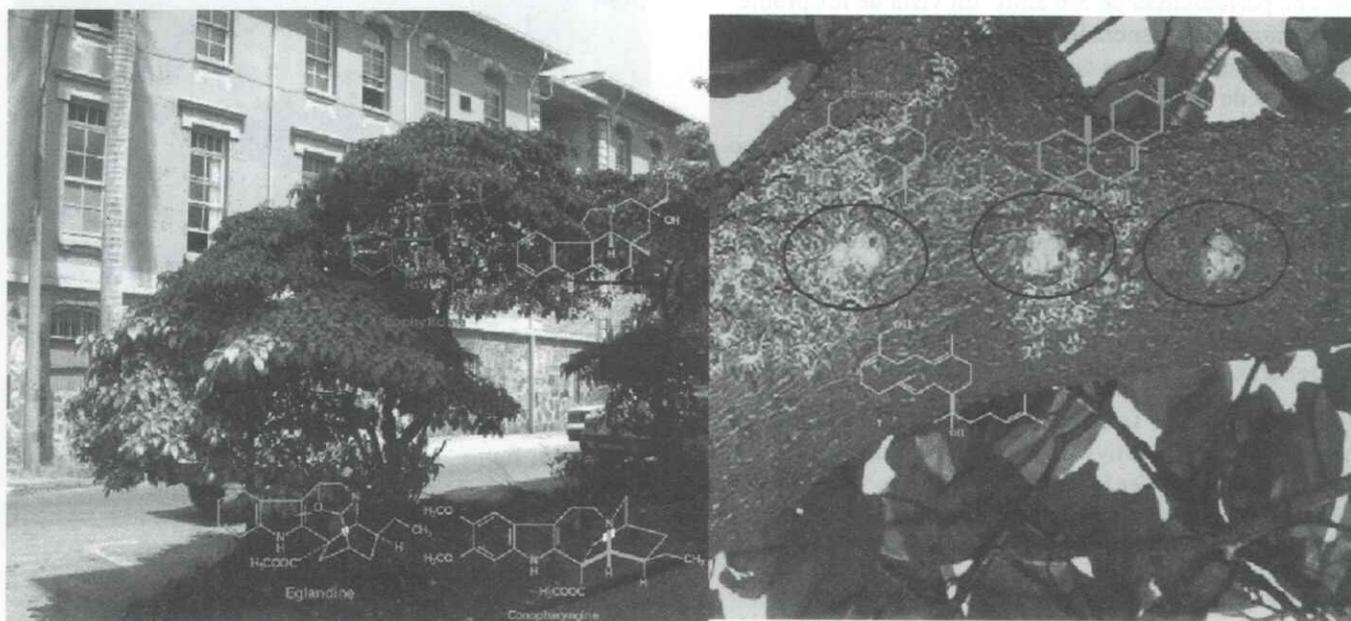


Figura 16. *T. coronaria* y sus metabolitos (izq), *Ceroplastes* sp. y sus metabolitos



Figura 17. Perla en brevo y en tierra

de drogas; dicho control se hace mediante la aplicación de grandes cantidades de insecticidas no exentos de efectos secundarios y cuyo empleo requiere a veces de personal debidamente capacitado y, en algunos casos, de sofisticados medios de aplicación. En 1989-1990 hubo en Colombia una epidemia de dengue, que se presenta con una periodicidad de 5-6 años. En vista de los problemas secundarios generados por los insecticidas sintéticos, se procuró estudiar otra alternativa química, igual de efectiva y de fácil aplicación.

Con fundamento en tradiciones seculares, se obtuvo de las hojas de eucalipto una sustancia con un potente efecto sobre larvas de *Aedes*, *Culex* y *Anopheles* (Figura 18). Este compuesto fue identificado posteriormente por métodos espectroscópicos como el terpeno 1,8-cineol; se analizaron los medios de aplicación, la dosis y el espectro de acción, según el tipo y el estadio de la larva (Echeverri, *et al.*, 1991c).

Posteriormente, se estableció que si bien no tiene los mismos índices de actividad de los pesticidas Temefós y de *Bacillus thuringiensis*, sí ofrece algunas ventajas adicionales, tales como su fácil obtención a partir de una materia prima abundante y su carencia de efectos toxicológicos secundarios.

La producción de cineol no requiere de una tecnología ni compleja ni cara; además aprovecha las hojas como



Figura 18. Efectos larvicidas del cineol

subproducto de la industria papelera; por lo tanto, este producto puede ser accesible a poblaciones con endemismo de dengue, fiebre amarilla y paludismo, e incluso podría determinarse su efecto sobre otros insectos que se constituyen en plagas de cultivos importantes.

2.2. Inmunomoduladores

Si bien las especies de la familia Solanaceae han sido profundamente estudiadas en otros países como fuente de

materias primas para la elaboración de hormonas y de medicamentos, en Colombia poca atención se les ha prestado a pesar de poseer una gran riqueza de sus especies. Analizando la fitoquímica de *Deprea orinocensis*, fue encontrada una nueva serie de esteroides que se reporta en la literatura como Withajardinas (serie A-G); de la *Dunalia solanacea*, se hallaron otros compuestos del núcleo de Acnistinas (serie A-J) (Figura 19).

Su elucidación estructural se hizo posible a través del empleo de los más modernos métodos espectroscópicos; la difracción de Rayos X permitió establecer la sutil diferencia estructural que existe en el sistema bicíclico lateral en C-17. Su biosíntesis se explica mediante un precursor común que también puede dar lugar a las withametelinas (Luis *et al.*, 1994a; Echeverri *et al.*, 1994).

Algunos de estos compuestos poseen una intensa acción inmunosupresora, según se ha establecido en estudios *in vitro* con linfocitos humanos; esta actividad es altamente dependiente de la estructura de los compuestos, especialmente del tipo de sustituyente en los anillos A y B del núcleo esteroidal (Luis *et al.*, 1994b; Echeverri *et al.*, 1997c). Recientemente, también se encontró un fuerte efecto Leishmanicida pero asociado a una alta toxicidad (Echeverri *et al.*, 2003d, sin publicar). (Figura 20).

2.3. Antiofídicos

Los frutos de *Fevillea cordifolia* (Cucurbitaceae) se emplean como antiofídicos. Se establecieron las estructuras de varios triterpenos pertenecientes a la serie de las cucurbitacinas; dos de ellos no han sido reportados antes en la literatura (Echeverri *et al.*, 1998b) (Figura 21). A pesar de que las cucurbitacinas tienen una acción tóxica reconocida, los productos aislados fueron prácticamente inocuos en ensayos realizados sobre ratones.

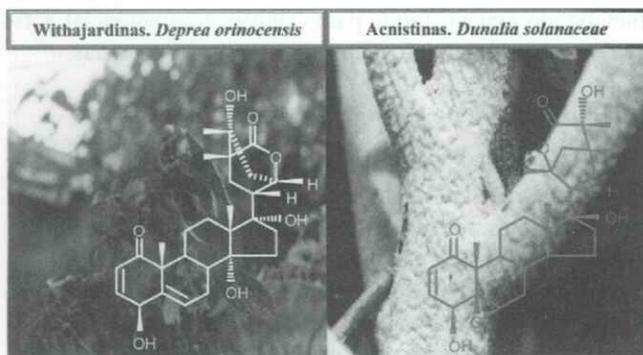


Figura 19. Estructura de Withajardinas y de Acnistinas

Compuesto	CL ₅₀ (µg/mL)	
	X	DS
Acnistina A	0.27	--
Acnistina B	35.5	6.2
Acnistina C	1.7	0.3
Acnistina E	1.0	0.0
Acnistina F	158.5	16.3
Acnistina G	8.5	0.9
Glucantime	400.0	5.0

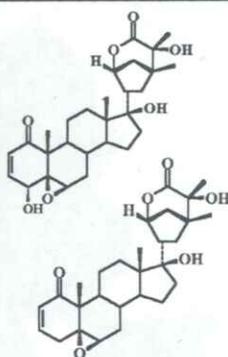


Figura 20. Toxicidad de Acnistinas

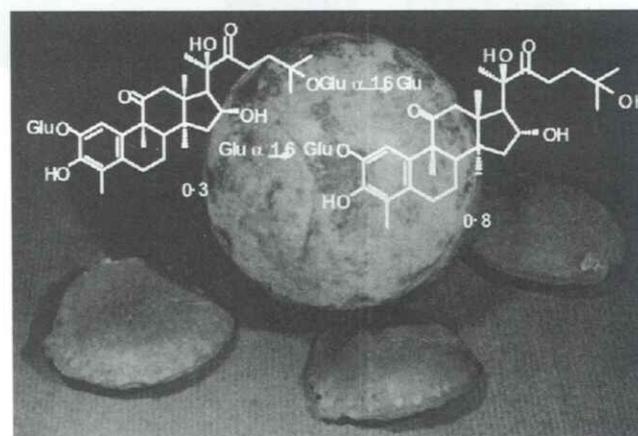
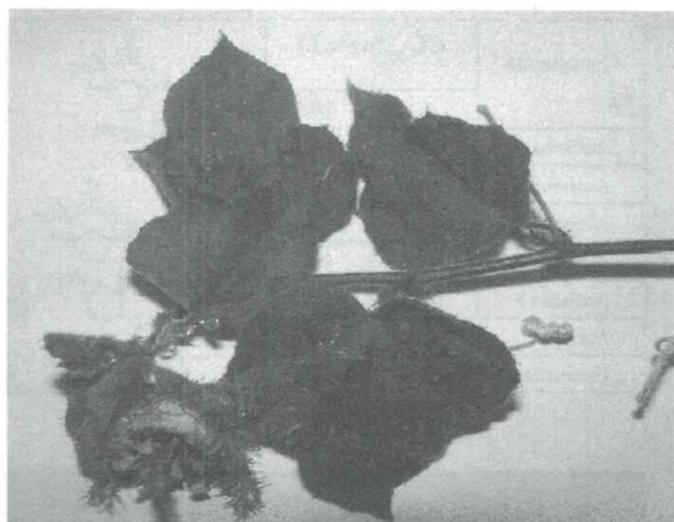
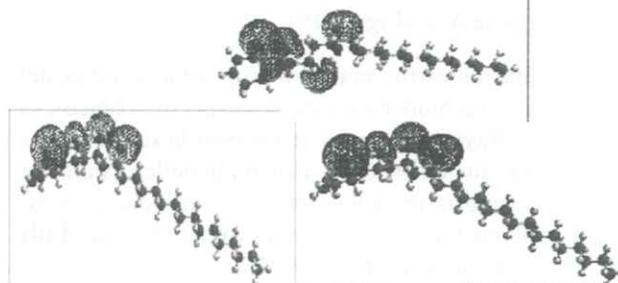
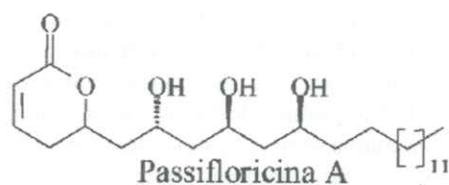


Figura 21. Fruto y semillas de *F. cordifolia* y estructura de nuevas cucurbitacinas

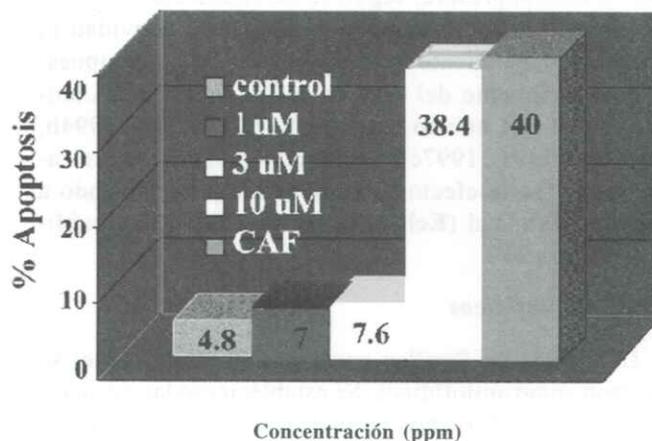
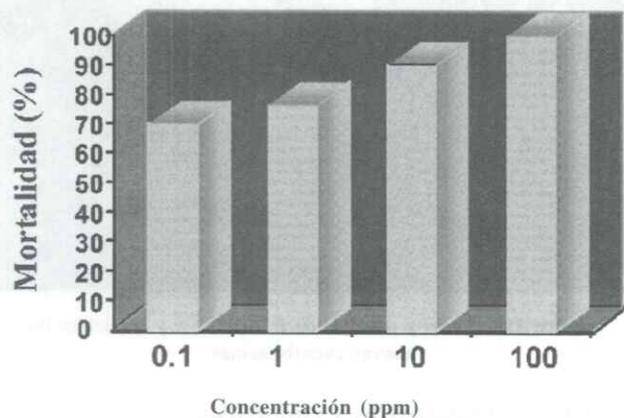
2.4. Antiprotozoarios y citotóxicos

Como resultado de la investigación relacionada con el aislamiento del compuesto responsable de la no ingestión por la larva de *Dione juno*, también se obtuvieron otras sustancias cuya estructura solamente se resolvió después de varios años. Corresponden a moléculas de origen policetídico nunca antes reportadas en la literatura (Echeverri *et al.*, 2001); por esa razón fueron llamadas Passifloricinas (Figura 22). Dos aspectos importantes son dignos de resaltarse; de un lado sus implicaciones quimiotaxonómicas, ya que esta clase de sustancias no se han encontrado en pasifloras. De otro lado, su potente citotoxicidad, ya que la passifloricina A exhibe una LD₅₀ de 0.014 ppm en *Artemia salina* (Echeverri *et al.*, 1998b) y en células Jurkat tiene un fuerte efecto apoptótico similar a CAF pero en la mitad del tiempo necesario.

Adicionalmente, las passifloricinas también tienen actividad contra varias cepas de *Leishmania* de una manera dependiente de la estructura.

Letalidad en *Artemia salina* LC₅₀ 0.014 mg/L

Citotoxicidad en células Jurkat

Figura 22. Efecto de Passifloricina sobre *Artemia salina* y células Jurkat

En la búsqueda de antiprotozoarios, algunos withanolidos también han sido sometidos a ensayos de actividad leishmanicida; no obstante, exhibieron potentes acciones tóxicas. Mediante modelación molecular se han diseñado algunos análogos estructurales que tienen una alta actividad antiprotozoaria, pero una toxicidad muy baja. En la actualidad se evalúa su actividad sobre chagas y malaria y se emprenden estudios in vivo para evaluar su real actividad biológica.

3. Bioremediación

Durante la investigación de la inducción de fitoalexinas en variedades de frijón, algunas soluciones de cobre fueron contaminadas por un microorganismo. Este se aisló posteriormente y luego se estudió su capacidad para remover al-

gunos metales pesados. Los resultados preliminares indican que tiene una alta capacidad para captar selectivamente cobre, cromo y mercurio; como tal, amerita un estudio metabólico más profundo para establecer su potencial aplicación en la bioremediación, especialmente de aguas.

II. Explotación de la biodiversidad

Es indudable que la fitoquímica puede entrar a jugar un importante papel en la investigación nacional y simultáneamente comprometerse abiertamente con varios problemas nacionales, así sus resultados no sean de aplicación inmediata. Los casos anteriormente descritos resaltan varios aspectos importantes de nuestro vasto potencial investigativo, académico, económico e industrial, ya que el país puede ser considerado por su riqueza biológica como un verdadero

laboratorio al aire libre con infinitas posibilidades para derivar conocimiento extrapolables a casos específicos de los cuales ningún otro país desarrollado se interesaría, bien sea porque no hacen parte de su modo de vida o porque los niveles de retorno económico son muy bajos.

En este caso especial, las investigaciones han aportado no solamente moléculas sino también metodologías en los siguientes frentes:

- Nuevas moléculas bioactivas con alto potencial para combatir enfermedades a humanos y controlar pestes de cultivos importantes.
- Metodologías para diseñar plantas transgénicas a partir del conocimiento biosintético de las rutas involucradas en la formación de mecanismos de defensa como las fitoalexinas.

¿Por qué estos resultados no han sido desarrollados ni apropiados por la comunidad?

Recordemos que Colombia es el segundo país megadiverso del mundo, con hondos raíces en medicina tradicional y problemas en el agro, que muchas veces han sido superados por el ingenio y la capacidad de observación del campesino.

Pueden presentarse algunas aproximaciones a la explicación de esta contradicción operativa:

- A. Desarrollar un producto farmacéutico es un proceso que requiere de unos 12 años, un poco más de 800 millones de dólares, la existencia de equipos multidisciplinarios y una logística instrumental y analítica grande y costosa. De todos esos requisitos solamente tenemos el tiempo.
- B. La adjudicación de recursos y el monto de los mismos, no permiten presentar planes a largo plazo con objetivos más ambiciosos situados en la frontera del conocimiento. En los últimos diez años, se han financiado en Colciencias proyectos en productos naturales por un valor (actualizado) cercano a los 7 millones de dólares, menos de la centésima parte de lo que cuesta desarrollar un producto.
- C. Los organismos financiadores de la investigación científica, especialmente Colciencias y las Universidades, atraviesan por períodos de zozobras institucionales, presupuestales y políticas. La falta de continuidad y la incertidumbre financiera hacen replantear continuamente al investigador su papel y su estada en dicha actividad.

- D. Hay una evidente ruptura de intereses investigador-financiador. Mientras que el primero asume que ya ha sido suficiente con plantear una hipótesis, obtener financiación y desarrollar el proyecto, el segundo se limita a cumplir su misión de intermediario financiero. Muy pocos esfuerzos se han hecho en cuanto a Gestión Tecnológica y Apropiación de Resultados. Hace poco se alentó la posibilidad de obtener patentes, pero luego de obtenerlas no hubo manera de comercializarlas.

Es claro que no podemos desarrollar ningún producto farmoquímico de acuerdo a los estándares internacionales. No obstante, también puede existir otra alternativa, no solamente para llevar a buen término económico los proyectos de investigación, sino también para explorar nuestra biodiversidad de una manera más favorable para el país. Una de estas alternativas y que continuamente se trae a colación es la de Costa Rica, país que a cambio de una irrisoria suma (un millón de dólares/año) ha cedido su biodiversidad a las multinacionales químicas, biotecnológicas y farmacéuticas. Un nuevo punto de vista consiste en evaluar la importancia, solidez y trascendencia de los resultados encontrados en una investigación y negociarlos como una especie de "know-how". Estos resultados son especialmente importantes y negociables si se tiene en cuenta que de 10.000 moléculas candidatas a medicamento solamente una o dos llegan a la fase final; de esta manera se acortan varios años de búsqueda e inversión. Además se podrían patrocinar investigaciones que respondan a necesidades nacio-

Cuadro 1. Acciones propuestas para estudiar y explotar la biodiversidad

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Explorar la acción de moléculas naturales, hemisintéticas y sintéticas sobre enfermedades tales como malaria, leishmaniosis, chagas, paracoccidiomicosis, amebas y parásitos intestinales. • Validar el uso de plantas medicinales; especialmente las más afines a la situación sanitaria colombiana a juicio de las autoridades de salud (p. e. hipertensión). • Evaluar la toxicidad de los productos naturales que se expenden en el país. • Buscar moléculas que actúen sobre insectos y pestes dañinas a humanos, plantas y animales, así como productos/organismos importantes para bioremediación/biodegradación. • Investigar sustancias bioactivas de alto valor agregado, tales como anticancerosos, anti SIDA. |
|---|

nales en los órdenes agropecuario y sanitario; a la vez, se abre la posibilidad de validar prácticas etnobotánicas experimentalmente y estudiar la toxicidad de material potencial peligroso para la población.

Esto implica plantear un Plan Nacional de Investigación en Biodiversidad con los objetivos planteados en el Cuadro 1, tomando como base los grupos más sólidamente conformados; además, hay que desvirtuar la necesidad de publicar como justificante económico y científico de un proyecto y conformar un pool de hábiles negociadores de propiedad intelectual.

Agradecimientos

Todas las investigaciones anteriormente mencionadas, han sido financiadas por COLCIENCIAS y por la Universidad de Antioquia; agradecimientos muy especiales a los profesores integrantes del grupo de investigación así como a los estudiantes que han desarrollado sus investigaciones con este grupo de trabajo.

Bibliografía

- Amaya, X. 2001. Química y biología de germoplasmas de tabaco. Trabajo de Grado. Instituto de Química, Universidad de Antioquia, Medellín pp. 90.
- Akashi, T., Aoki, T. & Ayabe, S. 1999. Cloning and functional expression of a cytochrome P450 cDNA encoding 2-hydroxyisoflavanone synthase involved in biosynthesis of the isoflavonoid skeleton in licorice. *Plant Physiology*. **121**: 821-828.
- Blount, J., Korth, K., Masoud, S., Rasmussen, S., Lamb, C. & Dixon, A. 2000. Altering expression of cinnamic acid 4-hydroxylase in transgenic plants provides evidence for a feedback loop at the entry point into phenylpropanoid pathway. *Plant Physiology*. **122**: 107-116.
- Dewick, P. & Steele, M. 1982. Biosynthesis of the phytoalexin phaseollin in *Phaseolus vulgaris*. *Phytochemistry*. **21**: 1599-1603.
- Dukra, A., Kudrna, D., Rostoks, N., Brueggeman, R., von Wettstein, D. & Kleinhofs, A. 2003. Chalcone isomerase gene for rice (*Oryza sativa*) and barley (*Hordeum vulgare*): physical, genetic and mutation mapping. *Gene*. **302**: 171-178.
- Durango, D., Quiñones, W., Torres, F., Rosero, Y., Gil, J. & Echeverri, F. 2002. Phytoalexin accumulation in colombian bean varieties and aminosugars as elicitor. *Molecules* **7**: 331-340.
- Echeverri, F., Torres, F., Quiñones, W., Cardona, G., & Archbold, R. 2003a. Factores de resistencia en papaya. Resultados sin publicar.
- _____, Cardona, D., Quiñones, W. & Torres, F. 2003b. Metabolismo de xantonas por *Callopistria floridensis*. Sin publicar.
- _____, Quiñones, W., Vicente, B., Torres, F., Archbold, R. 2003c. Cambios metabólicos en *Eurhizococcus colombianus*. Sin publicar.
- _____, Quiñones, W., Torres, F., Vélez, I., Robledo, S. & Cardona, D. 2003d. Citotoxicidad de withajardinas y acnistinas. Sin publicar.
- _____, Arango, V., Quiñones, W., Torres, F., Escobar, G., Rosero, F. & Archbold, R. 2001. Passifloricins, polyketide a-pyrone from *Passiflora foetida* resin. *Phytochemistry*. **56**: 881-885.
- _____, Quiñones, W., Torres, F., Duque, M. & Archbold, R. 2000. Synthesis of Hydroxyacetosyringone. *Molecules* **5**: 1310-1313.
- _____, Arango, V., Quiñones, W., Torres, F., Roldán, J., Cardona, G., Archbold, R., Luis, J. G. & Grillo, T. 1998a. Metabolites from *Davallia fejeensis*. En "Natural Product Analysis" (Schreier, P., Herderich, M., Humpf HU, Schwab, W., eds) Vieweg Publishers, Wiesbaden. p. 243-244.
- _____, Torres, F. & Lobo, T. 1998b. Structure and toxicity of the cucurbitacins from *Fevillea cordifolia*. En "Natural Product Analysis" (Schreier, P., Herderich, M., Humpf H-U, Schwab, W., eds) Vieweg Publishers, Wiesbaden p. 385-386.
- _____, Arango, V., Alva, A. & Luis, J. 1998c. Symposium "Antitumor Products from Higher Plants". París. Enero 8-10. Universidad René Descartes-Phytochemical Society of Europe.
- _____, Quiñones, W., Torres, F., Alzate, F., Cardona, G., Archbold, R., Roldán, J., Brito, Y. & Hassane, E. L. 1997a. "Danilol, a new drimmane sesquiterpene obtained from *Polygonum punctatum*". *Natural Product Letters* **10**: 295-301.
- _____, Torres, F., Cardona, G., Archbold, R., Roldán, J., Alzate, F. & Román M. 1997b. Búsqueda de pesticidas en dos plantas colombianas. p 399-412. En: Tópicos en Productos Naturales Echeverri, F. Quiñones, W. (Eds.) Impresos Begon, Medellín, pp. 490.
- _____, García, F., Torres, F., Quiñones, W., Cardona, G., López, M., Pelaez, C., Luis, J. & Gonzalez, A. 1997c. Withajardins. Patente Estados Unidos 5,681,950.
- _____, Torres, F., Cardona, G., Quiñones, R., Archbold, R. & Duque, M. 1996a. Activity of chromenes against *Colletotrichum gloeosporioides*. En "Current Trends in Fruit and Vegetable Phytochemistry", Barberan-T. F. (Ed.). CSIC (Madrid), pp. 287-291.
- _____, Torres, F., Quiñones, W., Cardona, G., Archbold, R., Roldán, F., Gutiérrez, J. & Hassane, E. L. 1996b. Danielone, a new phytoalexin obtained from papaya fruit. *Phytochemistry*. **44**: 255-256.
- _____, Luis, J. & González, A. 1994. Acnistins C and D, withanolides from *Dunalia solanacea*. *Phytochemistry* **36**: 1297-1301.
- _____, Quijano, J., Enzuncho, A. 1991a. Flavonoides en la resina de *Eucaliptus* sp. *Rev. Lat. Quím.* **21**: 37-39.
- _____, Cardona, G., Torres, F., Quiñones, W., Peláez, C. & Rentería, E. 1991b. Ermanin: a deterrent compound isolated from *P. foetida*". *Phytochemistry*. **30**: 153-155.
- _____, _____, _____ 1991c. Informe final del proyecto "Actividad Larvívora de *Eucaliptos* contra *Culex*, *Aedes* y *Anopheles*". CIEN-Universidad de Antioquia, Medellín pp.45.

- _____, _____, Gallego, H., López, J. & Torres, F. 1988. Phytoalexins from *Cyphomandra betacea*. Spectroscopy International Journal. **6**: 151-154.
- _____, Quijano, J., Montoya, R. & Uribe, C. 1986. Un metabolito de stress en la resina de *E. globulus*. Rev. Lat. Quim. **16**: 156-158.
- Escobar, G. 2002. Síntesis de fenilfenalenonas y análogos estructurales y su actividad sobre Sigatoka Negra. Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas - Universidad de Antioquia. pp. 141.
- Essenberg, M. 2001. Prospects for strengthening plant defenses through phytoalexins engineering. Physiol. Mol. Plant Pathol. **59**: 71-81.
- Hargreaves, J. & Selby, C. 1978. Phytoalexin formation in cell suspensions of *Phaseolus vulgaris* in response to an extract of bean hypocotyls. Phytochemistry. **17**: 1099-1102.
- Hammerschmidt, R. & Kagan, A. 2001. Phytoalexins into the 21st century. Physiol. Mol. Plant Pathol. **59**: 59-61.
- Liu, L., Punja, Z. K. & Rahe, J. E. 1995. Effect of Pythium spp. and glyphosate on phytoalexin production and exudation by bean (*Phaseolus vulgaris* L.) roots grown in different media. Physiological and Molecular Plant Pathology. **47**: 391-405.
- López-Meyer, M. & Paiva, N. 2002. Immunolocalization of vestitone reductase and isoflavone reductase, two enzymes involved in the biosynthesis of the phytoalexin medicarpin. Physiol. and Mol. Plant Pathology. **61**: 15-30.
- Luis, J., Quiñones, W., González, A., Echeverri, F., Cardona, G. & Torres, F. 2000. Composiciones para el tratamiento de enfermedades de plantas ocasionadas por hongos pertenecientes al género *Colletotrichum*. Patente Española P9402157.
- _____, G., San Andrés, L., Lahlou, E.-L., Echeverri, F. & Quiñones, W. 1997. Phenylphenalenonic Phytoanticipins. New acenaphthylene and dimeric phenylphenalenones from the resistant *Musa* select hybrid SH- 3481. Tetrahedron **53**: 8249-56.
- _____, Quiñones, A., Echeverri, F., Kishi, P. & García, F. 1996. "Musanolones: four 9-phenylphenalenones from rhizomes of *M. acuminata*". Phytochemistry. **41**: 753-57.
- _____, Echeverri, F., Quiñones, W., González, A., Torres, F., Cardona, G., Archbold, R. & Perales, A. 1994a. "Withajardins, withanolides with a new type of skeleton". Tetrahedron **50**: 1217-1226.
- _____, _____, Rojas, M. & García, F. 1994b. The structure of acnistin B and the immunosuppressive effect of acnistin A, B and E. Planta Médica **60**: 348-351.
- _____, _____, Quiñones, W., Brito, Y., López, M., Torres, F., Cardona, G. & Aguiar, Z., Rojas, M. 1993. Irenolone and emenolone: two new types of phytoalexins from *Musa paradisiaca*. Journal Organic Chemistry. **58**: 4306-408.
- Marín, C., Torres, F., Quiñones, W., & Echeverri, F. 2001. Fitoquímica y evaluación de la acción biológica de *Polygonum punctatum*. Revista Latinoamericana de Química, **29**: 100-107.
- Newman, D., Cragg, G. & Snader, K. 2000. The influence of natural products upon drug discovery. Natural Prod. Rep. **17**: 215-234.
- Otálvaro, F., Echeverri, F., Quiñones, W., Torres, F. & Schneider, B. 2002a. Correlation between Phenylphenalenone Phytoalexins and Phytopathological Properties in *Musa* and the Role of a Dihydrophenylphenalene Triol. Molecules. **7**: 331-340.
- _____, Schmitt, B., Echeverri, F., Schneider, B & Quiñones, W. 2002b. Dimeric phenylphenalenones from *Musa acuminata* and various Haemodoraceae species. Crystal structure of anigorootin. Phytochemistry. **60**: 61-66.
- _____, Echeverri, F., Quiñones, W. & Schneider, B. 2002c. Isomeric oxabenzochrysenones from *Musa acuminata* and *Wachendorfia thyrsiflora*. Natural Product Letters. **16**: 335-338.
- Pietra, F. 2002. Biodiversity and natural product diversity. Pergamon, Elsevier, Oxford, 351 p.
- Quiñones, W., Escobar, G., Echeverri, F., Torres, F., Rosero, Y., Arango, V., Cardona, G. & Gallego, A. 2000. Synthesis and Antifungal Activity of *Musa* phytoalexins and structural analogues. Molecules. **5**: 974-980.
- Sumner, W., Mendesb, P. & Dixon, A. 2003. Plant metabolomics: large-scale phytochemistry in the functional genomics era. Phytochemistry **62**: 817-836.
- Tzfira, T. & Citovsky, V. 2002. Partners-in-infection: host proteins involved in the transformation of plant cells by *Agrobacterium*. Trends in Cell Biology **12**: 121-129.
- VanEtten, H., Temporini, E. & Wasmann, C. 2000. Phytoalexin (and phytoanticipin) tolerance as a virulent trait: why is it not required by all pathogens? Physiol. Mol. Plant Pathol. **59**: 83-93.
- Willkins, J. & Soria, P. 1996. Identification by Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC - MS) of the compos responsible for the rancid odor of female cyst of *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel). An. Soc. Entomol. Brasil. **25**: 169-170.
- Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. Plant Physiology. **126**: 485-493.
- Zhang, W., Curtin, C., & Franco, C. 2002. Towards manipulation of post-biosynthetic events in secondary metabolism of plant cell cultures. Enz. Microbial Tech. **30**: 688-696.