

Las plantas medicinales como fuentes de fármacos

M. Pilar Gómez-Serranillos Cuadrado

Catedrática de Universidad. Departamento de Farmacología, Farmacognosia y Botánica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.

Resumen

Gómez-Serranillos Cuadrado MP. Las plantas medicinales como fuentes de fármacos. Panorama Actual Med. 2022; 46(452): 413-421

Las plantas medicinales, los compuestos de ellas obtenidos y sus análogos estructurales han desempeñado desde las primeras épocas de la historia un papel importante en, prácticamente, todas las áreas terapéuticas: desde el cáncer a la esclerosis múltiple, pasando por enfermedades cardiovasculares e infecciosas. Actualmente, representan una enorme reserva de diversidad estructural y bioactividades, pudiendo utilizarse directamente o como punto de partida para la obtención de nuevas moléculas; permiten, además, comprender las vías celulares y rutas bioquímicas como componente esencial del proceso de descubrimiento de fármacos. Una de sus principales ventajas respecto a las moléculas sintéticas convencionales es su enorme diversidad y complejidad estructural, además de la información etnofarmacológica

existente. Entre los obstáculos para el desarrollo de fármacos basado en productos naturales podemos citar cuestiones relacionadas con la accesibilidad, el suministro sostenible y las limitaciones de propiedad intelectual. A medida que los requisitos de la Farmacopea sigan desarrollándose y la tecnología instrumental avanza, podremos profundizar cada vez más en la composición química de las plantas medicinales y desarrollar técnicas más avanzadas para la detección y cuantificación de adulterantes y contaminantes. Estos avances científicos y tecnológicos proporcionan una base sólida para que el empleo de plantas medicinales de calidad, seguras y eficaces, junto al descubrimiento de fármacos basados en productos naturales, siga contribuyendo a la salud y la longevidad humanas.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido un recurso para tratar enfermedades durante miles de años y, durante siglos, han sido una valiosa fuente de agentes terapéuticos; de hecho, hoy en día, los principios activos de muchos medicamentos innovadores son productos naturales obtenidos de plantas o sus derivados (Tabla 1).

Sobre ello, podemos decir que de las 1.562 nuevas moléculas aprobadas por la FDA entre 1981 y 2014, más de la mitad eran derivadas o inspiradas en compuestos naturales, la mayoría obtenidas de plantas superiores, como por ejemplo, agentes anticancerígenos como el paclitaxel y sus derivados obtenidos de especies del género *Taxus*, la camptotecina y sus

Tabla 1. Ejemplos representativos de productos naturales utilizados en terapéutica y su fuente.

Compuesto	Especie vegetal	Uso terapéutico
morfina	<i>Papaver somniferum</i> L.	analgésico
salicina	<i>Salix alba</i> L.	analgésico
paclitaxel	<i>Taxus brevifolia</i> Nutt.	antineoplásico
aescina	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	antiinflamatorio
berberina	<i>Berberis vulgaris</i> L.	disentería bacilar
teofilina	<i>Camelia sinensis</i> (L.) Kuntze	broncodilatador
cocaína	<i>Erythroxylum coca</i> Lamk.	anestésico local
digitoxina	<i>Digitalis purpurea</i> L.	cardiotónico
artemisina	<i>Arenisia annua</i> L.	antimalárico
quinina	<i>Chinchona</i> spp.	antimalárico
vincristina	<i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don	antineoplásico
galantamina	<i>Galanthus nivalis</i> L.	deterioro cognitivo, enfermedad de Alzheimer
pilocarpina	<i>Pilocarpus</i> spp.	glaucoma
tubocurarina	<i>Chondodendron tomentosum</i> Ruiz & Pav.	relajante muscular
camptotecina	<i>Camptotheca acuminata</i> Decne.	antineoplásico

análogos, obtenida de *Camptotheca acuminata* Decne, o la homoharringtonina, de *Cephalotaxus harringtonia* K. Koch; agentes anticolinesterásicos, de utilidad en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, como la galantamina, obtenida de *Galanthus nivalis* L. o el importante agente antimalárico artemisinina, extraído de la especie vegetal utilizada en la medicina tradicional china, *Artemisia annua* L. y cuyo descubrimiento mereció, en 2015, el premio Nobel de Medicina y Fisiología, otorgado a la científica china Tu Youyou. Se pueden citar también otros principios activos que actualmente se encuentran sometidos a ensayos clínicos, como la curcumina, la epigalocatequina 3 galato, o la genisteína.

Los primeros documentos escritos que se conservan sobre el uso de plantas se encuentran, entre otros, en el Museo Británico, y corresponden a tablillas sumerias de arcilla, escritas con caracteres cuneiformes que datan del siglo VI a.C. y a documentos babilónicos en los que se mencionan drogas como el opio o el beleño y especies como el regaliz, la mirra y la adormidera, todas ellas en uso actualmente para el tratamiento de diversas enfermedades.

El conocimiento sobre la aplicación medicinal de las plantas en el mundo occidental se basa principalmente en la cultura griega y romana, con figuras como Hipócrates, Teofrasto y Dioscórides. A partir de esta época se le da un carácter más científico al conocimiento de las drogas vegetales, alejándose en gran medida de las concepciones religiosas y mágicas de las civilizaciones anteriores. Desde finales del siglo VII, los eruditos arabo-islámicos desempeñaron un papel esencial como intermediarios en la transferencia de conocimientos entre la antigüedad clásica y la Europa latina. A partir de entonces, durante varios siglos, la alquimia y la magia reinan en casi toda la Europa Occidental, deteniendo el avance de la medicina. La invención del tipógrafo por Johannes Gutenberg condujo a la difusión de varios libros de plantas en Europa.

Durante el Renacimiento, uno de los personajes más importantes en las ciencias médicas es Paracelso, quien habló de la *quintaesencia*, refiriéndose al principio activo de la planta. Además, observó la relación existente entre la cantidad que se administra y la acción que produce. Durante todo ese tiempo, las plantas medicinales solo se aplicaban de manera empírica, sin conocimientos sobre los mecanismos de sus actividades farmacológicas o sus componentes activos. En el siglo XVIII el estudio de las drogas comenzó a designarse con el término *Materia Médica*. En este siglo Anton von Störck, que investigó plantas venenosas como el acónito y el colchico, y William Withering, que estudió la digital para el tratamiento del edema, sentaron las bases para la investigación clínica racional de las plantas medicinales.

En España, los estudios sobre plantas medicinales conocen un periodo de esplendor en el tránsito del siglo XVIII al XIX, tras el regreso de los expedicionarios en Perú. Se pueden destacar los estudios de Hipólito Ruiz sobre el género *Cinchona*.

No obstante, lo que se puede considerar como el descubrimiento racional de medicamentos a partir de plantas comenzó hace algo más de 200 años, a principios del siglo XIX, cuando un joven alemán, asistente de farmacéutico, Friedrich Sertürner, logró aislar del opio el que sería importante analgésico y agente inductor del sueño, y al que llamó *morphium* (morfina) en honor al dios griego de los sueños, Morfeo. Cien años después la estructura de la morfina fue elucidada y aún hoy en día se obtiene de los cultivos de *Papaver somniferum*. Esto provocó el estudio de otras plantas medicinales, y durante las siguientes décadas del siglo XIX, muchos productos naturales bioactivos, principalmente alcaloides, pudieron ser aislados de sus fuentes naturales; por ejemplo, la quinina, aislada de la corteza de quina, la cafeína, de los frutos de *Coffea arabica*, o la cocaína, de la hoja de *E. coca*. También a principios del s. XIX, Leroux separó un compuesto de las cortezas de sauce

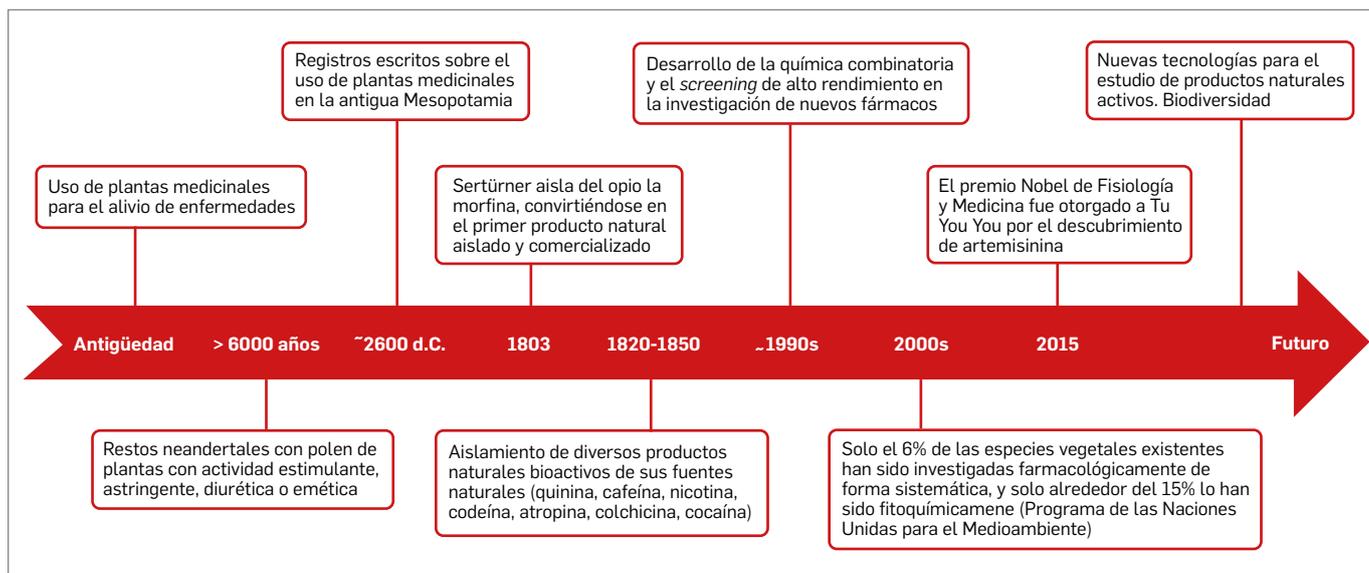
que constituye el primer heterósido aislado, la salicina.

A lo largo del siglo XIX los boticarios que se especializaron en la purificación de los compuestos activos fueron los precursores de las actuales compañías farmacéuticas. El primero de ellos fue Heinrich Emanuel Merck, en la ciudad de Darmstadt, al sur de Frankfurt, que comenzó a extraer morfina y otros alcaloides en 1826. El ácido salicílico fue el primer producto natural sintetizado, en 1853. Los primeros signos de que una nueva era comenzaba fueron evidentes con la introducción de un exitoso producto obtenido por síntesis, la aspirina, la cual fue el primer ejemplo de emplear la naturaleza como modelo -cabeza de serie- para obtener una molécula sintética.

Con el desarrollo de la Fisiología, a raíz de los trabajos realizados por Magendie y su discípulo Claude Bernard, se estableció la actividad farmacológica de alcaloides aislados, como la emetina, la morfina o la estricnina, empezando a conocerse la forma de actuación y el mecanismo de acción de compuestos de origen natural. El descubrimiento de la penicilina en 1928 dio inicio a una era de descubrimiento de fármacos a partir de fuentes microbianas que, tras la Segunda Guerra Mundial, sentó las bases científicas y económicas de la industria farmacéutica moderna.

A partir de la segunda mitad del s. XX se observa un incremento del uso terapéutico de los preparados vegetales y sus principios activos aislados, situación que se ha reflejado en la puesta en marcha de acciones a nivel institucional como la creación de la Federación Europea de las Sociedades Científicas de Fitoterapia (ESCOP), el Programa sobre Medicina Tradicional de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la creación del Comité sobre medicamentos a base de plantas en el seno de la Agencia Europea del Medicamento; a ello se suma el importante incremento en el trabajo de la Farmacopea Europea sobre monografías relacionadas con drogas vegetales y derivados (**Figura 1**).

Figura 2. Cronología de los hitos más significativos en el descubrimiento de fármacos a partir de productos naturales.



Actualmente, los datos a nivel mundial de consumo de plantas medicinales indican que, en China, entre el 30 y el 50% de los medicamentos consumidos son derivados de plantas; en Alemania, el 90% de la población utiliza medicinas naturales en algún momento de su vida, mientras que, en otros países europeos, más del 50% de la población también las emplea. En Estados Unidos, el 17,9% de todos los adultos manifestaron consumir suplementos de plantas y el 70% de la población canadiense los ha utilizado al menos una vez. Si nos referimos a los países en vías de desarrollo, alrededor del 85% de la población depende de las plantas para su atención primaria de salud.

INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE FÁRMACOS BASADOS EN PRODUCTOS NATURALES

Según el Programa de las Naciones Unidas para el Medioambiente, se estima que solo el 6% de las especies vegetales existentes han sido investigadas farmacológicamente de forma sistemática, y solo alrededor del 15% lo han sido fitoquímicamente. Así pues, siguen existiendo en las aproximadamente 310.000 especies de plantas descritas un gran número de compuestos que no han sido investigados

desde el punto de vista farmacológico hasta el momento.

Uno de los principales retos para la obtención de compuestos bioactivos a partir de especies vegetales está relacionado con la accesibilidad al material de partida, más concretamente, con la recolección de las especies silvestres. El cultivo es una alternativa más sostenible que la silvicultura; pero a pesar de ello, las dos terceras partes de las 50.000 especies de plantas medicinales que se utilizan en todo el mundo, todavía se recolectan en estado silvestre.

En muchos casos, cuando una planta se comercializa o cuando uno de sus componentes empieza a ser utilizado como principio activo, sus poblaciones se ven amenazadas, tanto por la explotación masiva como por el empleo de técnicas de cosecha insostenibles. El ejemplo clásico de este problema fue la llamada "crisis de suministro de taxol", en la cual, la notable eficacia clínica demostrada por este compuesto para el tratamiento del cáncer de ovario llevó a un incremento exponencial de su demanda. Si consideramos que, en ese momento, este alcaloide diterpénico solo podía obtenerse a partir de la corteza del tejo (*Taxus brevifolia* L.), el proceso de producción, incluyendo la recolección y secado de la corteza, la extracción y la purificación era, ade-

más de extremadamente largo, muy costoso. A ello se añadía el impacto ecológico de la recolección masiva de la corteza. Hoy en día, el taxol se obtiene por otras rutas alternativas, pero el problema del suministro sostenible de material vegetal sigue siendo importante para otras especies.

Además de la accesibilidad geográfica, es necesario considerar aspectos jurídicos relacionados con la distribución de los beneficios, así como cuestiones de patentabilidad de los productos de origen natural. El Convenio sobre la Diversidad Biológica de las Naciones Unidas, firmado en 1992 por la comunidad internacional en Río de Janeiro, marcó como objetivos prioritarios: conservar la biodiversidad, utilizar de forma sostenible sus recursos genéticos y compartir los beneficios de su uso de forma justa y equitativa. Como resultado del mismo, los países proveedores, sus gentes y sus representantes se convierten en partes activas que deben ser consideradas en los programas de descubrimiento de medicamentos a partir de recursos naturales y, más concretamente, de plantas medicinales. El tratado proporcionó un marco para que los países regulen y definan la bioprospección, algunos emitieron reglamentos de protección muy estrictos, mientras que otros fueron demasiado lentos en establecer el marco jurídico necesario.

Para mejorar esta situación, se publicó en 2011, entrando en vigor en 2014, el *Protocolo de Nagoya* sobre el acceso a los recursos genéticos y la distribución justa y equitativa de beneficios; dicho protocolo, ratificado por 50 países, es legalmente vinculante y tiene como objetivo aportar claridad a las cuestiones de acceso y de intercambio de beneficios.

En los programas de descubrimiento de fármacos a partir de productos naturales es necesario también resolver aspectos como la incompatibilidad de los extractos con el *screening* de alto rendimiento (HTS, por sus siglas en inglés) o la identificación y caracterización de los componentes bioactivos, cuya integridad es difícil de mantener en muchos casos, debido, entre otros factores, a la gran complejidad de los extractos que pueden contener compuestos fluorescentes o coloreados que interfieren en las determinaciones en las etapas finales del *screening*. Sin olvidar la presencia de moléculas altamente apolares como las clorofilas o los ácidos grasos, o muy polares, como los polifenoles que, en determinados ensayos pueden conducir a resultados falsos positivos o falsos negativos y cuya eliminación o la modificación del ensayo para evitar su detección requiere de costosos esfuerzos. También algunos constituyentes inorgánicos, como los metales, pueden dar lugar a falsos resultados positivos y algunos compuestos con propiedades citotóxicas podrían interferir en los ensayos en células enmascarando la detección de otras bioactividades o la presencia de otros compuestos activos. Las saponinas, por ejemplo, pueden conducir a la lisis celular y, por lo tanto, interferir en los ensayos de base celular.

Finalmente, la realización de ensayos clínicos rigurosos representa otro gran reto, sobre todo debido a las particulares exigencias de patentabilidad asociadas a los productos naturales. En este sentido las directrices publicadas en 2014 por la Oficina de Patentes y Marcas de Estados Unidos establecen que una reivindicación de patente debe demostrar una “diferencia

marcada” con respecto a un material o fenómeno natural conocido.

En la búsqueda de nuevos medicamentos de origen vegetal existen también factores que influyen positivamente. El primero de ellos es el hecho de que los productos naturales se elaboran a partir de organismos vivos, lo cual les dota de propiedades como una mayor afinidad de unión a proteínas específicas, una diversidad y complejidad química superior, desarrollada durante la biosíntesis, y el tener propiedades farmacocinéticas –de absorción, distribución, metabolismo y eliminación– y de toxicidad más favorables.

De hecho, los resultados obtenidos por el *screening* de alto rendimiento a partir de las grandes bibliotecas de compuestos de síntesis desarrolladas en la década de los 90, no cumplieron con las expectativas en ellos depositadas. En lugar de aportar un mayor número de fármacos, las tasas de aprobación de nuevos fármacos disminuyeron, de tal forma que en 1990 fueron aprobados por la FDA 45 nuevos medicamentos, mientras que solo 21 lo fueron en 2015. Las razones de esta tendencia decreciente son complejas, pero un aspecto importante es que las bibliotecas de compuestos sintéticos seleccionan moléculas en base a su potencia. Además, debido al elevado número de compuestos recogidos en las bibliotecas, éstas a menudo se superponen, siendo necesario un proceso de desreplicación.

Otro factor que influye positivamente es el disponer de información etnofarmacológica bien documentada sobre el uso tradicional. Un estudio realizado recientemente sobre el empleo en terapéutica de 122 compuestos derivados de plantas reveló que el 80% de ellos poseen las mismas indicaciones terapéuticas que los usos etnofarmacológicos para los que se emplean las plantas de que derivan, como la reserpina, la tubocurarina o la atropina. En este punto, es preciso subrayar que el conocimiento sobre los medicamentos utilizados tradicionalmente está desapareciendo aún más rápido que la

biodiversidad de las especies, y con el ritmo actual de la globalización mucha información valiosa corre el riesgo de perderse para siempre.

SELECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

La selección del material vegetal, como aspecto clave en el descubrimiento de nuevos fármacos a partir de plantas, puede abordarse desde distintos planteamientos como son la búsqueda aleatoria, con criterios etnofarmacológicos, quimiosistemáticos, ecológicos o computacionales.

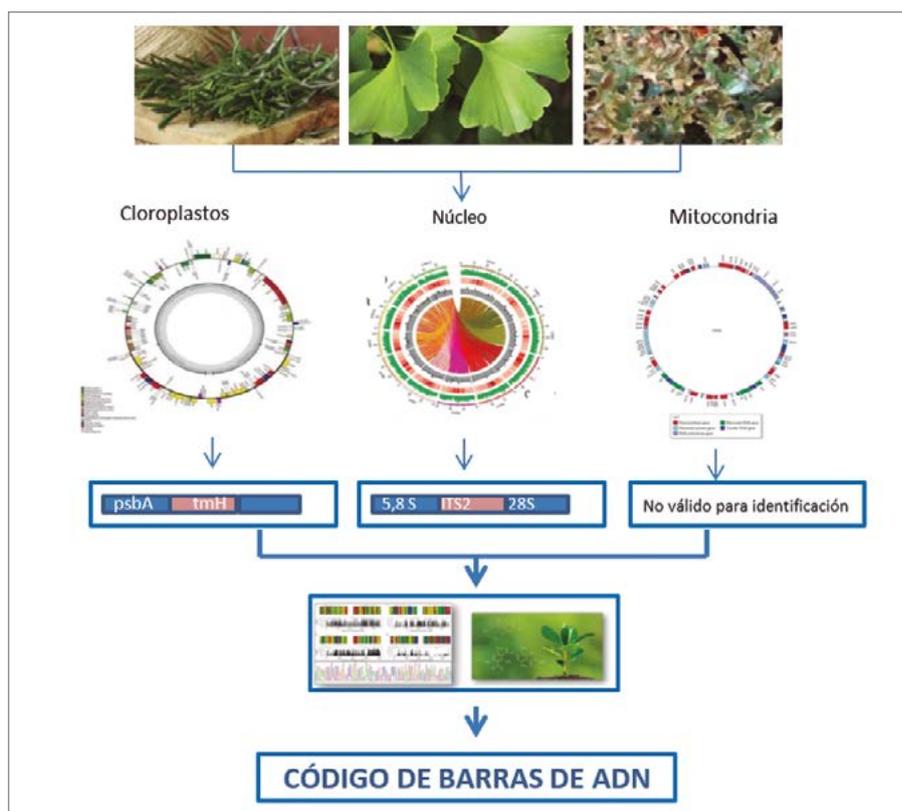
El enfoque más clásico basado en el conocimiento es el **enfoque etnofarmacológico**, que implica la observación, descripción e investigación experimental de los remedios de uso tradicional y sus bioactividades. Representa un concepto transdisciplinario basado en la botánica, la química, la bioquímica y la farmacología, que involucra a muchas disciplinas más allá de las ciencias naturales, como la antropología, la arqueología, la historia y la lingüística. Algunos ejemplos destacados de fármacos aprobados que fueron descubiertos mediante el uso de datos etnofarmacológicos son: la kellingina o visammina, furanocromona de *Ammi visnaga* (L.) Lam. que sirvió para el desarrollo de la sal sódica del ácido cromoglícico, estabilizador de mastocitos en la alergia y el asma; la galegina de *Galega officinalis* L., estructura base para la síntesis de la metformina y el desarrollo posterior de fármacos antidiabéticos de tipo biguanidas; la papaverina de *Papaver somniferum* L., base para el desarrollo del fármaco antihipertensivo verapamilo; o la quinina de la corteza de especies del género *Cinchona*, que inspiró la síntesis de la cloroquina y mefloquina, actualmente declarado medicamento esencial por la OMS para el tratamiento y prevención del paludismo.

El **enfoque quimiosistemático o filogenético** utiliza el conocimiento quimiotaxonómico y la filogenética

molecular para seleccionar géneros o familias que se sabe producen compuestos o clases de compuestos bioactivos. Como ejemplo, este enfoque se ha utilizado para seleccionar las plantas del género *Narcissus* y de la tribu *Galantheae*, de las Amarilidáceas, en el descubrimiento de alcaloides inhibidores de la acetilcolinesterasa.

Por último, el **enfoque ecológico** se basa en la observación de las interacciones entre los organismos y su entorno, mientras que de entre los **métodos computacionales** los dos más empleados son las simulaciones *in silico*, que permiten proponer las características de unión de los ligandos a las proteínas y el cribado virtual basado en farmacóforos, utilizado, por ejemplo, para definir la interacción del lignano magnolol con el receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma (PPAR γ), diana actual para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo2.

Figura 2. Identificación molecular de especies: DNA Barcoding.



LAS TECNOLOGÍAS ÓMICAS EN LA INVESTIGACIÓN DE PLANTAS MEDICINALES

GENÓMICA

El proceso de identificación de la materia prima vegetal tradicionalmente se basa en técnicas de identificación morfológica y fitoquímica, pero los avances en la secuenciación de ADN han impulsado el empleo del denominado código de barras de ADN.

El **DNA Barcoding** (Figura 2) consiste en la utilización de una pequeña región de un gen (denominada DNA Barcode), elegida por consenso científico, para la identificación molecular de la especie; son secuencias relativamente cortas que se obtienen mediante amplificación utilizando la técnica de reacción en cadena de la Polimerasa (PCR). En plantas, se ha propuesto la utilización conjunta de dos regiones de ADN: los genes que codifican para la subunidad mayor de la enzima RuBisCo (Ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigena-

sa) (rbcL) y para la maturasa K (matK), localizados ambos en el genoma del cloroplasto, si bien, dependiendo del grupo de plantas que se desee identificar, también se emplean otros marcadores, como ITS, trnH-psbA o ycf5 o una combinación de varios de estos.

Para que la técnica sea eficaz y pueda cumplir su objetivo es imprescindible contar con bases de datos que incluyan las secuencias de estos marcadores en diferentes especies. Por esta razón se han creado bibliotecas de libre acceso, siendo las más importantes BOLD (Barcode of Life Database), de la Universidad de Ontario, y la Base de Datos Colaborativa Internacional de Secuencia de Nucleótidos (International Nucleotide Sequence Database Collaborative), una colaboración entre GenBank (Estados Unidos), Nucleotide Sequence Database (Europa) y DNA Data Bank (Japón). En todos los casos, para el registro de las secuencias obtenidas se deben seguir unas normas acordadas por el CBOL (Consortium for the Barcode of Life), esto es, el Consorcio para el código de barras de la vida.

Recientemente, la Farmacopea Británica incluyó el primer método de identificación basado en esta técnica para *Ocimum tenuiflorum* L. (familia *Lamiaceae*) y la Farmacopea Japonesa lo ha hecho para la identificación de la especie *Amaranthus hybridus* L.

Aplicando esta técnica del DNA barcoding se han encontrado discrepancias por sustitución en el 16% de los productos comercializados de *Ginkgo biloba* y el 50% de los productos de ginseng coreano adquiridos en farmacias y supermercados de Toronto y Nueva York, por citar algunos ejemplos. Además, se encontró que solo el 68% de las muestras comercializadas de *Hypericum perforatum* contenía la especie concreta.

Estas tecnologías, combinadas con el screening de alto rendimiento, lograrán acortar el tiempo necesario en el proceso de descubrimientos de fármacos, desde su diseño hasta los ensayos clínicos. Actualmente esta técnica es utilizada tanto por la comunidad científica como por la industria para la identificación molecular, con el fin de resolver

cuestiones relacionadas con taxonomía, filogenia molecular, genética de poblaciones y biogeografía, así como para evitar la recolección y el comercio ilegal de la fauna y flora silvestres.

Metabolómica

En el reino vegetal la diversidad de metabolitos secundarios es asombrosa: baste decir que, en la base de datos de referencia en productos naturales *Dictionary of Natural Products*, se reconocen hasta la fecha aproximadamente 300.000 compuestos, de los cuales 200.000 son metabolitos secundarios de plantas, si bien se piensa que el número total puede alcanzar el millón.

Es preciso recordar que se habla de *producto natural* en referencia a un compuesto químico o sustancia producida por un organismo vivo que se encuentra en la naturaleza y que normalmente tiene una actividad farmacológica o biológica que le hace útil en el descubrimiento y diseño de nuevos fármacos.

La metabolómica, pues, tiene como objetivo analizar cualitativa y cuantitativamente todos los metabolitos contenidos en un organismo, elaborando así su denominado **perfil metabólico**. Sus estrategias actuales dependen principalmente de cuatro enfoques: cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida (LC), electroforesis capilar (CE) y espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR), con los recientes avances en sus aplicaciones. Para obtener la información final sobre las estructuras que permita la identificación de los compuestos se emplea la espectrometría de masas acoplada con bases de datos y otras herramientas bioinformáticas.

El empleo de estas técnicas ha permitido la identificación de los compuestos responsables de la actividad farmacológica de especies como *Newbouldia laevis* (P.Beauv.) Seem. y *Cassia abbreviata* Oliv., con propiedades antimaláricas, o de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., con actividad antiinflamatoria y antioxidante,

así como una nueva saponina identificada en *Panax ginseng* C.A. Meyer con propiedades antitumorales.

También los estudios metabolómicos pueden utilizarse para proponer precursores biosintéticos que aumenten el rendimiento del principio activo. Por ejemplo, para la producción del broncodilatador efedrina, la elaboración de perfiles metabólicos específicos y los análisis bioquímicos comparativos revelaron que el benzaldehído es un importante precursor de los alcaloides fenilpropilaminicos producidos por las especies del género *Ephedra*. También mediante la elaboración de perfiles metabólicos fue posible investigar la biosíntesis de tanshinonas, compuestos lipofílicos presentes en *Salvia miltiorrhiza*, y aumentar la expresión de la enzima SmCPS (copalil difosfato sintasa) que interviene en su síntesis, lo cual tuvo como consecuencia el incremento de la producción de estos principios activos empleados en terapéutica para tratar la isquemia cerebral.

Proteómica

Las técnicas proteómicas permiten medir los cambios sistémicos durante el metabolismo celular, de modo que una de sus principales utilidades es el estudio de los procesos de síntesis de compuestos bioactivos. Se ha aplicado la proteómica comparativa para identificar la expresión de las proteínas responsables de la biosíntesis de los cannabinoides en los diferentes tejidos de *Cannabis sativa* L., así como su distribución en las distintas partes de la planta, como las glándulas, las flores y las hojas.

También se ha aplicado el análisis proteómico en estudios de *Panax ginseng*. Dado que el cultivo del ginseng es difícil debido a su largo ciclo de vida, resulta crucial comprender las vías biosintéticas por las que se originan sus principios activos, los ginsenósidos. Dichos análisis revelaron que las raíces de ginseng inician la biosíntesis de estas saponinas cuando la planta alcanza un periodo de crecimiento lento, lo

cual demuestra la actividad temprana de las enzimas que intervienen en los procesos biosintéticos. También aplicando técnicas proteómicas se ha podido comprobar que la biosíntesis de ginsenósidos aumenta a medida que la planta envejece.

La proteómica, concretamente, la cuantificación de proteínas (iTRAQ), utilizada conjuntamente con la secuenciación de ARN, ha permitido identificar cuatro proteínas pertenecientes a la subfamilia de enzimas CYP718A en *Anemone flaccida* que resultaron esenciales para la biosíntesis de sus principios activos, saponinas triterpénicas.

ENSAYOS BIOLÓGICOS

El descubrimiento de fármacos a partir de plantas requiere de un enfoque multidisciplinar en el que el éxito dependerá, en gran medida, de la adecuada elección de los ensayos *in vitro* e *in vivo*. Estos ensayos deben combinar la simplicidad con una buena sensibilidad y reproducibilidad; no hay que olvidar que el empleo de modelos preclínicos inapropiados es una de las razones más importantes del fracaso de los nuevos candidatos a medicamento durante su desarrollo clínico.

Tradicionalmente, la investigación de los compuestos de origen vegetal se ha basado en un enfoque denominado "farmacología avanzada", también conocida como clásica o descubrimiento de fármacos fenotípicos, que utiliza ensayos en animales o modelos de órganos o tejidos, seguido del estudio *in vitro* de los mecanismos de acción. En las últimas décadas se observa un cambio en el enfoque de esta investigación, que ahora suele comenzar con el cribado de grandes colecciones de compuestos frente a proteínas diana, que luego se estudian más a fondo y se validan en modelos *in vivo* en un enfoque denominado "farmacología inversa" o descubrimiento de fármacos basado en objetivos. Tanto la farmacología avanzada como la farmacología inversa utilizan una selección de bioensayos

que se solapan, pero que difieren en la etapa en la que se realizan.

A continuación, se recoge una visión general de los ensayos utilizados para determinar la bioactividad de los productos naturales. No se incluyen los métodos para el ensayo de actividad que se basan en reacciones químicas simples, como algunos métodos ampliamente utilizados para determinar las propiedades antioxidantes *in vitro*.

Los ensayos clásicos *in vitro* basados en proteínas se fundamentan en la determinación de la actividad funcional de la proteína en presencia del compuesto que se está ensayando, o de la interacción física del compuesto ensayado con la proteína diana.

Una evaluación reciente de los fármacos aprobados por la FDA durante las últimas tres décadas reveló que el mayor grupo de proteínas diana de los fármacos aprobados hasta el momento son los receptores, seguidos de las enzimas y las proteínas transportadoras. Las dianas mejor representadas fueron los receptores acoplados a proteína G en el primer grupo, las hidrolasas en el grupo de las enzimas, y los canales iónicos dependientes de voltaje en el grupo de proteínas transportadoras. Encontramos así, ejemplos de compuestos, como algunos derivados de la chalcona y otros compuestos obtenidos de hongos como la dehidroaltenusina, que interrumpen la interacción de la proteína supresora de tumores p53 y su proteína reguladora MDM2, con actividad frente a varios tipos de cáncer.

Otro ejemplo es el gossipol, polifenol que se encuentra en especies del género *Gossypium* y que, igual que sus derivados, muestra actividad anticancerígena al inhibir la dimerización de proteínas antiapoptóticas, como BCLXL; estos resultados fueron el punto de partida para el estudio de los inhibidores sintéticos de BCL2.

Para los estudios *in vivo* los modelos tradicionales usados de ratas y ratones siguen siendo cruciales en la evaluación y validación de medicamentos,

ya que proporcionan una respuesta integrada que abarca eficacia, biodisponibilidad, efectos secundarios y toxicidad del compuesto en todo un organismo. Un factor adicional es la posibilidad de emplear animales genéticamente modificados (con un gen *knockout*, *downregulation* o sobreexpresión de una proteína de interés).

Las especies de mamíferos no roedores, como conejos, perros y monos, también se utilizan ampliamente en los estudios farmacológicos y farmacocinéticos. Aunque están asociados con limitaciones, como consideraciones éticas más marcadas, se siguen utilizando, especialmente por la industria farmacéutica, ya que las directrices reglamentarias internacionales suelen exigir pruebas de seguridad en al menos dos especies de mamíferos, incluida una especie no roedora, antes de autorizar los ensayos en seres humanos.

Los modelos animales no mamíferos, como el nematodo *Caenorhabditis elegans* y el *Danio rerio* o pez cebra tienen la ventaja de que permiten un cribado de medio a alto rendimiento en organismos vivos intactos. *Danio rerio* ha sido recientemente utilizado con éxito en un modelo de inflamación para el cribado de hasta 2.000 compuestos en un estudio que condujo a la caracterización de la tanshinona (derivado de la planta medicinal china *Salvia miltiorrhiza* Bunge), que induce de manera potente un efecto antiinflamatorio *in vivo*.

SÍNTESIS QUÍMICA Y MÉTODOS BIOTECNOLÓGICOS EN LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS DE ORIGEN NATURAL FARMACOLÓGICAMENTE ACTIVOS

Muchos productos naturales con importante actividad, como la podofilotoxina, la vinblastina o el ya mencionado taxol, comparten serias dificultades para satisfacer las demandas del mercado, ya que además de acumularse en

cantidades muy bajas en las especies que los biosintetizan, se obtienen de especies de crecimiento lento o incluso en peligro de extinción.

Su aislamiento directamente de las especies en las que se producen es aceptable si se necesitan cantidades pequeñas o muy moderadas, pero se deben considerar rutas adicionales de reabastecimiento una vez que haya un aumento en la demanda del mercado. Los métodos empleados para ello son: cultivos de células y tejidos vegetales, la producción heteróloga, la semisíntesis a partir de precursores o la síntesis química total.

La **biosíntesis heteróloga**, mediante la reconstrucción de la ruta biosintética en un receptor u hospedante externo, constituye una de las alternativas más interesante a las vías de producción tradicionales de metabolitos secundarios. Si bien es cierto que los microorganismos como *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae* han servido principalmente como organismos receptores, también se ha implementado en especies genéticamente más susceptibles que las fuentes nativas, tales como el tabaco o especies del género *Arabidopsis*. Por ejemplo, los secoiridoides de *Catharanthus roseus* se han logrado producir en el huésped heterólogo *Nicotiana benthamiana* Domin., iniciando así el camino para la producción biotecnológica sostenible de alcaloides de gran interés terapéutico.

El proceso de producción heteróloga de más éxito en la actualidad se ha desarrollado para un isoprenoide (grupo que representa la clase más grande de metabolitos secundarios de plantas con al menos 40.000 estructuras conocidas), concretamente, para un precursor de la artemisinina. La artemisinina es una lactona sesquiterpénica que se encuentra de forma natural en el ajeno dulce (*Artemisia annua* L.) y que es eficaz frente a las formas graves de malaria. Su disponibilidad es limitada debido a su bajo contenido en la especie y al bajo rendimiento de la síntesis química total, lo que tiene como consecuencia su elevado precio,

que hace que no sea asequible para los países en vías de desarrollo, donde la malaria es más prevalente. Las estrategias alternativas exploradas incluyen el desarrollo de un proceso de producción heterológica a partir de sus precursores, los ácidos artemisinico y dihidroartemisínico, en una cepa de *S. cerevisiae* y con intervención de la enzima amorfa-4,11-dieno. Esta tecnología la utiliza actualmente la industria farmacéutica para la producción a gran escala de artemisinina, habiéndose comprometido a aplicar un modelo de producción que, sin pérdidas, permite mantener un precio bajo para los países en desarrollo.

Los esfuerzos realizados también han permitido transferir la vía biosintética de la artemisinina a *Nicotiana benthamiana*, utilizando una estructura de mega vectores que consiste en 5 genes derivados de plantas y levaduras que están implicados en la vía biosintética del mevalonato que da lugar a la artemisinina.

También se ha investigado la producción heteróloga de paclitaxel, agente antimetabólico con estructura diterpénica compleja, de forma que el taxadieno intermedio podría producirse en hospedantes microbianos como *S. cerevisiae* o *E. coli*, en vegetales como *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., y en un musgo, *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp., sin que se produzca retraso de crecimiento del hospedante.

En cuanto a la **síntesis orgánica**, si bien en los últimos treinta años, se

ha logrado la síntesis de importantes compuestos de origen vegetal con interés terapéutico, como cannabidiol, colchicina, ingenol u homoharringtonina, actualmente los esfuerzos de síntesis no se reflejan en la producción industrial de los productos naturales. No obstante, se pueden citar ejemplos destacados de síntesis logradas, como la galantamina, alcaloide de la familia *Amarilidaceae* cuyo uso principal es aliviar los síntomas de la enfermedad de Alzheimer inhibiendo la enzima acetilcolinesterasa, y el ingenol, diterpenoide que se encuentra en especies del género *Euphorbia*, cuyo derivado también natural, el mebutato de ingenol, ha sido aprobado en Estados Unidos y Europa como el primer fármaco de su clase para tratar la queratosis actínica.

Aunque las rutas de estos dos compuestos utilizan metodologías bastante diferentes en cuanto a la síntesis global, ambos métodos imitan la biosíntesis que se produce en las fuentes naturales, *Galantus nivalis* y *Euphorbia lathyris*, respectivamente.

CONSIDERACIONES FINALES

Teniendo en consideración todo lo anterior, se puede afirmar, por tanto, que las plantas medicinales, además de haber sido una valiosa fuente de medicamentos en el pasado, constituyen hoy en día una base importante para la identificación de nuevas moléculas

de interés terapéutico. Los estudios químicos, farmacológicos y clínicos de las medicinas tradicionales han sido la base para el desarrollo de los fármacos modernos, como la aspirina, la digitoxina, la morfina o la quinina, estimándose que actualmente los principios activos del 45% de los medicamentos registrados son productos naturales o sus derivados semisintéticos.

En el contexto altamente competitivo de la investigación farmacéutica contemporánea, los productos naturales siguen, pues, proporcionando un elemento único de biodiversidad, diversidad estructural y funcionalidad biológica que es indispensable en el descubrimiento de nuevos fármacos. Ello implica incluir los recursos biológicos sin explotar (entre ellos, la importante información etnofarmacológica existente), los métodos de detección inteligente, la separación robótica con análisis estructural, las tecnologías "ómicas" y las estrategias para la realización de las pruebas farmacológicas más relevantes.

Milenios de experiencia y tradición que han aportado importantes evidencias del empleo de plantas medicinales por todas las culturas, y que esperan para ser analizadas, exploradas y puestas a disposición de la terapia moderna, por supuesto, respetando los marcos legales sobre la diversidad biológica. Biodiversidad y genómica son, por tanto, dos palabras clave que rigen la ciencia de los productos naturales del siglo XXI.

Bibliografía

- Appendino G, Fontana G, Pollastro F.** Natural products drug discovery. In: Liu H-W, Mander L. (Eds.), *Comprehensive Natural Products II*. 2010. Elsevier, Oxford, pp. 205-236.
- Atanasov AG, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig EM, Linder T, Wawrosch C, Uhrin P.** Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotech Adv.* 2015; 33: 1582-614.
- Atanasov AG, Zotchev SB, Dirsch VM et al.** Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat Rev Drug Discov.* 2021; 20: 200-16.
- Bedair A, Mansour FR.** Insights into the FDA 2018 new drug approvals. *Curr Drug Discov Technol.* 2019.
- Beutler JA.** Natural products as a foundation for drug discovery. *Curr Protoc Pharmacol.* 2009; 46: 1-9.
- Beyoğlu D, Idle JR.** Metabolomic insights into the mode of action of natural products in the treatment of liver disease. *Biochem Pharmacol.* 2020; 22(180): 114171.
- Bucar F, Wube A, Schmid M.** Natural product isolation.- how to get from biological material to pure compounds. *Nat Prod Rep.* 2013; 30: 525-45.
- Burton G, Evans-Illidge EA.** Emerging R and D law: the Nagoya Protocol and its implications for researchers. *ACS Chem Biol.* 2014; 9: 588-91.
- Chase MW, Cowan RS, Hollingsworth PM, van den Berg C, Madriñán S, Petersen G et al.** A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. *Taxon.* 2007; 56(2): 259-99.
- Che CT, Zhang H.** Plant Natural Products for Human Health. *Int J Mol Sci.* 2019; 20: 830-3.
- Cordell GA.** Sustainable medicines and global health care. *Planta Med.* 2011; 77: 1129-38.
- Corson TW, Crews CM.** Molecular understanding and modern application of traditional medicines: triumphs and trials. *Cell.* 2007; 130: 769-74.
- Cragg GM, Newman DJ.** Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta.* 2013; 1830: 3670-95.
- David B, Wolfender JL, Dias DA.** The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. *Phytochem Rev.* 2015; 14(2): 299-315.
- Dzobo K.** The Role of Natural Products as Sources of Therapeutic Agents for Innovative Drug Discovery. Reference Module in Biomedical Sciences. 2021; B978-0-12-820472-6.00041-4.
- Ertl P, Schuhmann T.** A Systematic Cheminformatics Analysis of Functional Groups Occurring in Natural Products. *J Nat Prod.* 2019; 82(5): 1258-63.
- Fabricant DS, Farnsworth NR.** The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environ Health Perspect.* 2001; 109(Suppl. 1): 69-75.
- Foster JR, Lund G, Sapelnikova S, Tyrrell DL, Kneteman NM.** Chimeric rodents with humanized liver: bridging the preclinical/clinical trial gap in ADME/toxicity studies. *Xenobiotica.* 2014; 44: 109-22.
- Hashiguchi A, Tian J, Komatsu S.** Proteomic Contributions to Medicinal Plant Research: From Plant Metabolism to Pharmacological Action. *Proteomes.* 2017; 5: 35-41.
- Heinrich M.** Ethnopharmacology in the 21st century.- grand challenges. *Front Pharmacol.* 2010; 1: 8-11.
- Henrich CJ, Beutler JA.** Matching the power of high throughput screening to the chemical diversity of natural products. *Nat Prod Rep.* 2013; 30: 1284-98.
- Katiyar C, Gupta A, Kanjilal S, Katiyar S.** Drug Discovery from plant sources: an integrated approach. *AYU.* 2020; 33(1): 10-19.
- Kingston DGI, Cassera MB.** Antimalarial Natural Products. *Prog Chem Org Nat Prod.* 2022; 117: 1-106.
- Liu J, Liu Y, Wang Y, Abozeid A, Zu YG, Tang ZH.** The integration of GC-MS and LC-MS to assay the metabolomics profiling in Panax ginseng and Panax quinquefolius reveals a tissue- and species-specific connectivity of primary metabolites and ginsenosides accumulation. *J. Pharm Biomed Anal.* 2017; 135: 176-85.
- Majolo F, Oliveira LK de, Marmitt DJ, Bus-tamante-Filho IC, Goettert MI.** Medicinal plants and bioactive natural compounds for cancer treatment: Important advances for drug Discovery. *Phytochem Letters.* 2019; 31: 196-207.
- Mena DN.** Natural Products: Reasons for not Underestimating Them- Part II. *Curr Top Med Chem.* 2022; 22(2): 108.
- Miralpeix B, Rischer H, Hakkinen ST, Ritala A, Seppanen-Laakso T, Oksman-Caldentey KM et al.** Metabolic engineering of plant secondary products: which way forward? *Curr Pharm Des.* 2013; 19: 5622-39.
- Nájera C, Foubelo F, Sansano JM, Yus M.** Stereodivergent routes in organic synthesis: marine natural products, lactones, other natural products, heterocycles and unnatural compounds. *Org Biomol Chem* 2020; 18(7): 1279-336.
- Perl A, Dalton H, Yoo Y, Koffas MAG.** Methods for the Development of Recombinant Microorganisms for the Production of Natural Products. *Methods Mol Biol.* 2022; 2396: 1-17.
- Pitchai A, Rajaretinam RK, Freeman JL.** Zebrafish as an Emerging Model for Bioassay-Guided Natural Product Drug Discovery for Neurological Disorders. *Medicines (Basel).* 2019; 6(2): 61.
- Raclariu AC, Heinrich M, Ichim MC, Boer H de.** Benefits and limitations of DNA Barcoding and Metabarcoding in herbal product authentication. *Phytochem Anal.* 2017; 29: 123-8.
- Veeresham C.** Natural products derived from plants as a source of drugs. *J Adv Pharm Technol Res.* 2012; 3(4): 200-1.
- Wang L, Yu C, Wang J.** Development of reporter gene assays to determine the bioactivity of biopharmaceuticals. *Biotechnol Adv.* 2020; 39: 107466.
- Wang R, Zhao S, Wang Z, Koffas MA.** Recent advances in modular co-culture engineering for synthesis of natural products. *Curr Opin Biotechnol.* 2020; 62: 65-71.
- Wilson BAP, Thornburg CC, Henrich CJ, Grkovic T, O'Keefe BR.** Creating and screening natural product libraries. *Nat Prod Rep.* 2020; 37(7): 893-918.