

MEDICINAL PLANT COMMUNICATIONS

Med. Plant Commun

1 (1): 4 - 8 (2018)

© / ISSN 2452 4433 / www.solaplamed.org/mpc

Short Communication

BLANCOS FARMACOLÓGICOS CON PRODUCTOS NATURALES: ANTIPARASITARIOS, HIPOGLICEMIANTES Y ANTIBACTERIANOS

[Pharmacology targets with natural products: antiparasite, hypoglycemic and antibacterials]

Fernando Echeverri¹, Yulieth Upegui², Elizabeth Cadavid¹, Adriana Castaño¹,
Sara Robledo², Norman Balcazar³, Winston Quiñones¹

¹Grupo de Química Orgánica de Productos Naturales, Instituto de Química, ²Programa Para el Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, ³Departamento de Fisiología y Bioquímica, Facultad de Medicina-Grupo GENMOL
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia
fernando.echeverri@udea.edu.co

Abstract: This paper describes the isolation, identification and bioactivity of several substances related to diseases for which there is an urgent need for new medicines. In the case of Leishmaniasis, a mixture of two synthetic molecules inspired in highly cytotoxic steroids and several triterpenes. For the case of the hypoglycemic, three triterpenes were identified from eucalyptus leaves and were active *in vitro* and in an animal model of DMT2. Finally, three drugs were inducers of virulence in *K. pneumonia*, and using a non-biocidal approach, several molecules were able to control this virulence were also detected.

Keywords: Natural products; New medicines; Leishmaniasis; Diabetes; Bacterial resistance

Resumen: En este trabajo se describe la síntesis, el aislamiento, identificación y bioactividad de varias sustancias que se relacionan con enfermedades para las cuales hay urgencia de nuevos medicamentos. En el caso de la Leishmaniasis, una mezcla de dos moléculas sintéticas inspiradas en esteroides altamente citotóxicos, mezcladas con varios triterpenos. En hipoglucemiantes, tres triterpenos fueron identificados de eucalipto y demostraron su actividad *in vitro* y en modelos animales de DMT2. Finalmente, tres medicamentos fueron inductores de virulencia en *K. pneumonia*, y empleando una aproximación no biocida también fueron detectadas varias moléculas que controlan esa virulencia

Palabras clave: Productos Naturales; Nuevos Medicamentos; Leishmaniasis; Diabetes; Resistencia bacteriana

Received: 27 de Julio de 2018

Accepted: 8 de Agosto de 2018

Publicado en línea | Published online: 30 de Octubre de 2018

This article must be cited as: F Echeverri, Y Upegui, E Cadavid, A Castaño, S Robledo, N Balcazar, W Quiñones. 2018. Blancos farmacológicos con productos naturales: antiparasitarios, hipoglucemiantes y antibacterianos. Med plant commun 1 (1): 4 – 8.

INTRODUCCIÓN

La naturaleza es el origen de dos valiosas fuentes de información; por un lado de modelos estructurales de sustancias bioactivas, y por otra parte de la información que portan, bien sea por conocimientos tradicionales de los materiales que las contienen o por su similitud con sustancias análogas. Por demás, existen varias estrategias para buscar nuevas moléculas bioactivas, de las cuales en este trabajo se emplearon tres. La primera de ellas es el uso del conocimiento tradicional, la segunda la optimización molecular de un producto natural a través de transformaciones sintéticas y la tercera, la exploración de la bioactividad por analogía estructural.

Por diversas razones, entre las cuales están la resistencia, baja efectividad y reducido arsenal farmacológico, actualmente hay una urgente necesidad de nuevas drogas. Por ejemplo, para las llamadas Enfermedades Desatendidas [1], entre las que se encuentra la Leishmaniasis, y de las cuales la industria farmacéutica tiene poco interés. También hay una verdadera epidemia de diabetes, que se convertirá en una enfermedad catastrófica en pocos años, por los hábitos alimenticios y modo de vida sedentario [2]. De igual manera, existe un panorama preocupante por la resistencia de los patógenos a los antibióticos actuales, de tal manera que la OMS ha hecho un llamado urgente de alerta para investigar nuevas moléculas, mecanismos de acción y enfoques terapéuticos [3].

En este trabajo se describen los procesos que permitieron generar información y moléculas que se convierten en líderes para desarrollar nuevas drogas en tres frentes importantes de la farmacoterapia humana.

METODOLOGÍA

1. Leishmanicidas. Obtener nuevas moléculas y tratamientos para el control de la Leishmaniasis.

- a. Se analizaron los efectos de algunas acnistinas y withajardinas sobre amastigotes de *L. panamensis*, así como su citotoxicidad
- b. Se tomó un cromano/tiocromano como farmacóforo equivalente al sistema α,β -carbonílico y epóxido de los anillos A y B en una withanolida bioactiva y se analizó su actividad leishmanicida
- c. Fueron preparadas varias hidrazonas de esos cro/tiocromanos, a partir de varias hidrazidas
- d. Se evaluó *in vitro* como leishmanicida un extracto rico de *Sapindus saponaria*; luego se hicieron ensayos en un modelo de esa enfermedad en hamster.
- e. En un modelo de leishmaniasis en hámster se ensayaron las mezclas de las hidrazonas más activas y mezclas de ellas con saponinas
- f. Con dos hidrazonas mezcladas con saponinas se analizaron diversos esquemas terapéuticos en hámster, modificando la duración del ensayo, la frecuencia de aplicación y la concentración de sustancias.

2. Purificar y determinar la estructura y la actividad hipoglucemiante de las sustancias presentes en las hojas de *Eucalyptus tereticornis*

- A. Selección del material:
 - Basados en la medicina tradicional
 - Fundamentados en su inclusión en el Vademecum Colombiano de Plantas Medicinales
- B. Proceso. Purificación bioguiada, con precipitación, extracción por solventes y cromatografía en columna (sílica y Sephadex) y capa fina
- C. Tipos de ensayos
 - *In vitro*: células C2C12
 - *In vivo*: Ratones obesos, sensibles y resistentes a la insulina
 - Tipos de Diabetes: Mellitus tipo 2
 - Búsqueda de otras fuentes naturales por HPLC

3. Medicamentos inductores de virulencia en *Klebsiella pneumoniae* y búsqueda de inhibidores naturales basados en la modulación de Quorum Sensing

- Selección de Medicamentos. Historias clínicas y consumo
- Selección de inhibidores. Analogos estructurales de otras moléculas que hayan sido analizadas en su potencial anti-*Quorum Sensing* (*Quorum Quenching*), tales como flavonoides, fenilpropanos, furanos, lactonas, piranos, acilpirazinas y acilpirrolidinas e isosteros

4. Tipos de ensayos: inhibición de parámetros involucrados en Quorum Sensing:

- Crecimiento bacteriano
- Promoción/Inhibición de la síntesis de lactonas autoinductoras
- Promoción/Inhibición de biofilm en pozos y en sondas
- Cambios en resistencia del biofilm maduro

RESULTADOS

Nuevas moléculas y tratamientos para el control de la Leishmaniasis.

El efecto de varias withajardinas y acnistinas sobre amastigotes de *L. panamensis* mostro una alta actividad leishmanicida, pero también una gran toxicidad. Por esta razón se tomo una parte estructural de las moléculas mas activas como el farmacoforo, para tratar de generar moléculas igualmente activas, pero menos toxicas; un sistema de 4-cromanona/tiocromanona fue el punto de partida. Esas dos moléculas mostraron un efecto in vitro sobre amastigotes con una notable reducción de la toxicidad. [4]

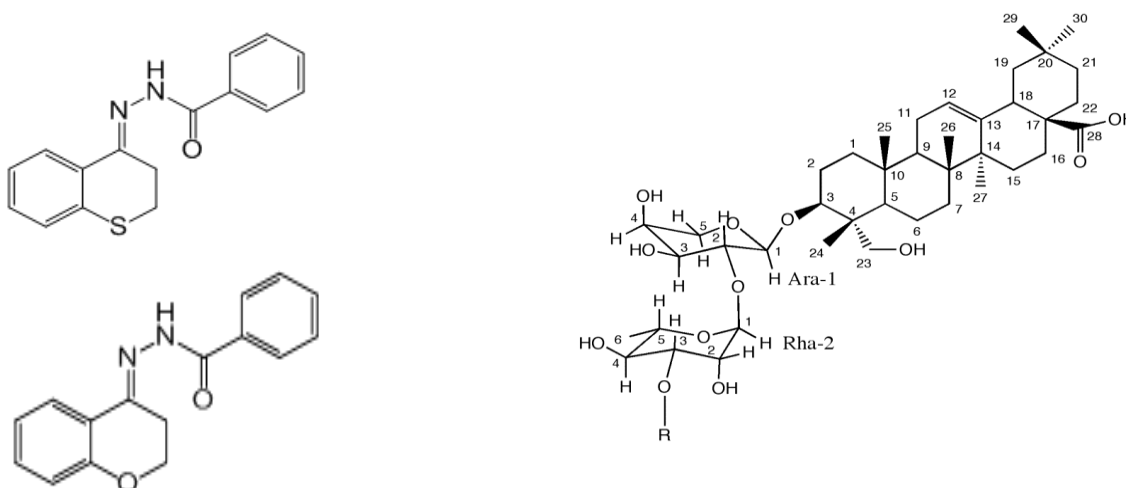


Figura 1
Moléculas leishmanicidas en modelo hamster

Es bien sabido que algunas hidrazonas tienen efectos antiparasitarios, y que el mecanismo de acción propuesto se relaciona con la inhibición de las proteasas, fundamentales para el tráfico de proteínas en el parásito. Por eso, para tratar de incrementar más aun la actividad se prepararon las hidrazonas de cromanonas/tiocromanonas.

Efectivamente, algunas de las nuevas hidrazonas mostraron un alto efecto *in vitro* contra *L. panamensis*, por lo cual se procedió a ensayos en un modelo de enfermedad en hámster, en el cual se determina el tamaño de una lesión en el dorso antes y después de aplicar la mezcla de sustancias [5], vehiculizadas en una pomada, ya que, para la Leishmaniasis Visceral, la OMS recomienda esa vía como la más adecuada. Se evidenció una curación total optimizando una concentración de la mezcla (50% de ambas hidrazonas) al 4%, con aplicación 2 veces/día por 15 días [6].

Estos resultados indican que estas moléculas pueden entrar a un proceso tendiente a su validación clínica, lo que ha implicado el escalamiento de la síntesis de las hidrazonas, la producción de las saponinas triterpénicas, y la optimización farmacéutica del vehículo.

HIPOGLICEMIANTES

Las hojas de varias especies de eucaliptos son usadas en diferentes partes del mundo como hipoglicemiantes; sin embargo, no se han hecho estudios para validar dicho uso y además no se ha definido claramente para que tipo de diabetes se recomienda, la insulino-dependiente tipo I o la Mellitus Tipo 2.

En este trabajo y fundamentados en tal uso, se hizo un extracto etanólico de las hojas de *E. tereticornis* [7,8], que fue precipitado con la adición de hexano; el subextracto resultante, llamado OBE100, mostró la presencia de tres triterpenos mayoritarios por cc. Posteriormente y mediante procesos cromatográficos secuenciales por columna empleando sílica gel y Sephadex, y capa fina preparativa, se pudieron purificar los compuestos ácido ursólico, ácido oleanólico y la lactona del ursólico, que fueron identificados por RMN 1D y 2D. De igual manera también se pudo obtener por cromatografía una mezcla de dos triterpenos, ursólico y oleanólico, llamada OBE104.

Sorpresivamente, el extracto etanólico crudo mostró un efecto hipoglicemiante muy marginal (14% a concentraciones de 100 µg/mL) en células C2C12, usando insulina como control; sin embargo, el precipitado conteniendo los tres triterpenos redujo la glicemia en un 62% (a concentraciones de 100 µg/mL), mientras que la mezcla de dos de ellos lo hizo en un 20% (a concentraciones de 100 µg/mL). Por otra parte, en modelos de ratones hiperglicémicos obesos (sensibles y resistentes a la insulina), OBE 100 redujo la glicemia a niveles normales.

Se exploraron 8 cultivares de *E. tereticornis* y *E. globulus* tratando de hallar plantas con un perfil adecuado en cuanto a contenido de los triterpenos; se detectaron tres con alto contenido de triterpenos.

La mezcla de triterpenos obtenidos a partir de hojas de *Eucalyptus tereticornis*, en las proporciones como se obtienen a partir del material vegetal, presentan un efecto sistémico sobre la reversión de las anomalías metabólicas, presentes en un modelo animal de pre-diabetes. Reduce la hiperglucemia en ayuno, reduce la intolerancia a la glucosa y a la insulina, reduce los niveles de colesterol total, LDL y VLDL, reduce considerablemente el proceso inflamatorio y los niveles de leptina en sangre y reduce significativamente el peso del animal obeso.

Por otra parte, es realmente ventajosa la actividad de la mezcla de triterpenos, no solo por el sinergismo observado, sino también porque el proceso de purificación de cada compuesto es lento, engorroso y económicamente muy costoso, lo que aleja la posibilidad de la implementación de tecnologías farmacéuticas para su uso y comercialización.

COMPUESTOS ANTIBACTERIANOS NO BIOCIDAS.

Cada vez es más frecuente la aparición de infecciones recurrentes y nosocomiales. El alto índice de resistencia microbiana conlleva preocupantes costos sociales y económicos, tanto por la morbilidad/mortalidad, como por los costos de su hospitalización y tratamiento. Sin embargo, e inherente al comportamiento microbiano podrían existir otros factores que facilitan la resistencia y la virulencia; por tanto, hemos considerado la posibilidad de que algunos medicamentos que se ingieren para el tratamiento de diversas enfermedades induzcan estas respuestas microbianas. Para ello se seleccionaron 23 de los medicamentos más empleados en Colombia; a través de diversos ensayos se encontró que el acetaminofen, la hidroclorotiazida y la progesterona, inducen *in vitro* la síntesis de lactonas autoinductoras, la formación de biofilm, la adherencia en sonda y su mayor estabilidad a los antibióticos [9]. Esto se constituye en un probable problema para la salud, que exigiría modificaciones en los esquemas terapéuticos que incluyen esas drogas y un mayor control de la automedicación. Estos resultados hicieron factible también la búsqueda de otras moléculas que inhibieran esos procesos de virulencia, como se describe a continuación.

El análisis secuencial de 50 sustancias permitió detectar dos potentes sustancias que inciden notablemente en los procesos de comunicación de *K. pneumoniae* relacionados con *Quorum Sensing* [10], a través del cual se expresa no solo la patogenicidad sino también la virulencia y la resistencia de esa bacteria. A muy baja concentración, los compuestos 3-metilfuranona y ácido 2'-hidroxicinámico, inhibieron la formación de biofilm en un 65% y además desestabilizan el remanente, haciéndolo probablemente más permeable a los antibióticos. Un efecto similar se apreció en un modelo de biofilm en sonda. Las sustancias analizadas correspondieron en su mayoría a productos naturales, y algunas de ellas,

como los dos mas potentes encontrados, se ingieren en los alimentos. Por ello, además de que podrían ser usadas como coadyuvantes de la antibioterapia, también se podría recuperar el empleo de antibioticos que hoy ya no se emplean debido a la resistencia microbiana.

Todas esas moléculas se convierten en nuevas cabezas de serie para el desarrollo de medicamentos más efectivos y probablemente con nuevos blancos terapéuticos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a COLCIENCIAS (Colombia) y a la Universidad de Antioquia (Programa Sostenibilidad) la financiación de estas investigaciones.

REFERENCIAS

- [1] WHO. Neglected Diseases. http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/.
- [2] WHO. Global report in Diabetes. http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204871/9789241565257_eng.pdf?
- [3] WHO. 2017. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. <http://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- [4] E Cardona, Tesis de Doctorado en Ciencias Químicas, Universidad de Antioquia (Medellin, Colombia)
- [5] SM Robledo et al., 2012. J Vis Exp. 62: 35-33.
- [6] F Echeverri et al., 2015. Patente USPTO 9168268 B1.
- [7] Castaño, A. 2018. Trabajo de Maestría. Universidad de Antioquia (Medellin, Colombia).
- [8] A Guillén et al., 2015. Advances in Pharmacological Sciences. 2015; 2015: 1-10.
- [9] E Cadavid et al., J. Pharm. Pharmacol. (Sometido)
- [10] E Cadavid. Tesis de Doctorado. Universidad de Antioquia (Medellin, Colombia)