

La Farmacognosia en el Mundo Actual

RUBEN V.D. RONDINA

*Cátedra de Farmacognosia, Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA),
Junín 956, 1113 Buenos Aires, Argentina*

Recientemente tuvimos la oportunidad de asistir en Estados Unidos a un congreso internacional, que se realiza cada cinco años, y que nuclea a los principales farmacognostas y por extensión a otros investigadores relacionados con los productos naturales. Tuvimos también el honor de ser invitados a uno de los centros más importantes del mundo en lo relacionado con la investigación aplicada a las plantas utilizadas en medicina tradicional. Creemos interesante difundir nuestros comentarios para conocimiento de los colegas de nuestro país.

Entre el 7 y el 12 de julio de 1985 se llevó a cabo en la sede de Chapel Hill, de la Universidad de North Carolina, el *International Research Congress on Natural Products*. El mismo es organizado regularmente por las principales asociaciones relacionadas con la farmacognosia: The American Society of Pharmacognosy (Sociedad Norteamericana de Farmacognosia), Association Française pour l'Enseignement et la Recherche en Pharmacognosie (Asociación Francesa de Enseñanza e Investigación en Farmacognosia), Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung (Sociedad para la Investigación de las Plantas Medicinales) y Phytochemical Society of Europe (Sociedad Europea de Fitoquímica). Entre los asistentes

merecen destacarse los Prof. Dres. Bingel (Chicago), Fong (Chicago), M. Al Yahya (Riyad), Laekeman (Antwerp), Baratta (Campinas), Brady (Toledo), Kingston (Blaksburg), Cordell (Chicago), Chaves (Puerto Rico), Farnsworth (Chicago), M. Gupta (Panamá), Samuelsson (Uppsala), Phillipson (Londres), Cavé (Chimay-Malabry), K. Nakanishi (New York) y Kinghorn (Chicago).

Las observaciones generales sobre la reunión se refieren al enfoque actual de las reuniones científicas: el énfasis principal fue el de la posibilidad de establecer buenas relaciones entre los concurrentes, por lo que se redujeron notablemente las presentaciones orales y se las reemplazó por presentaciones en carteles ("posters"). Por otra parte se sigue cometiendo el mismo error en la identificación de los asistentes, al hacerlo con un enorme rótulo dentro del cual su nombre, lo importante para el interlocutor, está escrito en letra pequeña. Otra observación general parcialmente relacionada con la reunión es la que se refiere al comportamiento de los estudiantes locales, extremadamente educados y respetuosos de sus mayores y de los edificios escolares, cosa aparentemente perdida en nuestras universidades multitudinarias.

Se presentaron unos 220 trabajos

(de los cuales tres de nuestra Cátedra) por parte de más de 500 autores.

Paralelamente se desarrolló un simposio sobre biosíntesis de productos naturales y sobre síntesis y relación estructura-actividad de los productos naturales, que para nosotros no resultó suficientemente interesante debido al hecho de que se trató de conferencias sobre asuntos muy particulares que carecieron de una generalización. Los temas de los trabajos presentados fueron: biosíntesis de productos naturales, dilucidación de la estructura de alcaloides, terpenoides, flavonoides y poliquétidos, síntesis de productos naturales, biotransformaciones, bioquímica y análisis. Sólo se presentaron treinta y dos trabajos bajo el rubro "técnicas, documentación y actividad biológica" (catorce en realidad relacionados con esta última) y otros veintiuno bajo el rubro "actividad biológica de productos naturales".

Lo expuesto no hace más que ilustrar numéricamente las dificultades que se atraviesan en el orden mundial para llevar a cabo las investigaciones referentes a la actividad biológica de productos naturales. Sólo un quince por ciento de lo expuesto estuvo relacionado directamente con este tema. Ello se explica porque en general los trabajos de seguimiento de una actividad son engorrosos y además carecen de relevancia para aquellos que ensayan tal actividad. Por lo tanto, en un mundo que se basa en los trabajos de investigación de los doctorandos, se busca encarar temas que produzcan resultados a corto plazo, como lo son en general la dilucidación de estructuras, lo que permite a la vez realimentar un área en la cual, si bien aislar una sustancia *activa* es importante, también lo es la determinación de su estructura química. Hoy en día, en el mundo "desarrollado"

nadie se permite darse el lujo de estar años siguiendo un pájaro azul.

Volviendo a señalar lo positivo de la reunión, digamos que si bien la mayoría de los trabajos se prestaron para discusiones amigables de los pocos privilegiados relacionados con la especialidad de cada uno de ellos, por otra parte sí se dio la oportunidad para que los mismos pudieran verse y hablar largo y tendido. Ventajas de la presentación en carteles.

Capítulo aparte merece lo observado en ésta y otras universidades de Estados Unidos y que no costaría tanto implantar en la Argentina: aulas limpias, bien iluminadas y funcionales, y comedores bien organizados y (para ellos) económicos. No hablemos de las otras exquisiteces que se basan en los altos aranceles que se pagan pues esto no sería aplicable en nuestro caso.

Como dijimos antes, también tuvimos el honor de ser invitados a visitar la sede del *Program for Collaborative Research in the Pharmaceutical Sciences (PCRPS)* (Programa para la investigación Colaborativa en Ciencias Farmacéuticas) que funciona en el College of Pharmacy, Health Sciences Center de la Universidad de Illinois en Chicago. La unidad funciona en un moderno edificio dedicado especialmente a la enseñanza de la Farmacia y fue sede hasta hace poco de la cátedra de Farmacognosia en dicha Facultad. Actualmente cuenta con un plantel de más de sesenta personas, se halla adscrito a la Organización Mundial de la Salud y colabora con distintos centros de investigación asiáticos, con un presupuesto de más de un millón de dólares al año.

Dicho centro está dirigido por el Prof. Dr. Norman Farnsworth y se encuentra subdividido en varias secciones que encarar en general diversos aspectos,

cada uno de los cuales cuenta con un responsable específico. La coordinación general está a cargo del Prof. Dr. Harry Fong. La dilucidación de estructuras orgánicas está a cargo del Prof. Dr. Geoffrey Cordell y del Prof. Dr. A.D. Kinghorn. Los estudios farmacológicos en mamíferos se hallan supervisados por la Prof. Dra. Audrey Bingel mientras el Prof. Dr. John M. Pezzuto se encuentra a cargo del ensayo sistemático de las actividades anticáncer y hepatotóxica en el laboratorio de cultivo de tejidos.

Como comentario general digamos que los laboratorios se hallan dotados de equipo normal, también hallado en nuestro país. Las técnicas de extracción y separación son las clásicas, recurriéndose regularmente a la cromatografía planar o instrumental. Dentro de la primera se utilizan sistemas sobre capa fina, generalmente con silicagel como fase estacionaria. En cromatografía instrumental se usan modestos cromatógrafos líquidos (muchos de ellos sin detector ni programador) auxiliados por colectores automáticos de fracciones. También se utiliza, aunque menos, la cromatografía gaseosa. En cromatografía preparativa instrumental, a la que se recurre como última instancia, se utiliza la cromatografía líquida o bien la cromatografía en contracorriente gota a gota (Droplet Counter Current Chromatography). Pero también se utiliza la clásica columna a presión hidrostática y la cristalización fraccionada.

En realidad, lo que merece especial atención es la disponibilidad de recursos en cuanto a ensayos biológicos, instrumental para el análisis estructural orgánico y archivo de información científica. Cada ítem merecerá un párrafo aparte.

Una de las unidades de apoyo funciona directamente dentro de las instala-

ciones del "programa" y depende administrativa y académicamente de la misma. Es la que se refiere al *cultivo de tejidos*. Cuenta con una superficie propia de unos 150 m² y está subdividida en varios laboratorios. Los más complejos son los dedicados a la siembra y repique de los cultivos. Además de estar específicamente aislados y dotados de un sistema de presión positiva de aire filtrado, cuentan con varias unidades de flujo laminar. Estas, dado que las operaciones no implican riesgo para el operador, constituyen una consola en que el aire filtrado y estéril corre en ráfagas paralelas desde el fondo de la unidad hacia el frente.

Como ya hemos dicho, en este laboratorio se cultivan diversos tejidos con el objeto de efectuar el ensayo sistemático de extractos y fracciones vegetales en cuanto a su posible actividad anticáncer (o citotóxica) o hepatotóxica. En otras dependencias se efectúa la lectura de los resultados con auxilio de un instrumento cuenta colonias. El mismo (Fisher Count All modelo 600) permite colocar bajo una unidad lectora una cápsula de Petri, para obtener inmediatamente una lectura numérica de la cantidad de colonias presentes. El instrumento tiene también una unidad para microscopio que, colocada en el mismo, permite conocer el número de microorganismos (o células) presentes en el campo. El instrumento no es nada novedoso y es conocido por todos aquellos que trabajan en el campo de la microbiología.

En edificios anexos y ya independientes administrativamente del "programa" funcionan otras instalaciones que son mantenidas directamente por la Universidad como parte de su programa de formación de recursos humanos (doctorandos y candidatos a maestrías). Este programa está coordinado por el vicede-

cano de la Facultad, Prof. G. Cordell y tiene como objetivo proveer mayores facilidades para el desarrollo de esta actividad. El funcionamiento administrativo, que incluye la atención y mantenimiento de los laboratorios e instrumentos depende presupuestariamente de la misma Universidad, y a estos equipos tienen acceso todos aquellos investigadores, de cualquier Facultad, que necesiten de los mismos. Los usuarios tienen abierta una cuenta corriente y deben pagar de sus subsidios un arancel por el uso de las instalaciones, desligándose de los problemas de reparación, funcionamiento y mantenimiento.

Dentro de esta tónica se accede al *instrumental* complejo necesario para la *determinación de estructuras químicas*. Si bien el "programa" tiene disponible un modesto espectrómetro de resonancia magnética protónica (de 60 mhz), los equipos mayores se encuentran en este complejo. Entre ellos dos espectrómetros de masa, de Varian Matt y un Finnigan. Este último alcanza hasta 4500 unidades de masa, un Varian Matt y un Finnigan. La magnética nuclear son un Bruker de 100 mhz y un Nicolet de 360 mhz (éste apto también para 13 C). Estos equipos funcionan las 24 horas de todos los días y son operados directamente por los usuarios (previo curso de capacitación). No se opera con técnicos, excepto para su mantenimiento y reparación. Los potenciales usuarios deben pedir hora para su uso y adaptarse al horario disponible, sean las tres de la tarde o las tres de la mañana. Obtenido el instrumento, deben manejarlo personalmente.

Otra de las instalaciones utilizadas, dependiente también de la Universidad es el *BRL (Biological Research Laboratories)*. Se trata de un edificio dividido en tres niveles, cada uno de ellos con

una superficie total de unos 1500 m², con secciones para jaulas y laboratorios en cada planta. El nivel inferior está dedicado a grandes animales (generalmente animales de granja) y tiene jaulas que permiten alojar, por ejemplo, equinos o bovinos. El siguiente nivel está destinado a animales pequeños, fundamentalmente a roedores. El último nivel está reservado a la cría y experimentación con monos.

Salvo el nivel inferior, cada planta consta de numerosas divisiones, constituidas por unidades en que se accede primero a un pequeño laboratorio con una mesada de trabajo y luego a una habitación de unos 2 m x 3 m, dedicada a alojar gran número de jaulas. También existen en el laboratorio mencionado una especie de sorbonas con puerta, provistas con aire acondicionado, en las que se puede depositar un número menor de jaulas con animales. En dichas unidades el sistema de bebedores es automático y posee un sistema de flujo rápido que opera regularmente y cuyo objetivo es mantener desobstruídas las cañerías. Tanto los tubos de agua como las conexiones son metálicas, para evitar las depredaciones de algún animal eventualmente suelto.

Los procedimientos de limpieza de las jaulas están adaptados al esencial ahorro de mano de obra. Así, las bandejas se cambian dos veces por semana y las jaulas se lavan cada dos semanas.

En el conjunto existen varias salas especialmente dedicadas a la cirugía de los animales. Las mayores, adaptadas para grandes ejemplares, tienen gran parecido con un quirófano hospitalario.

Los monos utilizados se reproducen allí mismo. Se cría un animal de mediano porte, el babuino, del que cuentan con una población de 500 animales.

Todos los otros animales son adquiri

cada uno de los cuales cuenta con un responsable específico. La coordinación general está a cargo del Prof. Dr. Harry Fong. La dilucidación de estructuras orgánicas está a cargo del Prof. Dr. Geoffrey Cordell y del Prof. Dr. A.D. Kinghorn. Los estudios farmacológicos en mamíferos se hallan supervisados por la Prof. Dra. Audrey Bingel mientras el Prof. Dr. John M. Pezzuto se encuentra a cargo del ensayo sistemático de las actividades anticáncer y hepatotóxica en el laboratorio de cultivo de tejidos.

Como comentario general digamos que los laboratorios se hallan dotados de equipo normal, también hallado en nuestro país. Las técnicas de extracción y separación son las clásicas, recurriéndose regularmente a la cromatografía planar o instrumental. Dentro de la primera se utilizan sistemas sobre capa fina, generalmente con silicagel como fase estacionaria. En cromatografía instrumental se usan modestos cromatógrafos líquidos (muchos de ellos sin detector ni programador) auxiliados por colectores automáticos de fracciones. También se utiliza, aunque menos, la cromatografía gaseosa. En cromatografía preparativa instrumental, a la que se recurre como última instancia, se utiliza la cromatografía líquida o bien la cromatografía en contracorriente gota a gota (Droplet Counter Current Chromatography). Pero también se utiliza la clásica columna a presión hidrostática y la cristalización fraccionada.

En realidad, lo que merece especial atención es la disponibilidad de recursos en cuanto a ensayos biológicos, instrumental para el análisis estructural orgánico y archivo de información científica. Cada ítem merecerá un párrafo aparte.

Una de las unidades de apoyo funciona directamente dentro de las instala-

ciones del "programa" y depende administrativa y académicamente de la misma. Es la que se refiere al *cultivo de tejidos*. Cuenta con una superficie propia de unos 150 m² y está subdividida en varios laboratorios. Los más complejos son los dedicados a la siembra y repique de los cultivos. Además de estar específicamente aislados y dotados de un sistema de presión positiva de aire filtrado, cuentan con varias unidades de flujo laminar. Estas, dado que las operaciones no implican riesgo para el operador, constituyen una consola en que el aire filtrado y estéril corre en ráfagas paralelas desde el fondo de la unidad hacia el frente.

Como ya hemos dicho, en este laboratorio se cultivan diversos tejidos con el objeto de efectuar el ensayo sistemático de extractos y fracciones vegetales en cuanto a su posible actividad anticáncer (o citotóxica) o hepatotóxica. En otras dependencias se efectúa la lectura de los resultados con auxilio de un instrumento cuenta colonias. El mismo (Fisher Count All modelo 600) permite colocar bajo una unidad lectora una cápsula de Petri, para obtener inmediatamente una lectura numérica de la cantidad de colonias presentes. El instrumento tiene también una unidad para microscopio que, colocada en el mismo, permite conocer el número de microorganismos (o células) presentes en el campo. El instrumento no es nada novedoso y es conocido por todos aquellos que trabajan en el campo de la microbiología.

En edificios anexos y ya independientes administrativamente del "programa" funcionan otras instalaciones que son mantenidas directamente por la Universidad como parte de su programa de formación de recursos humanos (doctorandos y candidatos a maestrías). Este programa está coordinado por el vicede-

ridos a proveedores especializados y sometidos a cuarentena en una unidad separada instalada lejos de la ciudad. Desde allí se los envía al BRL según el pedido de los investigadores (v. gr. hembras preñadas). Estos, además, deben especificar otras características, tales como número, tipo y condiciones de los animales. La unidad les asigna día y hora y laboratorio de trabajo y efectúa las eventuales intervenciones previas (v. gr. hipofisectomía).

El PCRPS utiliza dichas instalaciones para el ensayo sistemático de la actividad biológica de extractos brutos, fracciones y sustancias puras de plantas potencialmente activas. Entre otras se sigue la *actividad anticáncer* en ratones cancerosos a los que se inyectan las sustancias, midiéndose a continuación su sobrevivencia con respecto a los controles. Se ensaya asimismo la actividad *antifertilidad* por medio de la inyección de extractos y sustancias en ensayo a ratas y/o hamsters, sea con un determinado período de gestación o bien en hembras vírgenes durante cierto período previo a su contacto con el macho, midiéndose el número posterior de abortos o el número relativo de pariciones y la normalidad o anormalidad de las crías.

Con respecto a la posibilidad de aplicación de otros ensayos menos específicos, el Dr. Farnsworth fue consultado acerca de la utilidad del ensayo hipocrático preconizado por el Prof. Dr. H. Malone, que consiste en la observación de los animales luego de haberles suministrado los extractos o sustancias en ensayo y en la obtención de datos sobre la potencial actividad de los mismos. Manifestó que su equipo de investigación no lo utiliza porque no lo considera confiable en las condiciones en que el mismo podría aplicarlo.

Finalmente merece mencionarse lo que probablemente es la actividad más necesaria a la comunidad farmacognóstica desarrollada por el PCRPS. Se trata del funcionamiento del *archivo electrónico de datos NAPRALERT*.

Uno de los problemas actuales de todos los científicos es el acceso a la información. Ya han pasado las épocas en que bastaba leer unas cuantas revistas clave para estar al día con respecto a las investigaciones que se llevan a cabo en el mundo. El problema es mucho mayor para aquellos que operan en áreas multidisciplinarias, en que se producen trabajos que se publican en las revistas más diversas. Ni aún las revistas de resúmenes, como el *Chemical Abstracts*, resultan útiles cuando se pretende buscar datos sobre productos vegetales. Una solución para el problema han sido los bancos electrónicos de datos, que acumulan los resúmenes en discos o cintas, y a los que se puede acceder a través de la lógica booleana (esto es, combinaciones que permiten armar diferentes perfiles sobre la base de operaciones con conjuntos). Ello permite recurrir a palabras descriptoras presentes en los resúmenes, con las cuales uno puede hacer un conjunto mayor y eventualmente restringir este conjunto por intersección con otros descriptores considerados clave. El interés del Dr. Farnsworth por este tema le permitió organizar un banco electrónico de datos específicamente diseñado para operar con productos naturales. Pasamos a describirlo.

La sección dedicada al NAPRALERT (NATURAL PRODUCTS ALERT) se halla a cargo de la Dra. Mary Lue Quinn. El trabajo se basa en la revisión de las publicaciones de las revistas. De ellas unas doscientas se reciben directamente. Del resto de los artículos de interés, identifica-

dos a través de la consulta de revistas de índice, se obtiene la copia del artículo original.

En todos los casos se prepara una copia de cada trabajo de interés, que pasa a ser considerada por los distintos especialistas, que llenan un formulario *ad hoc*. Así, los *especialistas en botánica* verifican la nomenclatura, agregan todos los sinónimos científicos aceptados (obtenidos del Index Kewensis) y los nombres vulgares y determinan la parte anatómica y estado vegetativo, de la especie en cuestión. Los *especialistas en química* incorporan los nombres y las estructuras de los compuestos involucrados en el artículo, toman nota de los nuevos compuestos y codifican las estructuras de todas las sustancias de acuerdo a un código numérico que permite archivarlas en la computadora y reconstruirlas posteriormente. Los *expertos en farmacología* resumen lo esencial relacionado con el tema y codifican las actividades biológicas. Todos confeccionan palabras clave que se agregan al conjunto. Los *farmacognostas* codifican lo relacionado con los datos etnomédicos, métodos de aislamiento e identificación de sustancias.

Este archivo permite conocer al instante toda la información aparecida en trabajos científicos acerca del nombre, sinónimos, familia, sustancias aisladas, actividad biológica demostrada, usos folklóricos, etc.

El trabajo ha sido efectuado hasta la fecha utilizando una computadora relativamente modesta (ALPHA MICRO AM 600) con 1024 kilobytes de memoria RAM, pero planean pasar en el futuro a un equipo de mayor capacidad. La información se encuentra registrada por triplicado, guardándose uno de los ejemplares en la caja de seguridad de un banco.

Cualquier persona puede pedir in-

formación (etnofarmacognóstica, farmacológica o química) sobre plantas de interés. Existen dos limitantes: el arancel (10 dólares por consulta (especie) y la información acumulada, que corresponde al período 1975 hasta la fecha, obtenida a través de la consulta de 70.000 artículos. Por ahora la consulta debe ser por escrito y con una demora de algunos días pues el sistema trabaja fuera de línea ("off line"). A partir de fines de 1986 se podría acceder en línea ("on line") utilizando las facilidades que EN-TEL ya tiene disponibles para el uso a distancia de terminales de computadora.

Damos fin a este breve pantallazo con una observación pertinente. En la Argentina poseemos recursos humanos que se hallan al nivel de los mejores del mundo. En cuanto a instrumental, la situación es buena, excepto en lo que se refiere al complejo instrumental indispensable para la determinación de estructuras químicas, imprescindible asimismo para los químicos orgánicos. Por otra parte llevamos una gran ventaja, que es la de poder copiar los sistemas que resultaron afortunados y rechazar aquellos que fracasaron en otras partes del mundo. Por ejemplo, se ha visto que la cromatografía líquida instrumental es imprescindible pero que requiere solamente equipos simples.

Nuestro trabajo aplicado a las especies medicinales argentinas recién comienza, pero sólo será posible si se efectúa sobre la base del interés nacional y con un criterio multidisciplinario. Ello lleva implícito el despojarse de ambiciones personales y de celos entre los representantes de las distintas disciplinas a involucrar. La investigación deberá basarse en una hipótesis de actividad efectuada en base a los datos etnofarmacológicos recogidos, con una idea clara de la probable aplicación de cada especie.