

Comodoro Rivadavia, 28 de mayo de 2004.-

VISTO:

La propuesta de Práctica Profesional de la carrera de Bioquímica, y

CONSIDERANDO:

Que la misma ha sido avalada por el Jefe del Departamento.

Que siguieron el camino crítico correspondiente.

Que cumple con las Resoluciones CAFCN. N° 234/92 y 057/99.

Que el tema fue tratado en la II sesión ordinaria del año en curso.

**POR ELLO, EL CONSEJO ACADÉMICO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
RESUELVE**

Art. 1°) Aprobar la **Práctica Profesional** propuesta por el Departamento de Bioquímica que se detalla a continuación y cuyos contenidos figuran en el Anexo que forma parte integrante del presente despacho:

“BÚSQUEDA DE METABOLITOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA A PARTIR DE PRODUCTOS NATURALES”

Profesor responsable: Dra. **Mónica Liliana Freile**.

Colaboradores:

Dr. **Eduardo Isidro Sánchez**

Dr. **Oscar Héctor Pucci**

Art. 2°) Regístrese, cúrsense las comunicaciones correspondientes, notifíquese a quien corresponda y cumplido, Archívese.-

RESOLUCIÓN CAFCN. N° 293/04.-

Lic. HORACIO PREZ
SECRETARIO ACADÉMICO
Facultad Cs. Naturales

Farm. EDGARDO J. J. SAAVEDRA
DECANO
Fac. de CIENCIAS NATURALES

A N E X O – Cpde. R.CAFCN. N° 293/04.-

“Búsqueda de metabolitos con actividad biológica a partir de Productos Naturales”

1. Objetivos

- **Objetivo general:**
Adquirir capacitación teórica y práctica en Obtención, Separación, Purificación e Identificación de principios activos a partir de Productos Naturales y Estructuras relacionadas modificadas químicamente.

- **Objetivos académicos secundarios:**
El alumno se familiarizará con el conocimiento práctico en distintos aspectos:
 - a) Recolección y clasificación del material vegetal (obtención de muestras)
 - b) Preparación y selección de las distintas partes del material a analizar (hojas, tallos o raíces), secado y molienda.
 - c) Obtención de los distintos extractos vegetales.
 - d) Métodos de extracción de metabolitos secundarios vegetales (alcaloides).
 - e) Técnicas de Separación, Purificación e Identificación de metabolitos secundarios.
 - f) Métodos de bioensayos para determinar las potenciales actividades biológicas.
 - g) Metodología de la investigación científica y presentación de resultados.

2. Antecedentes

Es perfectamente conocido que uno de los grandes inconvenientes con los que se enfrenta actualmente la Farmacología molecular es la obtención de nuevos compuestos “líderes” o “cabezas de serie” que permitan atacar distintos tipos de enfermedades crónicas y que no tienen un tratamiento terapéutico satisfactorio[1].

Ante la pregunta de “¿cómo buscar nuevos compuestos líderes?”, existen diferentes estrategias para buscar nuevos compuestos de los llamados “cabeza de serie”, que van desde modificaciones estructurales relativamente simples sobre compuestos probadamente eficaces, pasando por screening sistemáticos y aleatorios, hasta una búsqueda totalmente planeada y racional [2]. En este contexto los Productos Naturales han ocupado un lugar preponderante fundamentalmente debido al poder de “adaptación” de las plantas mediante la producción de metabolitos secundarios capaces de responder ante los mas diversos estímulos externos y sobre todo debido a la tremenda diversidad estructural de estos metabolitos que escapa a la imaginación de cualquier químico sintético. Es interesante recordar que después de una relativa disminución en el interés por este tipo de productos, en la última década hemos presenciado un aumento sistemático en el interés por los productos naturales como proveedores de potenciales nuevos “compuestos líderes”. Este renovado interés se debe fundamentalmente a factores económicos, después de todo en el así llamado “ranking de drogas mas vendidas” entre las 10 mas vendidas al menos la mitad son productos naturales o modificaciones de productos naturales.

Por otro lado el continuo avance de la industrialización y la presencia del hombre sin los cuidados de mantener los ecosistemas hacen que el estudio de productos naturales y sus posibles metabolitos secundarios de nuestra zona patagónica cobre en estos momentos un especial interés.

A N E X O – Cpde. R.CAFCN. N° 293/04.-

Lógicamente esto solo es posible de llevar a cabo si se cuenta con personas capacitadas para este tipo de estudio. El objetivo principal de este plan es el de la formación del candidato en las distintas técnicas que necesita conocer para hacer la búsqueda de potenciales nuevos agentes de interés en Farmacología a partir de productos naturales de la zona.

Estudios recientemente reportados por nuestro grupo de investigación [3-6] han demostrado que las especies estudiadas del género *Berberis* (Berberidaceae) poseen alcaloides del tipo bencilisoquinolínicos, protoberberínicos y bisbencilisoquinolínicos, algunos de los cuales poseen una interesante actividad antibacteriana y especialmente una potente actividad antifúngica. Por otro lado modificaciones químicas que se les realizaron a estas estructuras permitieron determinar su posible mecanismo de acción a nivel molecular [6].

Basándonos en estos antecedentes se propone en este plan un estudio de la especie *Berberis heterophylla* y sus metabolitos secundarios para la búsqueda de potenciales agentes antifúngicos y antibacterianos. Las modificaciones estructurales permitirán una mayor comprensión del problema y la posible determinación del *farmacóforo* en esta serie. Por otro lado los estudios de las actividades biológicas de los extractos también serán de gran utilidad desde el punto de vista etnofarmacológico ya que permitirán corroborar sobre bases científicas de algunas propiedades que se les atribuyen a estas especies de plantas desde la medicina popular.

3.- Materiales y Métodos

3.1 Materiales

Molino SK-1 cross-beater mill
Sonicador Haeberle Labortechnik
Evaporadores rotatorios Hedelpor y Büchi con baños de agua
Estufa de vacío Precision Vacuum Oven
Espectrofotómetro Metrolab 1700
Liofilizador Labconco
Solventes de calidad pro-análisis
Reactivos y material necesario para cromatografía
Lámpara UV Kuehn + Bayer GMBH tipo UVKL-40
Material de vidrio
Micropipetas automáticas.

Todos los reactivos y material de vidrio serán aportados por el Director del Proyecto: Prof. Dra. Mónica Liliana Freile.

Los aparatos requeridos se encuentran en disponibilidad en los Dptos. de Química y Bioquímica.

3.2 Método

- a) Recolección del material vegetal, para cuya identificación se solicitará el apoyo de la cátedra de botánica de la Facultad de Cs. Naturales y se depositará un ejemplar en el Herbario, secado y molienda.
- b) Se efectuará la extracción con distintos solventes orgánicos (Hexano, Metanol) por maceración a temperatura ambiente.
- c) Se realizará la separación y purificación de alcaloides por cromatografía en columna (seca, líquida, flash) y cromatografía en capa fina (analítica y preparativa), utilizando

A N E X O – Cpde. R.CAFCN. N° 293/04.-

- d) Sílica Gel 60 G Merck, Sephadex LH-20 y cromatoplasmas de Sílica Gel 60 con indicador de fluorescencia (F₂₅₄). Todos los solventes utilizados serán previamente purificados por destilación.
- e) La elucidación estructural de las moléculas se efectuara por técnicas espectroscópicas, Resonancia Magnética nuclear de protón (¹H RMN) y de carbono (¹³C RMN) y Espectrometría de masa (EM).
- f) Se realizaran los test biológicos mediante ensayos a célula entera por el método de difusión en agar para determinar las posibles actividades antimicrobianas y/o por el método de dilución en agar para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM).
- g) Análisis y evaluación de los resultados
- h) Actualización bibliográfica constante por internet, mediante www.biblioteca.secyt.gov.ar y otros buscadores.

- 4. **Lugar de trabajo:** Laboratorio de Química Orgánica, Farmacología y Microbiología.
- 5. Dirección: Dra. Mónica L. Freile
Colaboradores: Dr. Eduardo Isidro Sánchez y Dr. Oscar H. Pucci
- 6. Expresión de Resultados y discusión
 - Se realizará un informe utilizando aproximadamente 20 hojas de tamaño A4, espacio intermedio letra Times New Roman tamaño 12
 - Dependiendo de la naturaleza (relevantes y/o originales) de los resultados obtenidos, los mismos podrán ser también presentados en forma de comunicación en el marco de una Reunión Científica de la especialidad.
 - Si los resultados lo ameritan se podrá realizar una publicación científica en una revista de circulación nacional o internacional.

Bibliografía consultada:

- [1] Fattori D. (2004) "Molecular Recognition: The fragment approach in lead generation". Drug Discovery Today Vol 9 N° 5, 229-238
- [2] Wermuth, C.G. (Ed.): The Practice of Medicinal Chemistry. Academic Press, Londres (1996)
- [3] Freile M.L., Giannini F., Pucci G., Sturniolo A., Rodero L., Pucci O., Balzaretto V., Enriz R. D. (2003). "Antimicrobial activity of aqueous extracts and berberine isolated from *Berberis heterophylla*". Fitoterapia, 74, 702-705.
- [4] Karolyhazy L., Freile M. L., Anwar M., Beke G., Giannini F., Castelli M. V., Sortino M., Ribas J. C., Zacchino S., Matyus P. and Enriz R. D. (2003). "Synthesis, *in vitro/ in vivo* Antifungal Evaluation and Structure – Activity Relationship Study of 3(2H) Pyridazinones". Arzneimittel Forschung-Drug Res. 53, N° 10, 738-743
- [5] Freile M.L., Masman M.F., Suvire F.D., Zacchino S.A., Balzaretto V. and Enriz R.D. (2001). "Aromatization within the putative Bio-Medical action mechanism of Berberine and related cationic alkaloids with double iso-quinolinoid skeleton. A theoretical study". J. Mol. Struct. (THEOCHEM) 546, 243-260
- [6] Freile M.L., Tesis Doctoral (2002). "Búsqueda de Nuevos Compuestos Antifúngicos y Citotóxicos. Estudios de Correlación Estructura-Actividad y Mecanismo de Acción".