

Revista de Fitoterapia

REVISTA DE FITOTERAPIA · Volumen 7, N.º 2 · Noviembre 2007

SUMARIO

Editorial	99
Estudio clínico comparativo: gel de árnica frente a gel de ibuprofeno en el tratamiento tópico de la osteoartritis de la mano Reto Widrig, Andy Suter, Reinhard Saller, Jörg Melzer	101-112
Aplicación de las tecnologías ómicas a la Fitoterapia Gudrun Ulrich-Merzenich, Heike Zeitler, Detmar Jobst, Darius Panek, Hans Vetter, Hildebert Wagner	115-129
Posibilidades terapéuticas del bulbo de ajo (<i>Allium sativum</i>) M ^a Concepción Navarro	131-151
Plantas empleadas popularmente en el tratamiento de verrugas José Waizel-Bucay	153-170
Hemeroteca Ester Risco Rodríguez	173-178
Biblioteca	179
Reseña de congresos	181-182
Sociedad Española de Fitoterapia	183
Instrucciones para los autores	185-186

ÓRGANO OFICIAL



SEFIT

SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE FITOTERAPIA



FIGURA 1. *Urtica dioica*. Foto: B. Vanaclocha.

Abstract

The proof of efficacy of phytopreparations and the determination of their mode of action are permanent challenges for an evidence-based phytotherapy. Genomics, proteomics and metabolomics are high-throughput technologies that allow the simultaneous detection of a high number of proteins/genes and have the potential to relate complex mixtures to complex effects in the form of gene/ protein expression profiles. The development of phytopreparation-specific expression profiles will be useful for its chemical and pharmacological standardization and its toxicological assessment. Over a long-term perspective they may economize the studies on efficacy and mode of action of phytomedicines and allow to investigate herbal extracts without prominent active principle(s). The application of genomics revealed already that the gene expression profiles induced by single drugs and their combinations can be entirely different. The application of the “-omic” technologies may lead to a change of paradigms towards the application of complex mixtures in medicine and open the new fields of phyto-genomics, -proteomics and -metabolomics.

Key words

Phytotherapy, phytomedicine, genomics, proteomics, metabolomics, synergy.

Aplicación de las tecnologías ómicas a la Fitoterapia

Gudrun Ulrich-Merzenich ^a

Heike Zeitler ^a

Detmar Jobst ^{a, b}

Darius Panek ^a

Hans Vetter ^a

Hildebert Wagner ^c

^a Universitätsklinikum, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn (Alemania)

^b Heinrich Heine Universität Düsseldorf (Alemania)

^c Institut für Pharmazie, Universität München, Munich (Alemania)

Resumen

La demostración de la eficacia de los preparados fitoterápicos y la determinación de sus mecanismos de acción son retos permanentes para la fitoterapia basada en la evidencia. La genómica, proteómica y metabolómica son tecnologías de alto rendimiento, que permiten detectar simultáneamente un gran número de proteínas/genes, así como relacionar mezclas complejas con efectos complejos en forma de perfiles de expresión génica/proteica. La descripción de perfiles de expresión específicos para un determinado preparado fitoterápico puede ser útil para su estandarización química y farmacológica, así como para la evaluación de su toxicidad. A largo plazo, pueden economizar los estudios de eficacia y de mecanismos de acción, y facilitar la investigación de extractos vegetales carentes de principio(s) activo(s) predominantes. Se ha descubierto que los perfiles de expresión génica inducidos por fármacos individuales o sus combinaciones pueden ser completamente diferentes. La aplicación de las tecnologías “ómicas” puede suponer un cambio de paradigma en cuanto a la aplicación de mezclas complejas en medicina y abrir nuevos campos como la fitogenómica, fitoproteómica y fitometabolómica.

Palabras clave

Fitoterapia, fitomedicina, genómica, proteómica, metabolómica, sinergia.

Introducción

Los recientes avances tecnológicos de la genómica, proteómica y metabolómica han despertado un gran interés y optimismo en el campo de la investigación biológica. La genómica tiene como objetivo ofrecer descripciones globales de la información genética. La proteómica pretende ofrecer descripciones de las proteínas y la metabolómica del análisis cualitativo y cuantitativo de los metabolitos de bajo peso molecular de una célula u organismo y su dinámica en los sistemas biológicos. Estas nuevas plataformas de las tecnologías llamadas “ómicas” permiten el análisis y caracterización de sistemas biológicos hasta límites insospechados (pueden detectarse simultáneamente decenas de miles de genes y proteínas). Esto presenta una complejidad desafiante para el análisis científico y generará nuevas perspectivas para los objetivos de la investigación etnobotánica y fitoterápica. Antes de destacar los cambios previstos en la investigación de las plantas describiremos brevemente las bases técnicas de estas tecnologías “ómicas”.

Genómica y transcriptómica

La definición de genómica no está claramente delimitada. El término fue acuñado por Tom Roderick y originariamente describía el análisis global del genoma. En la actualidad se utiliza comúnmente para referirse al análisis molecular de alto rendimiento y a gran escala de múltiples genes, productos génicos o regiones génicas ⁽¹⁾. La transcriptómica, frecuentemente incluida en el término genómica, describe el nivel de expresión de los genes. Para ambas, las nuevas herramientas son las micromatrices. El término “micromatriz”, frecuentemente llamado “biochip”, indica que un elevado número de moléculas (oligonucleótidos) están dispuestas en un espacio extremadamente reducido, habitualmente una superficie de cristal (hasta 200.000 puntos/cm²) (FIGURA 2). La investigación de las interacciones de los extractos de ARN o de ADN con estos biochips permite un análisis simultáneo de las alteraciones pleiotrópicas a nivel genómico y transcriptómico. A partir de las secuencias diana sobre la superficie de cristal es posible objetivar cientos de genes y determinar simultáneamente los cambios significativos en su ARNm. La identificación de los grupos de genes funcionales (FIGURA 3) con cambios uniformes en sus niveles de expresión permite predecir cambios mayores, por ejemplo, en las rutas metabólicas, lo

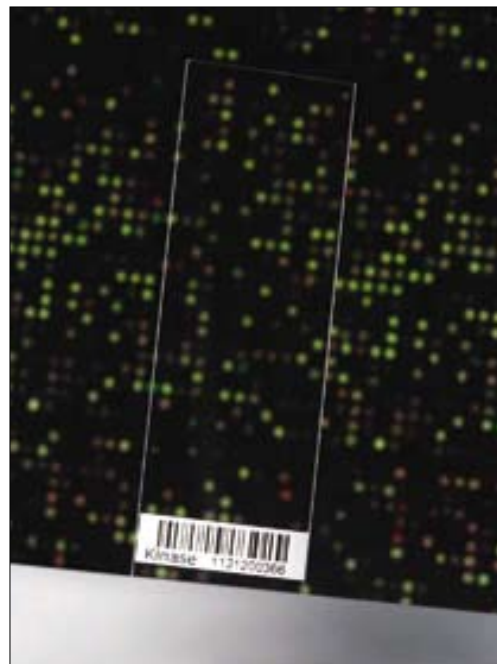


FIGURA 2. Aplicación de sondas de picolitro sobre placas de cristal. La densidad de los puntos es variable (3.000–10.000/cm²), pudiéndose observar hasta 200.000 puntos en una placa de cristal. Los puntos se distribuyen en cuadrículas y supercuadrículas. El código de barras de la parte inferior permite la correcta identificación. Imagen: Miltenyi Biotec.

que nos lleva a la siguiente tecnología “ómica”, la proteómica.

Proteómica

El término proteoma fue propuesto por Wilkins *et al.* ^(2, 3) y describe la totalidad de PROTEÍNAS expresadas por un genOMA. La proteómica es el estudio a gran escala de las proteínas, particularmente de su estructura y funciones. Este término fue acuñado por analogía con la genómica. A pesar de que frecuentemente se presenta como “el siguiente paso”, la proteómica es más compleja que la genómica. El Proyecto Genoma Humano ha revelado que existen menos genes codificadores de proteínas en el genoma humano que proteínas en el proteoma humano (unos 22.000 genes frente a aproximadamente 400.000 proteínas). Esta discrepancia significa que la diversidad de proteínas no puede ser caracterizada por completo únicamente mediante el análisis de la expresión génica, lo que convierte a la proteómica en una herramienta útil para la caracterización de células y tejidos importantes. Las

tecnologías clave empleadas en proteómica son la electroforesis mono y bidimensional sobre gel, para la identificación de la masa relativa de una proteína y su punto isoelectrico ⁽⁴⁾. La cromatografía de afinidad, la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET, *Fluorescence Resonance Energy Transfer*) y la resonancia de plasmón superficial (SPR, *Surface Plasmon Resonance*) se utilizan para identificar las interacciones proteína-proteína o

proteína-ADN. La tomografía por rayos X se emplea para determinar la ubicación de proteínas o complejos proteicos en células marcadas. Además, las proteínas fluorescentes (FP), como la verde (GFP), la amarilla, la cian o la roja, se emplean frecuentemente para estudiar eventos celulares, como la localización de proteínas en membrana y orgánulos celulares. También pueden marcar poblaciones homogéneas de células especializadas, cuyos perfiles de expresión génica deban determinarse mediante el análisis con micromatrices de ADN. De hecho, las FP como GFP se emplean frecuentemente como indicadores transcripcionales y traslacionales directos de las células vivas, relacionando la transcriptómica con la proteómica.

Metabolómica

El análisis metabólico puede dividirse en cuatro apartados (véase también definiciones en TABLA 1):

- Análisis de compuestos diana: cuantificación de determinados metabolitos.
- Perfil metabólico: determinación cuantitativa y cualitativa de un grupo de componentes relacionados o de rutas metabólicas específicas.
- Metabolómica: análisis cualitativo y cuantitativo de la totalidad de metabolitos.
- Identificación metabolómica: clasificación de muestras mediante el análisis global rápido.

Las técnicas empleadas son multidisciplinarias: para el análisis de compuestos diana y el perfil metabólico, las principales técnicas empleadas son la cromatografía de gases, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la resonancia magnética nuclear (RMN). Adicionalmente, la metabolómica emplea diversos métodos analíticos complementarios; y en particular las técnicas “acopladas” como HPLC/UV, HPLC/EM y HPLC/RMN han aumentado su impacto. En la página web del *Forum for Norwich Research Park* se puede encontrar una descripción detallada de cada método ⁽⁵⁾. Estas aproximaciones dependen de las separaciones cromatográficas, que frecuentemente se encuentran unidas a calibraciones bien desarrolladas para análisis específicos. La identificación metabolómica (huella digital metabólica) analiza extractos crudos sin efectuar los pasos previos de separación, mediante RMN, espectrometría de masas (EM) de introducción directa o espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).

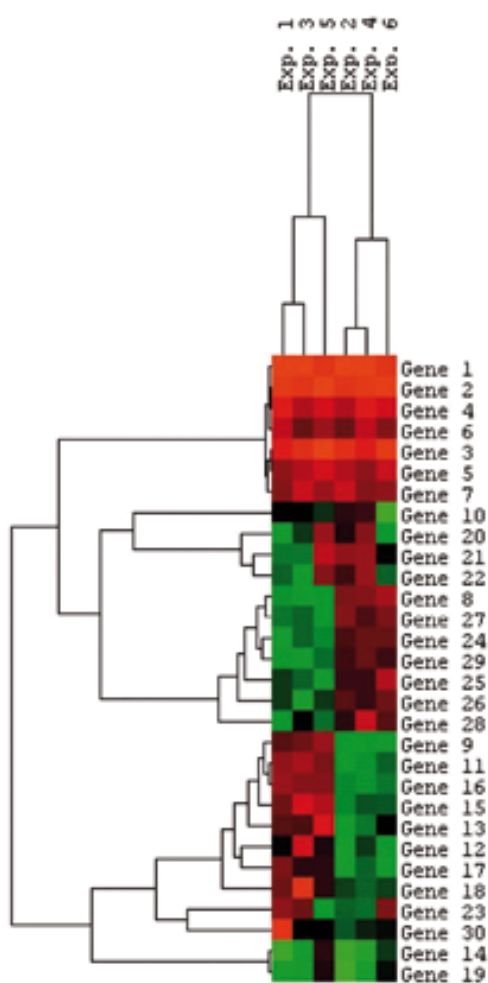


FIGURA 3. Análisis de grupos (*cluster analysis*) de genes relevantes, según la similitud que presentan sus perfiles de expresión. Los genes están ordenados en un árbol jerárquico. El análisis de la figura muestra la correlación entre los grupos de genes y los experimentos. Los genes o experimentos próximos en el árbol son similares, mientras que los distantes difieren unos de otros. Por ejemplo, el gen 9 es inducido en los experimentos 1, 3 y 5, y reprimido en los experimentos 2, 4 y 6. Es el más similar al gen 11.

Rojo: inducción. Verde: represión. Negro: indiferente. Imagen: Miltenyi Biotec.

Perfil metabólico: Determinación de metabolitos de un organismo, sin necesidad de realizar un análisis completo. Generalmente se trata del análisis de determinados grupos, como por ejemplo los lípidos o los ácidos orgánicos. Algunas veces se usa como sinónimo de metabolómica.

Metaboloma: Conjunto de la totalidad de pequeñas moléculas formadas por una célula, tejido u organismo en determinadas condiciones, con consideración de su concentración.

Metabolómica: Determinación cuantitativa y completa del metaboloma. Término acuñado en la investigación sobre plantas.

Metabonómica: Valoración de la reacción metabólica frente a una medicación, enfermedad o efecto ambiental. Término acuñado en el campo de la medicina y la farmacología. Habitualmente es sustituido por el término metabolómica.

TABLA 1. Definiciones de análisis metabólico, metaboloma, metabolómica y metabonómica.

Biología de sistemas

La información combinada de la genómica, proteómica y metabolómica nos ayudará a obtener un conocimiento integrado de una célula u organismo. Sin embargo, estas nuevas plataformas analíticas son tecnologías de alto rendimiento, que aumentan considerablemente el rango dinámico y el número de metabolitos y genes detectables ⁽⁶⁻⁸⁾. Este hecho ha generado una necesidad creciente de herramientas informáticas para transformar la información paralela en datos biológicos y en conocimiento ⁽⁹⁾. Una de las consecuencias del desarrollo de herramientas informáticas ha sido el avance de la biología de sistemas. Actualmente, en la biología de sistemas, los datos de la metabolómica se organizan con la finalidad de crear modelos informáticos que simulen sistemas biológicos. Debido a que el análisis de control metabólico y la genómica funcional comparten el mismo programa ⁽⁸⁾, se prevé que a largo plazo la biología de sistemas será capaz de predecir tanto las activaciones genómicas como los flujos de metabolitos en sistemas complejos. Su aplicación combinada ya se considera fundamental para la fenotipificación de una célula o una planta y con potencial para revolucionar la investigación de productos naturales y hacer avanzar el desarrollo de una fitoterapia con una base científica ⁽⁹⁻¹¹⁾. Por ejemplo, es probable que estas tecnologías cambien y dinamicen el estudio toxicológico de las

plantas y fármacos. Además, se espera que la integración de estos datos en los sistemas biológicos permita el estudio y la comprensión de los sistemas vivos desde una perspectiva holística y que se convierta en una herramienta adecuada para analizar los complejos sistemas tradicionales de medicina (STM).

Aproximaciones terapéuticas: “la escopeta vegetal frente a la bala de plata”

Durante décadas, la investigación fitoquímica y etnofarmacológica se ha centrado en la búsqueda de “principios activos” de las plantas, basándose en la presunción de que la planta contiene uno o unos pocos ingredientes responsables de su efecto terapéutico. Sin embargo, tanto la fitoterapia europea, como los STM, como la medicina tradicional china o la ayurvédica, asumen que la sinergia tiene una importancia vital en la aplicación fitoterapéutica ⁽¹²⁾. La situación es aún más complicada, dado que los fitoterapeutas utilizan preparados y mezclas que no necesariamente van dirigidos a un órgano, un tejido o un sistema biológico concreto ⁽¹²⁾. Esta forma de aplicación ha sido descrita como “escopeta vegetal”, por oposición al método del remedio específico o “bala de plata” de la medicina convencional ⁽¹²⁻¹³⁾, para distinguir el enfoque multi-diana de los preparados fitoterápicos del enfoque mono-diana de los medicamentos sintéticos dirigidos a actuar sobre una enzima o receptor específico.

Este enfoque “escopeta” ha representado la mayor complicación para la fitoterapia, según opinión de MacKenzie ⁽¹⁴⁾ y Williamson ⁽¹²⁾: “Para poder comercializar preparados fitoterápicos completamente respaldados por registros, se deberían realizar ensayos clínicos con los ingredientes activos, juntos y por separado. Esto resultaría económicamente prohibitivo si lo comparamos con la realización de pruebas con una única bala mágica” y “sin el respaldo de la industria farmacéutica, las plantas medicinales están condenadas a permanecer sumidas en el anonimato. Menudo desperdicio”.

En los últimos años el enfoque “escopeta”, entendido como una estrategia terapéutica dirigida hacia múltiples dianas en el organismo, ha ganado una creciente aceptación. En la actualidad asistimos a un cambio de paradigma, causado por la creciente evidencia de la naturaleza multifactorial de las enfermedades ⁽¹⁵⁾. Cada vez existen más indicios que demuestran que los efectos secundarios de una terapia combinada no son necesariamente aditivos,

sino que pueden resultar incluso menores que los efectos causados por una terapia única y conseguir además una mayor eficacia terapéutica. Las terapias combinadas bien establecidas son, por ejemplo la quimioterapia contra el cáncer o los tratamientos para el VIH y la hipertensión. Recientemente, se ha demostrado que la combinación de metotrexato (MTX) y antagonistas del TNF- α en el tratamiento de la artritis reumatoide resulta más eficaz que los tratamientos con dichos fármacos por separado ⁽¹⁶⁾, y provoca igual o menos efectos secundarios. Recientemente hemos demostrado que la aplicación de una estrategia terapéutica multimodal puede curar satisfactoriamente la hemofilia adquirida de origen autoinmune ⁽¹⁷⁾. En el contexto de la biología de sistemas, Kell ⁽⁶⁾ demostró en un análisis modelo cómo el hecho de centrarse en una fase específica en la ruta de señalización del factor de transcripción NF κ B puede tener efectos cualitativamente (diferencialmente) diferentes, dependiendo estado del sistema. Para algunos valores de las dos constantes de velocidad de la reacción no existió ninguna influencia sobre la ruta de señalización. Otro tipo de combinaciones podrían producir efectos completamente opuestos. Este tipo de no linealidad sistémica de los sistemas biológicos hace que el diseño de medicamentos seguros suponga un reto y además puede explicar la aparición de efectos sinérgicos imprevistos, que se suelen observar cuando diferentes rutas metabólicas o dianas farmacológicas se ven afectadas al mismo tiempo, tanto en la teoría ⁽¹⁸⁻²¹⁾ como en la práctica ⁽²²⁻²⁴⁾. Kell ⁽⁶⁾ y Verpoorte ⁽¹⁰⁾ prevén incluso que estos resultados de la biología de sistemas llevarán a una sustitución del enfoque centrado en el compuesto único o diana única, por los enfoques multi-diana.

No obstante, aunque los enfoques de tratamiento multi-diana cuenten generalmente con mayor aceptación, sigue siendo necesario demostrar la eficacia de los fitofármacos, aportar las evidencias que avalan esta eficacia y demostrar la reproducibilidad mediante la estandarización. La estandarización de los extractos de origen vegetal salvaguarda la calidad farmacéutica y es un requisito indispensable para garantizar la reproducibilidad de los efectos lote a lote ⁽²⁵⁾. Pero los preparados vegetales son productos de origen biológico y, por lo tanto, existe variabilidad en su composición química. Dependiendo de la zona geográfica o la época de recolección, la eficacia y toxicidad de los extractos pueden ser distintas. A pesar de la existencia de esta especie

de estado químico algo “indefinido”, los productos fitoquímicos se han utilizado como agentes terapéuticos, basándose en la caracterización química de constituyentes individuales, los cuales, hasta el momento, se han considerado determinantes del mecanismo de acción ⁽²⁵⁾. Además, la ley alemana sobre medicamentos (AMG § 26, párrafo 2) y la ley europea ⁽²⁶⁾ permiten, en ciertas circunstancias y conforme a las directrices de la OMS, la utilización de información escrita histórica, siempre que haya sido generada por métodos científicos, como fuente científica válida para la demostración de eficacia. Estas regulaciones contemplan que muchas plantas tienen una tradición secular en sus países de origen. Sin embargo, para cumplir con los requerimientos de eficacia, calidad y seguridad de las regulaciones europeas, es obligatorio aplicar algunas medidas de estandarización (TABLA 2). Una revisión detallada fue publicada por Wagner ⁽¹⁵⁾. La estandarización incluye una correcta identificación taxonómica de la(s) planta(s), así como del (de los) principio(s) activo(s) más importantes de éstas, de los extractos o de las mezclas de extractos. Tras la identificación de los principios activos se lleva a cabo un proceso de purificación y concentración. Los efectos “no deseados” de los ingredientes vegetales acompañantes se eliminan y se aumenta el efecto mediante la concentración de los componen-

1. Identificación definitiva y asignación taxonómica p.ej. a través de identificación genética (huellas digitales de ADN) + código de barras de ADN.
2. Aislamiento y elucidación estructural de los componentes mayoritarios de la droga vegetal.
3. Identificación de los auténticos componentes bioactivos.
4. Mezclas de extractos: normalización de los extractos individuales o análisis del perfil cromatográfico por 3D HPLC de las preparados a base de mezclas de extractos.
5. Armonización mundial de los criterios de normalización bajo la cobertura de la Federación Internacional de la Industria del Medicamento (IFPMA, International Federation of Pharmaceutical Manufacturers Associations).

TABLA 2. Garantía de calidad de preparados fitoterápicos.

tes aislados. En el desarrollo de medicamentos, este proceso puede ser seguido por la síntesis química del principio activo individual identificado. Los principios activos químicamente definidos aislados o sus derivados sintéticos generalmente ya no se consideran fitofármacos ⁽²⁵⁾. Como ejemplos de compuestos utilizados en terapéutica aislados recientemente, mencionaremos únicamente el taxol, la camptotecina y la artemisinina.

Actividad farmacológica polivalente y sinergia

Muchos de los medicamentos a base de plantas que encontramos actualmente en el mercado farmacéutico son extractos crudos y, por lo tanto, mezclas complejas de compuestos. Minuciosos experimentos farmacológicos realizados con compuestos individuales aislados, frente al extracto original o fracciones del extracto, han confirmado que muchos componentes vegetales, entre ellos principalmente compuestos fenólicos y terpenoides, ejercen efectos farmacológicos polivalentes ⁽¹⁵⁾. Esto puede explicar algunos de los efectos farmacológicos sinérgicos, así como un fenómeno que se observa frecuentemente, consistente en que un extracto posee mayor efecto terapéutico que sus componentes individuales aislados.

La TABLA 3 ofrece algunos ejemplos de actividad farmacológica polivalente y de efectos sinérgicos comprobados. El espinol blanco (*Crataegus oxyacantha*), por ejemplo, está indicado para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca de grado I y II (NYHA II). Se ha comprobado que posee una actividad inotrópica positiva y una actividad inhibidora de la ECA y dilatadora vascular en el tratamiento de la angina de pecho. El ajo y alicia, componentes activos del ajo (*Allium sativum*), poseen una actividad hipocolesterolemizante e hipolipidémica, actuando como antioxidantes e inhibiendo la formación de óxido nítrico, además de poseer una acción antihipertensiva. También se ha demostrado que el ajo induce la apoptosis de células leucémicas humanas, probablemente a través de la inducción de especies reactivas del oxígeno. Sin embargo, la relevancia clínica de este hallazgo todavía no se ha investigado ^(15, 27, 28). Estos ejemplos demuestran que los compuestos activos de una planta pueden actuar a través de distintos mecanismos de acción y pueden tener relevancia en el tratamiento de enfermedades totalmente dispares. La eficacia bien documentada de la raíz de *Urtica dioica* para el tratamiento de la hiperplasia benigna de próstata está

basada, probablemente, en una sinergia de efectos antiproliferativos y antiinflamatorios causados por lectinas y polisacáridos. Curiosamente, las hojas de *U. dioica* también poseen efectos antiinflamatorios debido a su contenido en oxilipinas (ácido 13-hidroxi-octadecatrienoico) y derivados del ácido cafeico. Estas hojas se utilizan en el tratamiento de la artritis ^(29, 30). Otro ejemplo clásico es el extracto etanólico de sauce 1520L[®], que inhibe la liberación de prostaglandina E2 mediada por la ciclooxigenasa-2, a través de compuestos diferentes a la salicina o el salicilato ⁽³¹⁾. En el caso de *Harpagophytum procumbens*, se necesitan concentraciones mucho mayores del "principio activo" harpagósido para provocar la regulación a la baja de la expresión de iNOS en células mesangiales de rata, de las que se encuentran en una concentración eficaz del extracto total ⁽³²⁾. Además, un fraccionamiento biodirigido del extracto reveló una distribución amplia de las actividades de la droga vegetal deseadas, sin una separación clara entre fracciones polares y no polares ⁽³³⁾. Otro ejemplo clásico es el hipérico (*Hypericum perforatum*), en el que no se ha encontrado ningún compuesto activo que pueda explicar por sí solo su actividad clínica, ampliamente comprobada ^(10, 34).

En estos casos, es posible que se favorezca la aplicación del extracto vegetal purificado antes que "el (los) principio(s) activo(s) aislado(s)", con el fin de beneficiarse de las múltiples acciones farmacológicas y efectos terapéuticos relacionados con la particular composición global de la droga vegetal. Las pruebas clínicas y experimentales realizadas sobre la sinergia están recogidas en la reseña de Williamson ⁽¹²⁾ e incluyen las plantas *Ginkgo biloba*, *Piper methysticum*, *Glycyrrhiza glabra* y *Cannabis sativa*, flavonoides, aceites esenciales y formulaciones a base de mezclas de plantas, como la india "Trikatu" o la combinación de *Urtica dioica* y *Pygeum africanum*.

La presencia de efectos sinérgicos tiene consecuencias en la determinación de los principios activos de los extractos vegetales, tal y como muestra la TABLA 2. Williamson ⁽¹²⁾ ha resumido este dilema en la siguiente sentencia: "Si se necesita una combinación de sustancias para producir el efecto, entonces el método de investigación basado en el bioensayo, que restringe la actividad en primer lugar a una fracción y finalmente a un compuesto, está condenado al fracaso y ha dado pie a sugerir que, realmente, las plantas están desprovistas de actividad".

Planta / Droga o preparado	Principales constituyentes	Efectos/Indicaciones
<i>Allium sativum</i> ^(27, 28, 35) Bulbo	Alicina + ajoeno	Inhibición de la expresión de la óxido nítrico sintasa inducible en macrófagos activados, inhibición de la agregación plaquetaria, antiinflamatorio, hipolipemiante (triglicéridos y colesterol), antioxidante, antimicrobiano.
	Ajoeno	Inducción de apoptosis en células leucémicas humanas, producción intracelular de peróxidos.
<i>Cannabis sativa</i> ⁽³⁶⁻³⁸⁾ Inflorescencia	Tetrahidrocannabinol Cannabidiol	Relajante muscular, estimulante del apetito, analgésico. Aumento del efecto espasmolítico.
<i>Crataegus oxyacantha</i> ^(35, 39) Hoja y flor, fruto	Proantocianidinas, C-heterósidos flavónicos	Actividad cardiotónica, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, dependiente de la endotelina, relajante de la musculatura lisa.
<i>Ginkgo biloba</i> ^(15, 40) Hoja	Ginggólidos A+B	Sinergia en ensayos de inhibición de la agregación plaquetaria.
<i>Glycyrrhiza glabra</i> ⁽⁴¹⁻⁴³⁾ Raíz	Glicirricina / isoliquiritina	Antitusivo, antiinflamatorio/aumenta la actividad de la hidrocortisona.
<i>Harpagophytum procumbens</i> ; <i>H. zeyheri</i> ^(15, 44) Raíz	Harpagósido + componentes del extracto total	Inhibición de la biosíntesis de leucotrienos y tromboxano muy superior a la del harpagósido solo.
<i>Hypericum perforatum</i> ^(45, 46) Sumidad	Hipericinas, hiperforina, xantonas, flavonoides, proantocianidinas	Efecto antidepressivo, no atribuible a un solo principio activo.
<i>Piper methysticum</i> ^(47, 48) Rizoma	Yangonina, desmetoxi-yangonina, dihidrometisticina	Ansiolítico, sedante, anticonvulsivante, espasmolítico, antiinflamatorio, analgésico.
<i>Salix</i> sp. ^(31, 49, 50) Corteza	Salicina + derivados alcohol salicílico, flavonoides, taninos	Efectos antiinflamatorio y analgésico superiores a salicina sola.
<i>Urtica dioica</i> L. (root) ^(15, 28, 51) Raíz	Aglutinina de la <i>Urtica dioica</i> (UDA) + Polisacáridos	Inhibición competitiva de la proliferación inducida de EGF. Inmunoestimulación.
<i>Urtica dioica</i> L. ⁽⁵¹⁾ Hoja	Oxilipina (ácido 13-hidroxiocetadecatrienoico), derivados del ácido cafeico	Inhibición de ciclooxigenasa y citoquinas para el tratamiento de la artritis y artritis reumatoide.
<i>Valeriana officinalis</i> ⁽⁵²⁾ Raíz	Valtrato, isovaltrato, valerenona, ácido valerénico	Efecto sedante, aumento concentración de GABA.
<i>Viscum album</i> ^(53, 54) Sumidad	Lectina de muérdago I	Inducción de apoptosis en células cancerosas. Actividad inmunoestimulante.
<i>Zingiber officinale</i> ^(15, 55) Aceite esencial	α -Zingibereno, β -sesquifelandreno, bisaboleno, curcumeno	La actividad de los preparados totales de jengibre difieren de la de los componentes aislados. Antipirético, analgésico, inotropo, sedante, antibiótico, otros.

TABLA 3. Medicamentos fitoterápicos con actividad sinérgica o polivalente probada.

Evidencias a partir de la tecnología “transcriptómica”

La aplicación de la tecnología transcriptómica, ¿puede respaldar la identificación de la sinergia y de las actividades farmacológicas polivalentes?

Recientemente se emplearon micromatrices para la investigación de la terapia combinada de MTX y mercaptopurina. Se demostró que la terapia combinada con ambos compuestos en el tratamiento de las células leucémicas humanas causa un perfil de expresión génica diferente del que obtenemos con una aplicación aislada de cada fármaco. Únicamente un 14% de los genes afectados al administrar estas medicaciones individualmente, lo hicieron de igual manera cuando se administraron en forma combinada. Por tanto, el 86% de los genes que habían sufrido previamente una regulación al alza no respondieron. Los genes discriminantes que se vieron afectados cuando se administraron estas medicaciones de manera simultánea incluían a aquellos genes relacionados con la apoptosis, la reparación de emparejamientos erróneos, el control del ciclo celular y la respuesta al estrés ⁽⁵⁶⁾.

Estos resultados demuestran que gracias al análisis complejo de la expresión de los genes mediante micromatrices se pueden detectar diferencias entre las respuestas celulares a las combinaciones de fármacos y las provocadas por los agentes aplicados individualmente ⁽⁵⁶⁾. Los hallazgos también demuestran que los fármacos combinados pueden provocar la activación de genes totalmente diferentes de aquellos genes activados por los agentes individualmente. Por tanto, el mecanismo de acción de la combinación es, según la expresión génica, totalmente diferente del mecanismo de acción de los agentes por separado. Aunque puede ser cuestionable si los genes discriminantes en los tratamientos son o no los mismos que los responsables de la acción principal del agente individual, los autores concluyen que este método es muy adecuado para llevar a cabo la discriminación de diferentes tratamientos ⁽⁵⁶⁾. Asimismo, Schulte *et al.* ⁽⁵⁷⁾ demostraron que el tratamiento combinado de las células de neuroblastoma con cisplatino e hipertermia provocaban una regulación al alza de 131 nuevos genes que no se expresaron mediante el tratamiento con cisplatino o hipertermia por separado. Este hecho confirma que, supuestamente, los enfoques de tratamiento multimodal pueden producir efectos distintos en el nivel de expresión génica.

El papel del “principio activo”

Según los resultados mencionados anteriormente, deberíamos cuestionarnos si tiene sentido centrarse en un único mecanismo de acción de una planta o extracto vegetal mediante la búsqueda y el aislamiento del (de los) principio(s) activo(s) o si, por el contrario, tendría más sentido discriminar extractos vegetales purificados por sus mecanismos de acción complejos directamente en una micromatriz. Si una combinación de componentes produce un nuevo mecanismo de acción, realizar ensayos clínicos por separado en componentes activos únicos resultaría superfluo. Esto aceleraría y economizaría tremendamente la investigación en fitoterapia, tanto en tiempo como en trabajo. El desarrollo de las expresiones génicas diferenciales para extractos permitiría realizar un *screening* rápido y al mismo tiempo generaría el potencial suficiente para cubrir los efectos sinérgicos de los extractos vegetales. Sin embargo, el desarrollo de estos perfiles de expresión génica mediante la tecnología de micromatrices resulta muy costosa en la actualidad: cada análisis mediante micromatrices puede costar unos 1.200 €.

El método utilizado actualmente para comprobar la sinergia es el método isobólico, (véase la revisión de Williamson ⁽¹²⁾). Este método es independiente del mecanismo de acción y cuantifica el efecto final. La sinergia ocurre si la curva dosis-respuesta demuestra que la consecución de un efecto determinado requiere menor dosificación de dos sustancias administradas conjuntamente de lo que se esperaba de sus curvas dosis-respuesta individuales. La FIGURA 4 muestra un ejemplo de esta curva dosis-respuesta para los ginkgólidos A y B en relación con su actividad en un ensayo de inhibición de la agregación plaquetaria. El método muestra, además, la presencia de “aditividad” o “superaditividad” (potenciación) en relación con el efecto cuantificado. Los resultados obtenidos con las micromatrices por Cheok *et al.* ⁽⁵⁶⁾ dan a la sinergia una nueva dimensión. Estos científicos demuestran que la combinación de dos componentes ocasiona un nuevo mecanismo de acción, que además genera probablemente nuevos efectos.

La necesidad de investigar los efectos sinérgicos en fitoterapia se puede observar gracias a siguientes cifras: la bioprospección de masas realizada por el instituto oncológico nacional de los Estados Unidos sometió a *screening* alrededor de 114.000

extractos, provenientes de unas 35.000 muestras vegetales, frente a varios sistemas tumorales ⁽⁵⁸⁾. Se aisló y se tipificó una amplia variedad de compuestos con diferentes estructuras ⁽⁵⁹⁾. Los agentes quimioterápicos anticancerosos clínicamente más significativos que surgieron de este proyecto incluían, por ejemplo, el paclitaxel (Taxol®), el topotecan (Hycamtin®) y el irinotecán (CPT-11) ⁽⁶⁰⁾. Estos dos últimos compuestos son derivados semisintéticos de la camptotecina de *Camptotheca acuminata*

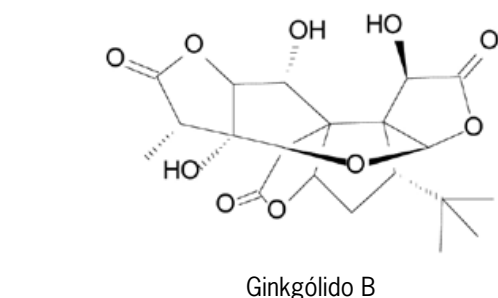
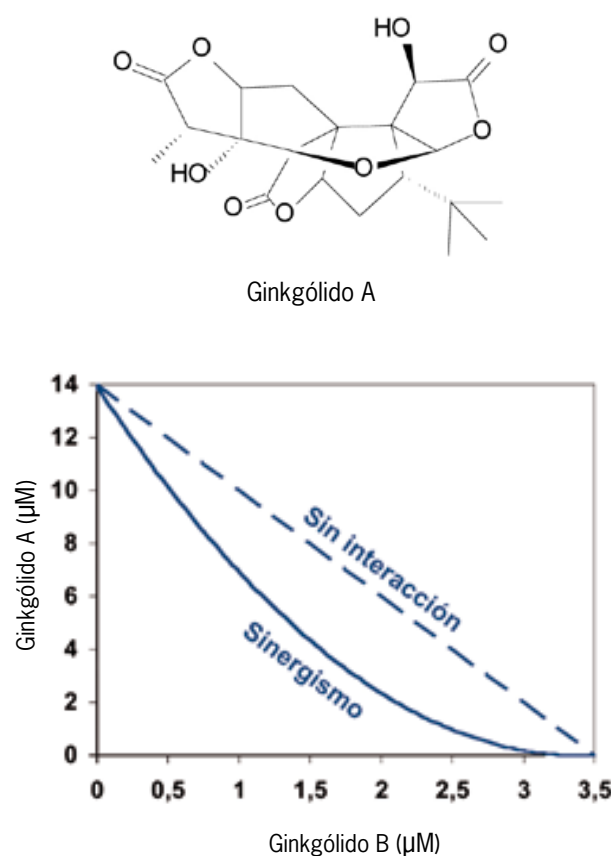


FIGURA 4. Curva isobólica para el 50% de inhibición (IC₅₀) de una combinación de ginkgólidos A y B.

Decne, (Nyssaceae) ⁽⁵⁹⁾. El rendimiento de estos enormes proyectos de *screening* para la identificación de los compuestos únicos bioactivos no pasa de ser moderado. Tener en cuenta posibles efectos sinérgicos elevaría el rendimiento.

Aplicaciones recientes de las micromatrices de ADN y de la metabolómica a la fitoterapia

Hasta el momento, la tecnología de micromatrices no ha sido muy empleada en fitoterapia y en la actualidad se encuentra en una fase "demostrativa preliminar". Wang *et al.* ⁽⁶¹⁾ examinaron los efectos de preparados de heterósidos vegetales en la capacidad de memoria para aprendizaje espacial en ratones con isquemia cerebral / reperusión. Los preparados fitoterápicos provenían de raíces de *Scutellaria baicalensis* y *Dioscorea* spp. y contenían baicaleína (5,6,7-trihidroxi-flavona) y dioscina (proporción 1:1). Mediante un sistema de micromatrices de ADNc, que contenía 1.176 genes conocidos, los autores mostraron la existencia de un efecto reproducible, dosis-dependiente, de estos preparados y señalaron la utilidad de esta metodología para interpretar el mecanismo de los efectos farmacológicos de los preparados fitoterápicos.

Un informe reciente describe el análisis de dos extractos de soja. Se compararon los perfiles de expresión génica de los extractos con los de los fitoestrógenos aislados. Los perfiles de los extractos se correlacionaban con los de los fitoestrógenos, pero daban valores R algo diferentes para cada fitoestrógeno. Curiosamente, los perfiles de expresión génica inducidos por daidzeína 10 μM se correlacionaban con los de los extractos totales (valores R: 0,73 y 0,75), pero las concentraciones calculadas de daidzeína en los extractos eran mucho más bajas, aproximadamente de 1/100 de 10 μM ⁽⁶²⁾.

Mur *et al.* ⁽⁶³⁾ investigaron la interacción de los componentes de las plantas. Se ha apuntado que el ácido salicílico actúa como antagonista en la biosíntesis del ácido jasmónico y en la señalización en las plantas. El análisis mediante micromatrices demostró que la combinación de ambos actuaba temporalmente de manera sinérgica en algunas expresiones génicas (defensina y tionina, beta-glucuronidasa) en las plantas de tabaco, cuando ambas se aplicaban en concentraciones bajas, pero se observó un antagonismo en tratamientos de larga duración o con concentraciones mayores. Los autores concluyeron que parece existir una mayor sofisticación en las

interacciones que el “simple” antagonismo o sinergismo ⁽⁶³⁾; es posible que los mecanismos sinérgicos/antagonistas representen mecanismos de retroalimentación positivos y negativos de la misma combinación molecular, permitiendo la adaptación de la respuesta de la planta a cada situación particular.

Los primeros estudios clínicos sobre la aplicación de la estrategia metabónica, mediante el empleo de ¹H RMN de alta resolución, en conjunción con métodos quimiométricos, mostró que se puede obtener una clara diferenciación de los perfiles de metabolitos antes y después de la ingestión de infusión de manzanilla, aunque se observaron fuertes variaciones fisiológicas extrínsecas entre los individuos participantes. Alrededor de 14 voluntarios habían ingerido infusiones de manzanilla durante un periodo de dos semanas. Se realizaron análisis de orina antes, durante y después de la ingestión de manzanilla. El estudio mostró que la ingestión de infusión de manzanilla aumentaba la excreción urinaria de hipurato y glicina y disminuía la concentración de creatinina. El estudio destaca el potencial de la tecnología metabónica en la evaluación de “pequeñas” intervenciones, a pesar de la existencia de un alto grado de variación de origen genético y ambiental ⁽⁶⁴⁾. Las variaciones en la dieta o el entorno local pueden suponer factores importantes de sesgo cuando se estudian las respuestas metabólicas nutricionales o de intervenciones menores. Para obtener información biológica relevante de los datos sesgados por tales variaciones fisiológicas ajenas y diversas, se pueden emplear técnicas de filtración de datos. Una de las más frecuentemente utilizadas es la corrección ortogonal de la señal (OSC), la cual fue aplicada en el anterior estudio.

En el campo de la toxicología molecular, las matrices de genes de alta calidad disponibles comercialmente ya han permitido que esta tecnología se convierta en una herramienta estándar ⁽⁶⁵⁾. Diversas iniciativas a nivel nacional e internacional proporcionaron las pruebas demostrativas preliminares en la aplicación de la expresión génica para el estudio de la toxicidad de compuestos químicos, tanto nuevos como ya existentes ⁽⁶⁵⁾. En Estados Unidos, el instituto nacional de ciencias ambientales de la salud ha creado el centro nacional de toxicogenómica para establecer un sistema de referencia de datos genómicos de la expresión génica y para crear una base de conocimientos sobre los efectos químicos en los sistemas biológicos ^(65, 66). Los estudios realizados

en este campo indicaron que es posible identificar una pauta de patrones genéticos expresados tras la exposición a un determinado tóxico ^(65, 66).

Estos informes resultan alentadores para la aplicación de micromatrices en la investigación fitoterápica y probablemente cambiarán o facilitarán el entendimiento de sinergia. Sin embargo, la estandarización de los extractos de origen vegetal resulta crucial y se puede simplificar mediante el uso de los ingredientes vegetales que muestran el máximo solapamiento en su expresión génica con el extracto purificado, tal y como muestra el ejemplo del extracto de soja y la daizeína ⁽⁶²⁾.

Además, Verpoorte ha emitido una hipótesis según la cual, mediante la cuantificación de la actividad sobre un organismo vivo de extractos con composiciones diferentes, se puede identificar un compuesto o una combinación de compuestos que se correlacionan con la actividad. Esto quiere decir que es posible reconocer la actividad que resulta del sinergismo, así como la actividad producida por los profármacos ⁽¹⁰⁾.

Especialidades farmacéuticas en la era de las “tecnologías ómicas”

Las llamadas “especialidades farmacéuticas” prescritas en los sistemas de medicina europeo, chino e indio se han venido utilizando desde hace años en Occidente como base para el desarrollo de nuevos medicamentos. El potencial de las fórmulas con combinaciones fijas que se utilizan sobre todo en los STM no se han podido aprovechar hasta el momento. Su aplicación se suele describir con pautas temporales precisas y antidotos. Por ejemplo, la medicina ayurvédica describe que el “efecto secundario” de las preparaciones de *Semicarpus anacardium* se contrarresta con fruto de coriandro ⁽⁶⁷⁾. Además, las dosis durante la estación estival se deben reducir y deben ser incrementadas en caso necesario durante el invierno. Estos peculiares conocimientos no se pudieron investigar hasta el momento. Las “tecnologías ómicas” son herramientas que, aunque resultan costosas y laboriosas, es probable que proporcionen una base para la investigación de estos fenómenos complejos y posteriormente corroborar o descartar estas observaciones.

Algunas formulaciones de medicamentos de los STM han despertado un gran interés recientemente, como es el caso de la formulación ayurvédica

“Trikatu” o la medicina china “lijen”. En la TABLA 4 se ofrecen más detalles y ejemplos adicionales. Más de la mitad de estas preparaciones fitoterápicas fueron ensayadas frente a fármacos de síntesis en estudios clínicos a doble ciego, controlados con placebo.

El hecho de que estos medicamentos hayan mostrado como mínimo una equivalencia terapéutica, en muchos casos con menos efectos secundarios o incluso con ausencia de ellos (resultados que no eran necesariamente esperables) es otro indicador (de la probabilidad) de los efectos sinérgicos de los medicamentos fitoterápicos.

Patwardhan ⁽¹¹⁾ y Patwardhan *et al.* ⁽⁶⁸⁾ examinaron citas y datos sobre patentes en la medicina india y china. La búsqueda mediante PubMed generó 1.045 citas sobre medicina india y 10.278 sobre medicina

china. Hasta ahora, se han concedido tres patentes estadounidenses para medicinas ayurvédicas y 195 para medicinas chinas ⁽⁶⁸⁾. Estas cifras muestran el interés creciente por las combinaciones fijas, pero también el dilema ya mencionado sobre patentar mezclas complejas como impulso para hacer avanzar a la fitoterapia. Para patentar, la novedad y la innovación son fundamentales ⁽¹⁰⁾. La posibilidad de demostrar la obtención de calidades singulares para los medicamentos a base de plantas y la racionalización de los efectos terapéuticos de mezclas complejas (ya sea de fármacos individuales o de productos complejos) puede tener consecuencias sobre la legislación y las patentes. Un perfil de expresión génica de un extracto representa la información de un mecanismo de acción único, suponiendo que los perfiles genéticos sean reproducibles. Los

Indicación	Composición preparado
Psoriasis	<i>Argemone mexicana</i> (solicitud de patente en Estados Unidos)
Artritis	<i>Boswellia serrata</i> , <i>Curcuma longa</i> , <i>Withania somnifera</i> , <i>Zingiber officinale</i> (Artrex®, patente estadounidense) <i>Fraxinus excelsior</i> , <i>Populus tremula</i> , <i>Solidago virgaurea</i> (Phytodol®)
Colitis ulcerosa	<i>Boswellia serrata</i> (Preparado ayurvédico H-15 caps)
Trastornos gástricos e intestinales	<i>Piper longum</i> , <i>Zingiber officinale</i> (Trikatu) <i>Iberis amara</i> , <i>Angelica archangelica</i> , <i>Matricaria recutita</i> , <i>Carum carvi</i> , <i>Silybum marianum</i> , <i>Melissa officinalis</i> , <i>Mentha x piperita</i> , <i>Chelidonium majus</i> , <i>Glycyrrhiza glabra</i> (Iberogast®)
Hiperlipidemia, aterosclerosis	<i>Commiphora wightii</i> (Guglip®, Cipla Ltd)
Antiinflamatorio no esteroideo	Gomo-resina de <i>Boswellia serrata</i> (Sallaki® Gufic)
Carcinomas broncopulmonares no microcíticos	<i>Coix lachryma-jobi</i> (estudio en fase II)
Tónico general	<i>Astragalus membranaceus</i> (Xue baoPG2)
Prevención y tratamiento de los accidentes vasculares	<i>Salvia miltiorrhiza</i> , <i>Paeonia rubra</i> , <i>Angelica pubescens</i> , <i>Stephania tetrandia</i> , <i>Ramulus Uncariae c. uncinis</i> , <i>Gastrodia elata</i> , <i>Panax ginseng</i>
Medicamentos anticáncer	<i>Camptotheca acuminata</i> , Topotecan (CPT11)
Deterioro cognitivo	<i>Panax ginseng</i> , <i>Ginkgo biloba</i> (extracto de ginseng GK-501 + extracto de ginkgo GK-511)
Insomnio	<i>Piper methysticum</i> , <i>Valeriana officinalis</i> (extracto de kava LI-150 + extracto de valeriana LI-15).

TABLA 4. Medicamentos de los sistemas de medicina tradicional de Asia, China y Europa investigados de manera exhaustiva. ^(11, 12, 15, 68, 69)

perfiles de expresión génica pueden variar dependiendo de la persona, la edad o la dosis. Los resultados de Cheok *et al.* ⁽⁵⁶⁾ y Wang *et al.* ⁽⁶⁴⁾ son, sin embargo, prometedores. Cheok *et al.* ⁽⁵⁶⁾ descubrieron perfiles de expresión génica específicos para cada tratamiento en células leucémicas de 60 individuos para MTX y/o mercaptopurina, mientras que Wang *et al.* ⁽⁶⁴⁾ demostraron en una intervención menor cambios específicos para el tratamiento con infusión de manzanilla. Es necesario evaluar la reproducibilidad de las nuevas tecnologías, como por ejemplo las micromatrices de genes y proteínas, en relación con la variabilidad de los extractos, debida al momento de cosecha o a los lotes. Los datos obtenidos en estos experimentos, junto con la elaboración de perfiles de expresión génica en toxicología determinarán el grado de facilidad y lo que se tardará en poder incorporar estas tecnologías al proceso habitual de estandarización y, también, en qué medida la legislación puede proporcionar un marco con las condiciones adecuadas para estos nuevos desarrollos.

La reproducibilidad de micromatrices en extractos vegetales también tendrá consecuencias en uno de los aspectos frecuentemente criticados de la fitoterapia. Hasta ahora sólo se concebía que los compuestos químicamente definidos causan un determinado efecto. Sin embargo, si es posible atribuir un perfil de expresión génica reproducible a una mezcla vegetal compleja no del todo definida químicamente, es necesario cuestionar este paradigma. Los físicos ya reconocieron anteriormente que “el análisis de un conglomerado como entidad de conglomerados parciales no es, para ser exactos, realmente posible. Sólo existe una totalidad que, de alguna manera, se puede percibir como una entidad de partes, pero que al mismo tiempo excede la suma de sus partes” ⁽⁷⁰⁾.

No obstante, en la actualidad todavía existe una serie de limitaciones generales en la metodología de las micromatrices. Todavía no hemos identificado todos y cada uno de los genes, y aún menos su función. Aunque se puede determinar de manera simultánea un amplio espectro de distintos ARNm, en este momento aún estamos en el proceso de entender la asociación existente entre el ARNm aumentado y la formación de proteínas. Además, el conocimiento limitado sobre la regulación genética, de las redes de interconexión de proteínas y del gran número de mecanismos de retroalimentación todavía dificulta la interpretación de los datos basados en microma-

trices y/o proteomas ⁽⁷¹⁾. Respecto a los extractos vegetales, se propuso el empleo micromatrices de ADN personalizadas o focalizadas y el ajuste del enfoque estadístico, mediante la adopción del análisis de correlación, con el fin de mejorar la fiabilidad de los datos ⁽⁶²⁾. Se han propuesto métodos de filtrado de datos como la OSC, que se han empleado para extraer información biológica significativa de los datos sesgados por diversas variaciones fisiológicas extrínsecas, como la edad, el sexo y los polimorfismos en poblaciones naturales.

En la actualidad, existe una gran demanda y necesidad de acelerar el proceso de investigación en fitoterapia. El mercado mundial fitofarmacéutico está en continuo crecimiento. La facturación calculada en 1995 fue de 12.400 millones de dólares americanos (unos 9.200 millones de Euros al cambio actual) ⁽⁷²⁾. Hoy en día, la industria de preparados fitoterápicos factura unos 62.000 millones de dólares americanos (unos 46.000 millones de Euros) y disfruta de un fuerte potencial de crecimiento ⁽¹¹⁾. Las ventas de suplementos vegetales, incluyendo los suplementos dietéticos y los alimentos funcionales tuvieron un crecimiento, sólo en Estados Unidos, del 101% en 1998, en tan solo un año, hasta llegar a un total de 587 millones de dólares (unos 435 millones de Euros) ⁽⁷²⁾. Los informes elaborados por el Banco Mundial afirman que el comercio de plantas medicinales, medicamentos fitoterápicos y las materias primas está aumentando con una tasa de crecimiento anual de entre 5% y 15% ^(11, 68, 73). Pieters y Vlietinck ⁽⁷³⁾ resumen, en un artículo reciente sobre el desarrollo de medicamentos a partir de los STM, que la biodiversidad de la naturaleza ha sido todavía muy poco explorada.

En resumen, las tecnologías “ómicas” que hemos presentado permiten el análisis simultáneo de cadenas de acción complejas y tienen la capacidad de relacionar mezclas complejas con efectos complejos en los diferentes niveles de metabolismo. La unión entre los perfiles de expresión génica/proteica reproducibles y los preparados fitoterápicos respaldará el desarrollo de una fitoterapia basada en la causalidad. La evaluación de la eficacia de los preparados fitoterápicos mediante ensayos controlados con placebo junto a la biodisponibilidad y la farmacocinética es la clave para la existencia de una fitoterapia racional y aceptada por completo. Sin embargo, la aplicación de la tecnología “ómica” ofrece la posibilidad de investigar los complejos mecanismos de acción de los medicamentos fitote-

rápicos cuyos principios activos más prominentes todavía no han sido determinados. Además, esta tecnología nos ayuda a racionalizar la superioridad terapéutica de muchos extractos vegetales sobre los principios activos aislados. Debido a que el mecanismo de acción de una combinación de fármacos puede diferir notablemente del mecanismo de acción de los mismos aplicados individualmente, la investigación del principio activo aislado puede perder su importancia, simplificando y economizando así la investigación. La fitoterapia puede convertirse en un nuevo reto orientado hacia la comprensión de los efectos de las mezclas complejas en los procesos moleculares y bioquímicos, en la salud y en la enfermedad, además de abrir nuevas áreas como la fitogenómica, la fitoproteómica y la fitometabolómica. La verdadera era de la fitoterapia está aún por llegar.

Agradecimientos

Los autores agradecen al profesor Dr. M. Wink (Ruprecht-Karls-Universität, Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie, Abteilung Biologie, IPMB, Heidelberg) por sus valiosas aportaciones a este trabajo.

Nota de la editorial: Es una traducción adaptada del artículo: Ulrich-Merzenich G, Zeitler H, Jobst D, Panek D, Vetter H, Wagner H. Application of the "Omic" technologies in phytomedicine. Phytomedicine 14 (2007) 70–82.

Dirección de contacto

H. Wagner

Institute für Pharmazie, Universität München, Butenandtstrasse 5-13, Haus B, D-81377 Munich (Alemania)
E-mail: H.Wagner@cup.uni-muenchen.de

G. Ulrich-Merzenich

H. Zeitler

D. Panek

H. Vetter

D. Jobst

Universitätsklinikum, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Wilhelmstrasse 35-37, D-53111 Bonn (Alemania)

E-mail: gudrun.ulrich-merzenich@ukb.uni-bonn.de

Referencias bibliográficas

1. Cook-Deegan R, Chan C, Johnson A. World survey of funding for genomics research. Final Report to the Global Forum for Health Research and the World Health Organization; 2000. www.stanford.edu/class/siw198q/websites/genomics/finalrpt.htm.

2. Wilkins MR, Sánchez JC, Gooley AA, Appel RD, Humphrey-Smith I, Hochstrasser DF, et al. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. *Biotechnol Genet Eng Rev* 1995; 13, 19-50.

3. Wilkins MR, Pasquali C, Appel RD, Ou K, Golaz O, Sánchez JC, et al. From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Bio Technology (NY)* 1996; 14, 61-65.

4. Williams EA, Coxhead JM, Mathers JC. Anticancer effects of butyrate: use of micro-array technology to investigate mechanisms. *Proc Nutr Soc* 2003; 62 (1): 107-115.

5. Forum for Norwich Research Park. Metabolomics techniques.

<http://www.metabolomics-nrp.org.uk/techniques.html>. Actualización de junio de 2006.

6. Kell DB. Metabolomics, modelling and machine learning in systems biology - towards and understanding of the languages of cells. *FEBS J* 2006; 273: 873-894.

7. Dunn WB, Ellis DI. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies. *Trends Anal Chem* 2005; 24, 285-294.

8. Kell DB, Mendes P. Snapshots of systems - metabolic control analysis and biotechnology in the post genomic era. En: Cornish-Bowden A, Cárdenas ML (Eds.). *Technological and Medical Implications of Metabolic Control Analysis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. <http://dbk.ch.umist.ac.uk/White-Papers/mcabio.htm>.

9. Wang M, Lamers RAN, Korthout HAAJ, van Nesselroo JHJ, Witkamp RF, van der Heijden R, et al. Metabolomics in the context of systems biology: bridging traditional Chinese Medicine and molecular pharmacology. *Phytother Res* 2005; 19: 173-182.

10. Verpoorte R, Choi YH, Kim HK. Ethnopharmacology and systems biology: a perfect holistic match. *J Ethnopharmacol* 2005; 100: 53-56.

11. Patwardhan B, Warude D, Pushpangadan P, Bhatt N. Ayurveda and traditional Chinese medicine: a comparative overview. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005; 2 (4): 465-473.

12. Williamson EM. Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine* 2001; 8 (5): 401-409.

13. Dücke JA, Bogenschütz-Godwin MJ. The synergy principle in plants, pathogens, insects, herbivores and humans. En: Kaufmann PB, Cseke LJ, Warber S, Duke JA, Brielmann HL. (Eds.). *Natural Products and Plants*. New York: CRC Press, 1999.

14. MacKenzie D. Complementary medicine, a special report. Swallow it whole. *New Sci* 2001; 2292: 38-40.

15. Wagner H. Trends and challenges in phytomedicine: research in the new millennium. En: Yaniv Z, Bachrach U. (Eds.). *Handbook of Medicinal Plants*. Bindhamton (UK): Haworth Medical Press Inc. 2001, pp. 3-28.

16. Geletka RC, St. Clair EW. Infliximab for the treatment of early rheumatoid arthritis. *Expert Opin Biol Ther* 2005; 5 (3): 405-417.

17. Zeitler H, Ulrich-Merzenich G, Hess L, Konsek E, Unkrig C, Walger P, et al. Treatment of acquired hemophilia by the

Bonn-Malmö Protocol: documentation of an in vivo immunomodulating concept. *Blood* 2005; 105: 2287-2293.

18. Cornish-Bowden A, Hofmeyr JHA, Cárdenas ML. Strategies for manipulating metabolic fluxes in biotechnology. *Biorg Chem* 1995; 23: 439-449.

19. Fell DA, Thomas S. Physiological control of metabolic flux: the requirement for multisite modulation. *Biochem J* 1995; 311: 35-39.

20. Fell DA. Increasing the flux in metabolic pathways: a metabolic control analysis perspective. *Biotechnol Bioeng* 1998; 58: 121-249.

21. Cascante M, Boros LG, Comin-Anduix B, de Atauri P, Centelles JJ, Lee PW. Metabolic control analysis in drug discovery and disease. *Nat Biotechnol* 2002; 20: 243-249.

22. McCafferty DC, Cudic P, Yu MK, Behenna DC, Kruger R. Synergy and duality in peptide antibiotic mechanisms. *Curr Opin Chem Biol* 1999; 3: 672-680.

23. Fan QW, Specht KM, Zhang C, Goldenberg DD, Shokat KM, Wess WA. Combinatorial efficacy achieved through the point blockade within a signaling pathway - a mechanical genetic approach. *Cancer Res* 2003; 63: 8930-8938.

24. Boris AA, Alliot PJ, Hurs NW, Lee MS, Lehar J, Price ER, Serbedzija G, et al. Systematic discovery of multicomponent therapeutics. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100: 7977-7982.

25. Saller R, Reichling J. Phytotherapie. En: Melchart D, Brenke R, Dobos G, Gaisbauer M, Saller R. (Eds.). *Naturheilverfahren*. Stuttgart: Schattauer GmbH, 2002. pp. 180-293.

26. Benedum J. Phytotherapie in der Antike. En: Loew D, Rietbrock N. (Eds.). *Phytopharmaka IV. Forschung und klinische Anwendung*. Darmstadt: Steinkopff, 1998. pp. 3-11.

27. Dirsch VM, Gerbes AT, Vollmar AM. Ajoene, a compound of garlic, induces apoptosis in human promyelocytic leukemia species and activation of nuclear factor κ B. *Mol Pharmacol* 1998; 53: 402-407.

28. Dirsch VM, Kiemer AK, Wagner H, Vollmar AM. Effect of allicin and ajoene, two compounds of garlic on inducible nitric oxide synthase. *Atherosclerosis* 1998; 139: 333-339.

29. Klingelhöfer S. Isolierung und Charakterisierung antiinflammatorischer Oxylipine aus Blattextrakten von *Urtica dioica* L. Ph.D. Thesis, Faculty of Natural Science, Christian-Albrechts-Universität Kiel, Germany, 2001, pp. 1-3, 80-81.

30. Obertreis B, Rutkowski T, Teucher T, Behnke B, Schmitz H. Ex vivo and in vitro inhibition of lipopolysaccharide stimulated tumor necrosis factor α and interleukin 1 β secretion in human whole blood by extractum *Urtica dioica* foliorum. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1996; 46: 389-394.

31. Fiebich BL, Chrusasik S. Effects of an ethanolic salix extract on the release of selected inflammatory mediators in vitro. *Phytomedicine* 2004; 11 (2-3): 135-138.

32. Kaszkin M, Beck KF, Koch E, Erdelmeier C, Kusch S, Pfeilschifter J, Loew D. Downregulation of iNOS expression in rat mesangial cells by special extracts of *Harpagophytum procumbens* derives from harpagoside dependent and independent effects. *Phytomedicine* 2004; 11 (7-8): 585-595.

33. Gilani AH, Shah AJ, Ghayur MN, Majeed K. Pharmacological

basis for the use of turmeric in gastrointestinal and respiratory disorder. *Life Sci* 2005; 76 (26): 3089-3105.

34. Mueller WE. *St. John's Wort and its active principles in Depression and Anxiety*. Basel: Birkhäuser Verlag, 2005, pp. 1-188.

35. Jellin JM, Gregory PJ, Batz F, Hitchens K, et al. *Pharmacist's Letter/Prescriber's Letter Natural Medicines Comprehensive Database*, 5th ed. Stockton, CA: Therapeutic Research Faculty, 2003.

36. Baker D, Pryce G, Croxford JL, Brown P, Huffman JW, Pertwee RG, et al. Cannabinoids control spasticity and tremor in an animal model of multiple sclerosis. *Nature* 2000; 404: 84-87.

37. Williamson EM, Evans FJ. Cannabinoids in clinical practice. *Drugs* 2000; 60(6): 1305-1314.

38. Zuardi AW, Shirakawa I, Finkelfarb E. Action of cannabidiol on the anxiety and other effects produced by delta-9-THC in normal subjects. *Psychopharmacology* 1982; 76: 245-250.

39. Long SR, Carey RA, Crofoot KM, Proteau PJ, Filtz TM. Effect of hawthorn (*Crataegus oxyacantha*) crude extract and chromatographic fractions on multiple activities in a cultured cardiomyocyte assay. *Phytomedicine* 2006; 13: 643-50.

40. Chung KF, McCusker M, Page P, Dent KG, Guinot P, Barnes PJ. Effect of ginkgolide mixture (BN52063) in antagonizing skin and platelet responses to platelet activating factor in man. *The Lancet* 1987; 31: 248-250.

41. Cantelli-Forti G, Maffei F, Hrelia P, Bugamelli F, Bernadi M, D'Intino P, Maranesi M, Raggi MM. Interaction of licorice on glycyrrhizin pharmacokinetics. *Environ Health Perspect* 1994; 102 (Suppl 9): 65-68.

42. Kimura M, Kimuar I, Guo X, Luo B, Kobayashi S. Combined effects of Japanese-Gino medicine Kakkon-to-ka-senkyu-shine and its related combinations and component drugs on adjuvant - induced inflammation in mice. *Phytother Res* 1992; 6 (4): 209-216.

43. Miaorong P, Jing L. Correlativity analysis on detoxifying effect of *Radix Glycyrrhizae* on *Radix Aconiti Preparata* in Sini Decotion. En: *Proceedings of the 40th Anniversary Conference*, Beijing University of Chinese Medicine, 1996, Beijing University Press.

44. Gagnier JJ, Chrusasik S, Manheimer E. *Harpagophytum procumbens* for osteoarthritis and low back pain: a systematic review. *BMC Complement. Alternative Med* 2004; 4, 13.

45. Schultz V. The psychodynamic and pharmacodynamic effects of drugs: a differentiated evaluation of the efficacy of phytotherapy. *Phytomedicine* 2000; 7(1): 73-81.

46. Woelk H. Comparison of St. John's Wort and imipramine for treating depression: randomised controlled trial. *BMJ* 2000; 321: 536-539.

47. Beckstrom-Sternberg SM, Duke JA. Potential for synergistic action of phytochemicals in spices. En: Charalambous, G. (Ed.). *Spices, Herbs and Edible Fungi*. Amsterdam: Elsevier, 1994, pp. 210-233.

48. Singh YN, Blumenthal M. Kava: an overview. *Herbalgram* 1997; 39: 33-39.

49. Schmidt B, Ludke R, Selbmann HK, Kotter I, Tschirdewahn B, Schaffner W, Heide L. Efficacy and tolerability of a standar-

- dized willow bark extract in patients with osteoarthritis: randomised, placebo-controlled, double blind clinical trial. *Phytother Res* 2001; 15 (4): 344-350.
50. Khayyal MT, El-Ghazaly MA, Abdallah DM, Okpanyi SN, Kelber O, Weiser D. Mechanisms involved in the anti-inflammatory effect of a standardized willow bark extracts. *Arzneimittelforschung* 2005; 55 (11): 677-687.
51. El Haouari M, Bnouham M, Bendahou M, Aziz M, Ziyayat A, Legssy A, Mekhfi, H. Inhibition of rat platelet aggregation by *Urtica dioica* leaves extracts. *Phytother Res* 2006; 20 (7): 568-572.
52. Hölzl J. The pharmacology and therapeutics of Valeriana. En: Houghton PJ. (Ed.) *Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles*, vol. 1. Valerian. the Netherlands: Harwood Academic Publishers, 1997, pp. 55-57.
53. Hostanska K, Hajto T, Weber K, Fischer J, Lentzen H, Sutterlin B, Saller R. A natural immunity-activating plant lectin, viscum album agglutinin-I, induces apoptosis in human lymphocytes, monocytes, monocytic THP-1 cells and murine thymocytes. *Nat Immun* 1996; 15 (6): 295-311.
54. Hajto T, Berki T, Palinkas L, Boldizsar F, Nemeth P. Effects of mistletoe extract on murine thymocytes in vivo and on glucocorticoid induced cell count reduction. *Forsch Komplementärmed* 2006; 13 (1): 22-27.
55. Perry NS, Houghton PJ, Theobald A, Jenner P, Perry E. In vitro inhibition of human erythrocytes acetylcholinesterase by *Salvia lavandulaefolia* essential oil and constituents terpenes. *J Pharm Pharmacol* 2000; 52 (7): 895-902.
56. Cheok MH, Yang W, Pui CH, Downing JR, Cheng C, Naeve CW, Relling MV, Evans WE. Treatment-specific changes in gene expression discriminate in vivo drug response in human leukemia cells. *Nat Genet*, 2003; 34: 85-90.
57. Schulte JH, Schramm A, Pressel T, Klein-Hitpass L, Kremens B, Eils J, et al. Microarray-analysis: a new approach to study the molecular mechanisms of thermo-chemotherapy. *Klein Padiatr* 2003; 215 (6): 298-302.
58. Cragg GM, Boyd M. Drug discovery and development at the National Cancer Institute: the role of natural products of plant origin. En: Balick MJ, Elisabetsky E, Laird SA. (Eds.). *Medicinal Plant Resources of the Tropical Forest*. New York: Columbia University Press, 1996, pp. 101-136.
59. Soejarto DD, Fong HHS, Tan GT, Zhang HJ, Ma CY, Franzblau SG, et al. Ethnobotany/ ethnopharmacology and mass bioprospecting: issues on intellectual property and benefit-sharing. *J Ethnopharmacol* 2005; 100: 15-22.
60. Taxman DJ, MacKeigan JP, Clements C, Bergstralh DT, Ting JP. Transcriptional profiling of targets for the combination therapy of carcinoma with paclitaxel and mitogen-activated protein/extracellular signal-related kinase inhibitor. *Cancer Res* 2003; 63 (16): 5095-5104.
61. Wang Z, Du Q, Wang F, Liu Z, Li B, Wang A, Wang Y. Microarray analysis of gene expression on herbal glycoside recipes improving deficient ability of spatial learning memory in ischemic mice. *J Neurochem* 2004; 88 (6): 1406-1415.
62. Ise R, Han D, Takahashi Y, Terasaka S, Inoue A, Tanji M, Kiyama R. Expression profiling of the estrogen responsible genes in response to phytoestrogen using a customized DNA microarray. *FEBS Lett* 2005; 579 (7): 1732-1740.
63. Mur LA, Kenton P, Atzorn R, Miersch O, Wasternack C. The outcomes of concentration-specific interactions between salicylate and jasmonate signaling included synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death. *Plant Physiol* 2006; 140 (1): 249-262.
64. Wang Y, Tang H, Nicholson JK, Hylands PJ, Sampson J, Holmes E. A metabonomic strategy for the detection of the metabolic effects of chamomile (*Matricaria recutita* L.) Ingestion. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 191-196.
65. Lettieri T. Recent applications of DNA microarray technology to toxicology and ecotoxicology. *Environ Health Perspect* 2006; 114 (1): 4-9.
66. Tennant RW. The National Centre for Toxicogenomics: using new technologies to inform mechanistic toxicology. *Environ Health Perspect* 2002; 110: A8-A110.
67. Ulrich-Merzenich G. Hyaluronic acid and other glycosaminoglycans in rheumatoid arthritis. Ph.D. Thesis, Faculty of Natural Science, Rheinische Friedrich-Wilhelms University of Bonn, Germany, 1998.
68. Patwardhan B. Ethnopharmacology and drug discovery. *J Ethnopharmacol* 2005; 100 (1-2): 50-52.
69. Schempp H, Weiser D, Kelber O, Elstner EF. Radical scavenging and antiinflammatory properties of STW 5 (Iberogast®) and its components. *Phytomedicine* 2007; 13 (Suppl V): 36-44.
70. Dürr HP. Wissenschaft und Wirklichkeit. U ber die "Beziehung zwischen dem Weltbild der Physik und der eigentlichen Wirklichkeit. En: Dürr, H.P, Zimmerli, W.C.M. (Eds.). Bern, Switzerland: Geist und Natur. Scherz Verlag, 1989.
71. Daniel H, tom Diek H. Nutrient-gene interactions: a single nutrient and hundreds of target genes. *Biol Chem* 2004; 385: 571-583.
72. WHO Traditional Medicine Strategy, 2002-2005. /www.who.int/medicines/library/trm/trm_stat_eng.pdf.
73. Pieters L, Vlietinck AJ. Bioguided isolation of pharmacologically active plant components, still a valuable strategy for the finding of new lead compounds? *J Ethnopharmacol* 2005; 100: 57-60.