



Evaluación de la actividad antimalárica de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional cubana.

Rodríguez-Pérez^{1*}, M.; Martínez, J.M.¹; Rivero, L.R.¹; Álvarez, H.M.H.¹; Valdez, A.F.C.¹; Rodríguez, D.A.¹; Lizama, R.S.²; Payrol, J.A.²

¹Departamento de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", La Habana, Cuba.

²Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, La Habana, Cuba.

Recibido 06/12/06 / Aceito 08/05/07

RESUMEN

La búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas es una alta prioridad en la lucha por el control de la malaria. El objetivo del presente estudio fue evaluar extractos preparados a partir de plantas seleccionadas en base a información etnobotánica obtenida de la Medicina Tradicional Cubana. Extractos de seis plantas (*Bambusa vulgaris*, *Parthenium hysterophorus*, *Melaleuca leucadendron*, *Indigofera suffruticosa*, *Artemisia absinthium*, *Simarouba glauca*), fueron evaluados *in vitro* frente a la cepa F32/Tanzania de *Plasmodium falciparum*. *S. glauca*, *P. hysterophorus*, *M. leucadendron* y *A. absinthium* mostraron valores de Concentración Mínima Inhibitoria en el rango de 3,1 a 50 µg/mL, mientras *B. vulgaris* e *I. suffruticosa* presentaron valores negativos contra esta cepa. Al evaluar estas cuatro especies *in vivo* frente a *Plasmodium berghei* NK65, mostraron mayor actividad inhibidora *A. absinthium* con un 65,9% de reducción de la parasitemia a la dosis de 500 mg/kg, *M. leucadendron* con un 50% de reducción a la dosis de 250 mg/kg y *S. glauca* con una reducción del 43,2% a la dosis de 100 mg/kg. Los extractos que mostraron menor toxicidad fueron *A. absinthium*, y *M. leucadendron*. Estos resultados muestran las potencialidades antimaláricas de algunas plantas medicinales utilizadas en Cuba y trazan el camino para estudios posteriores de sus constituyentes químicos activos.

Palabras-claves: *Plasmodium falciparum*; *Plasmodium berghei*; plantas antimaláricas; etnobotánico.

INTRODUCCIÓN

La malaria en la actualidad se considera una enfermedad reemergente, lo que constituye un importante problema de salud pública (Sachs & Malaney, 2002). Esto se debe a que en las últimas tres décadas el control de la misma se ha visto limitado por el problema creciente de la resistencia de los parásitos a los antimaláricos existentes y al surgimiento de la resistencia del mosquito vector al DDT

y otros insecticidas (Phillipson et al., 1995). Como puede deducirse de la situación planteada con anterioridad, la resistencia a las drogas desarrollada por los parásitos, está considerada como uno de los mayores problemas de salud en las áreas endémicas. Por tanto, la búsqueda de nuevas drogas o alternativas terapéuticas para el tratamiento de la malaria es una alta prioridad en la lucha por el control de esta enfermedad (Pérez et al., 1994).

El uso de plantas con posibles propiedades medicinales data de épocas muy remotas. Actualmente se estima que unas 20000 especies de plantas son utilizadas como medicamento a nivel mundial (Tagboto & Townson, 2001), sobre todo en aquellos países en que gran parte de la población no tiene acceso a fármacos y continúan acudiendo al uso de la medicina tradicional, principalmente basada en plantas, para tratar muchas enfermedades tropicales, incluida la malaria (Willcox et al., 2001).

Entre los compuestos antimaláricos aislados de plantas, artemisinina ocupa un importante lugar en la actualidad (Vikas Dhingra et al., 2000). Esta es una lactona sesquiterpénica endoperóxida descubierta y caracterizada por científicos chinos en la década de los 80 a partir de *Artemisia annua* (*Asteraceae*), una planta que según la Medicina Tradicional China había sido usada por la población durante miles de años para tratar la enfermedad (Meshnick, 1998). El aislamiento de artemisinina ha inspirado a grupos de científicos en la búsqueda de nuevas drogas antimaláricas a partir del conocimiento etnobotánico (Krettli et al, 2001), por tal motivo, numerosos estudios han sido reportados sobre los efectos inhibitorios *in vitro* e *in vivo* de extractos de plantas (Muñoz et al, 2000a, Madureira et al., 2002; Randrianarivelosia et al., 2003; Andrade-Neto et al., 2003).

En Cuba, antes de 1959, la notificación era deficiente, pero se conocían miles de casos de paludismo, sobre todo en la región oriental, considerada zona endémica de la enfermedad (Ginorio Gavito et al., 2004). El programa de erradicación de la malaria alcanzó su objetivo principal el 28 de junio de 1967, cuando se reportó el último caso autóctono, interrumpiéndose de forma definitiva la transmisión de la enfermedad. Posteriormente, en el año 1973, la OMS le otorgó al país el certificado de malaria erradicada (OPS, 1972).

*Autor correspondiente: Maylin Rodríguez-Pérez - Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" - Autopista Novia del Mediodía, Km. 6 1/2, - La Lisa - PO Box 601 - Ciudad de La Habana, Cuba - Teléfono: (53-7) 202 06 50 - Fax: (53-7) 204 60 51 - e-mail: mrodriguezp@ipk.sld.cu

Las potencialidades antimaláricas de las plantas medicinales utilizadas para el tratamiento de esta enfermedad en nuestro país, no han sido evaluadas con anterioridad. Sin embargo, existen reportes escritos donde se hace referencia a varias especies que, según los conocimientos etnobotánicos de la población cubana, se les atribuyen estas propiedades. En nuestro trabajo, nos propusimos estudiar la posible actividad antimalárica de seis plantas, *Bambusa vulgaris*, *Parthenium hysterophorus*, *Melaleuca leucadendron*, *Indigofera suffruticosa*, *Artemisia absinthium*, *Simarouba glauca*, que han sido utilizadas en la medicina tradicional cubana, seleccionadas de una revisión bibliográfica previa. Para ello evaluamos la actividad de los extractos vegetales como inhibidores del crecimiento de *P. falciparum in vitro* y como inhibidores del crecimiento de *P. berghei*, en el modelo murino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de especies de plantas

Basados en las publicaciones de Roig (1953; 1974), se seleccionaron especies recomendadas tradicionalmente como antimaláricas y/o antipiréticas las cuales se relacionan en la Tabla 1.

Se incluyó *Melaleuca leucadendron* por ser considerado un árbol muy útil en los lugares donde existe la fiebre palúdica (Roig 1953; 1974) y que se presupone presenta similares principios activos a otras especies de la familia *Myrtaceae* con actividad antimalárica reportada (Caraballo et al., 2004; Murnigsih et al., 2005). *Simarouba glauca* fue seleccionada como extracto crudo positivo por su demostrada actividad antimalárica (Franssen et al., 1997).

Preparación de los extractos alcohólicos

Las distintas especies fueron identificadas en el herbario del Jardín Botánico Nacional. Las plantas recolectadas se procesaron en los laboratorios del Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL) y se obtuvieron extractos alcohólicos del follaje para la realización de ensayos *in vitro* y estudios *in vivo*.

Las plantas fueron sometidas a un proceso de secado y pulverización y los extractos se obtuvieron por maceración según la Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) 311 (MINSAP, 1991) y utilizando como solvente etanol a 80 grados. En un recipiente de vidrio con tapa se vertió el mensturo y la droga cruda a una proporción de 1:10. A temperatura ambiente se maceró agitando 15 minutos dos veces al día, por siete días. El líquido se extrajo por

Tabla 1 - Relación de las plantas medicinales estudiadas y su utilización en la medicina tradicional cubana

Especie (Familia)	Nombre vulgar	Utilización tradicional
<i>Parthenium hysterophorus</i> (<i>Asteraceae</i>)	Escoba amarga	Febrífugo, antipalúdico, contra afecciones de la piel como sífilis, herpes, tiña, etc. Es tónico y estimulante estomacal.
<i>Bambusa vulgaris</i> (<i>Graminaceae</i>)	Caña brava	Para las fiebres palúdicas. Es depurativa y diurética.
<i>Artemisia absinthium</i> (<i>Asteraceae</i>)	Incienso ajeno	Febrífuga, tónica y vermífuga. Estimulante y emenagoga.
<i>Indigofera suffruticosa</i> (<i>Fabaceae</i>)	Añil cimarrón	Se usa como detergente, febrífugo (para fiebres intermitentes) y antiparasitario (insecticida poderoso en pediculosis y sarna)
<i>Simarouba glauca</i> (<i>Simaroubaceae</i>)	Gavilán	Febrífuga moderada, antidisentérica, antiherpético, antihelmíntica, efectos tónico, estomáquico, digestivo, antihipocondríaco.
<i>Melaleuca leucadendron</i> (<i>Myrtaceae</i>)	Cayeput	Util para sanear terrenos pantanosos, en zonas palúdicas, ahuyentar mosquitos. Es expectorante, estimulante, para el reumatismo, antiséptico urinario, antihelmíntico, parasiticida en enfermedades de la piel.

decantación, se filtró por papel de filtración mediana y se envasó en recipientes de vidrio de color ámbar. Las soluciones fueron llevadas a sequedad por liofilización.

Evaluación de la actividad antimalárica *in vitro*

Para el estudio de la susceptibilidad *in vitro* se empleó la cepa de *P. falciparum* F32/Tanzania, susceptible a cloroquina, donada gentilmente por el Instituto de Investigaciones Farmacobiológicas de la Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.

El cultivo *in vitro* de las formas asexuales de *P. falciparum* se realizó de forma continua siguiendo la metodología de Trager & Jensen (1976). En nuestro caso utilizamos eritrocitos humanos del grupo O⁺. La susceptibilidad de *P. falciparum* a los diferentes extractos se determinó en placas de 96 pocillos (TPP, Europa/Suiza), donde se probaron diluciones dobles en medio de cultivo completo (medio RPMI 1640 + 20% de suero sanguíneo O⁺) partiendo de la concentración de 100 µg/mL y una concentración alcohólica al 0,8%. Se utilizó un control del crecimiento del parásito y un control conteniendo el vehículo a la misma concentración de los extractos. Todas las concentraciones de los extractos fueron probadas en duplicado y los ensayos se realizaron en tres días diferentes.

En cada pocillo se mezclaron iguales volúmenes de extractos diluidos y de preparaciones de cultivos asincrónicos en los cuales la parasitemia inicial fue de 1% y el hematocrito 2%. Se incubó a 37^o C en una atmósfera de aproximadamente 85% de N₂, 5% de CO₂ y 10% de O₂, obtenida por la combustión de una vela en una jarra desecadora.

Pasadas 72 horas, se realizaron extensiones finas de las muestras de cada pocillo utilizando láminas portaobjetos, las cuales fueron fijadas en metanol y teñidas con Giemsa. La estimación de la inhibición del crecimiento de *P. falciparum* se realizó mediante el método directo de conteo microscópico, de acuerdo a la metodología recomendada por Schlichtherle et al. (2000).

El porcentaje de inhibición (PI) se calculó según la siguiente fórmula:

Parasitemia del grupo control - Parasitemia del grupo tratado

$$PI = \frac{\text{Parasitemia del grupo control} - \text{Parasitemia del grupo tratado}}{\text{Parasitemia del grupo control}} \times 100$$

Si a la dosis de 10 µg/mL del extracto, el PI es mayor o igual que 90, la actividad antimalárica se considera excelente, si es mayor o igual que 50, la actividad antimalárica se considera muy buena. Si a la dosis de 100 µg/mL del extracto, el PI es mayor o igual que 90, la actividad antimalárica se considera buena, si es mayor o igual que 50, la actividad antimalárica se considera débil (Muñoz et al., 2000b).

Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), que se define como la menor concentración del

extracto crudo que inhibió más del 90% del crecimiento del parásito (Kotecka & Rieckmann, 1993).

Evaluación de la actividad antimalárica *in vivo*

Para el estudio de la actividad antimalárica *in vivo* se utilizó como modelo experimental ratones de la línea OF1 (albinos suizos) hembras, con un peso aproximado de 20 gramos, infectados con parásitos de la cepa NK65 de P. berghei, donada gentilmente por el Instituto de Investigaciones Farmacobiológicas de la Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. La cepa se mantuvo alternando entre congelación en N₂ líquido y pases sucesivos en el ratón.

Para el ensayo con drogas se siguió el esquema descrito por Lin et al. (1994). Los ratones fueron inoculados en el día cero (d0) por vía intraperitoneal con 0,2 mL de la suspensión de parásitos (10⁶ formas eritrocíticas) extraídos de un donante infectado. El día tres (d3) se realizaron frotis finos de sangre venosa de cada uno de los ratones, para confirmar por conteo microscópico que los niveles de parasitemia fueron semejantes en todos los animales.

Los ratones fueron separados en grupos de cinco y colocados en cajas plásticas, garantizando los requerimientos nutricionales y la temperatura adecuada. Se tuvieron en cuenta las normas internacionales para investigaciones biomédicas utilizando animales. Los extractos fueron utilizados a dosis de 500, 250 y 100 mg/kg de peso y se administraron por vía intraperitoneal (Deharo et al., 2001). Se mantuvo la administración de una dosis diaria de los extractos desde el d0 hasta el día seis (d6). Se determinó el nivel de parasitemia desde el día tres (d3) hasta el día siete (d7) mediante el conteo microscópico de 6000 glóbulos rojos. El PI de los extractos en el día siete (d7) se calculó mediante la fórmula descrita con anterioridad para *P. falciparum*. Se siguió diariamente la mortalidad de los animales.

Como controles se utilizaron dos grupos que fueron administrados por la misma vía, uno con el solvente de los extractos (etanol al 20%) y el otro con fosfato de cloroquina (Sigma Co, EU) a una dosis de 10 mg/kg de peso (Deharo et al., 2000). Además se utilizó un grupo control con ratones no tratados. Los experimentos con cada extracto se realizaron dos veces. El extracto crudo se consideró activo si a las dosis estudiadas, el PI estaba en un rango mayor del 50%. El tratamiento se consideró curativo si los animales tratados sobrevivían y tenían una parasitemia negativa el día 60.

Análisis estadístico

Se determinó la mediana diaria de cada ensayo *in vivo* debido a la variabilidad de los valores diarios de la parasitemia entre los ratones albinos suizos de un mismo grupo de tratamiento. La comparación de las medianas entre los grupos se realizó empleando la Prueba no paramétrica de Mann-Whitney. En todos los casos las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando el valor de P fue menor de 0,05. El análisis se desarrolló empleando el programa SPSS versión 11.5 para Windows XP.

RESULTADOS

Teniendo en cuenta los criterios adoptados para clasificar la actividad antimalárica *in vitro* de plantas medicinales, obtuvimos dos extractos negativos (*I. suffruticosa*, *B. vulgaris*), con cifras muy bajas en el PI a la concentración de 100 µg/mL, dos extractos mostraron una actividad antimalárica buena (*A. absinthium* y *M. leucadendron*), con un PI mayor o igual de 90 a concentraciones menores de 100 µg/mL y los extractos de *S. glauca* y *P. hysterothorus* mostraron excelente actividad antimalárica, con un PI mayor o igual de 90 a las concentraciones de 12,5 y 3,1 µg/mL, respectivamente (Figura 1 y Tabla 2). La cloroquina, utilizada como droga de referencia, mostró una CMI de 100 µg/mL.

Al comparar la mediana de los valores de parasitemia diarios de un grupo de ratones infectados con *P. berghei* que no recibieron ningún tipo de tratamiento y un grupo de ratones a los cuales se les administra 0,2 mL del solvente de los extractos, pudimos observar que el comportamiento de la infección en ambos grupos tuvo características similares, no existiendo diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) entre los valores de parasitemia, lo que justificó la utilización del etanol al 20% como control negativo en los estudios (Datos no mostrados).

La Tabla 3 muestra la actividad antiplasmodial en ratones OF1 infectados con *P. berghei* NK65 de los cuatro extractos alcohólicos que mostraron actividad antimalárica en los ensayos *in vitro*.

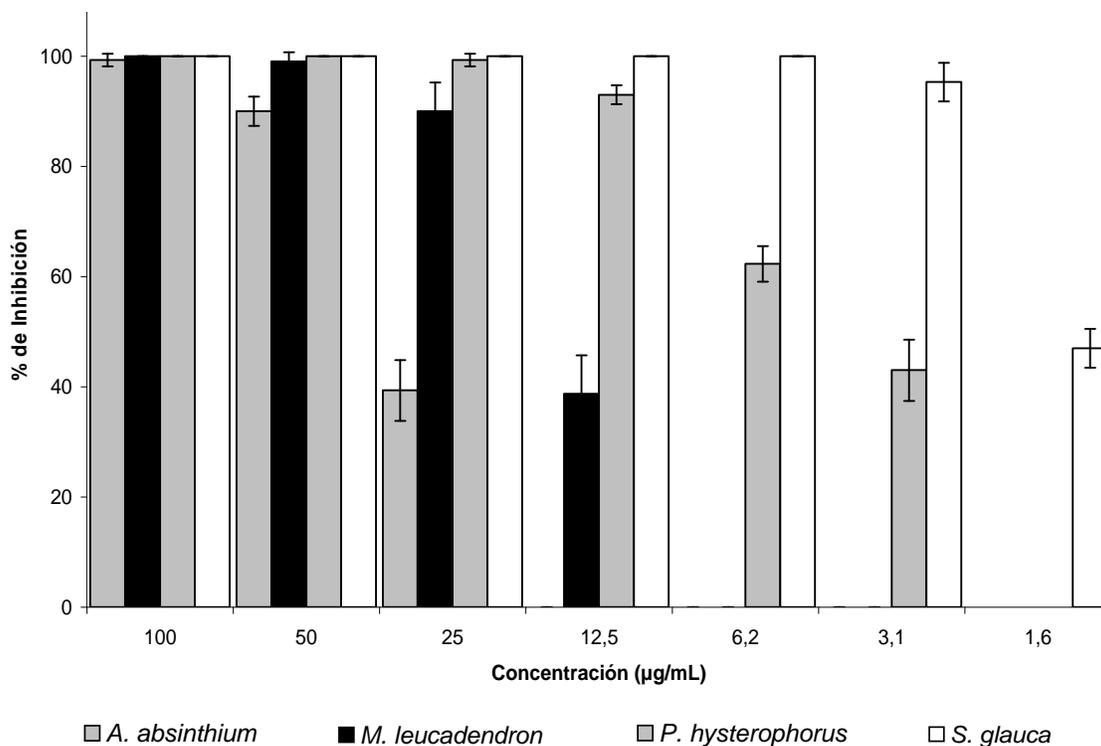


Figura 1. Efecto antimalárico *in vitro* de los extractos alcohólicos del follaje de las cuatro especies con CMI menor de 100 µg/mL.

Tabla 2 - Valores de la CMI de los cuatro extractos con actividad *in vitro*.

ESPECIES	CMI
<i>Artemisia absinthium</i>	50 µg/mL
<i>Melaleuca leucadendron</i>	25 µg/mL
<i>Parthenium hysterothorus</i>	12,5 µg/mL
<i>Simarouba glauca</i>	3,1 µg/mL

Tabla 3 - Actividad antiplasmodial en ratones OF1 infectados con *P. berghei* NK65 de los cuatro extractos alcohólicos del follaje con actividad *in vitro*.

Productos	Dosis	% de inhibición d7
control	-	0
<i>A. absinthium</i>	500 mg/kg	65,9
	250 mg/kg	0
	100 mg/kg	No evaluada
<i>M. leucadendron</i>	500 mg/kg	Tóxica
	250 mg/kg	50
	100 mg/kg	36,4
<i>S. glauca</i>	500 mg/kg	Tóxica
	250 mg/kg	Tóxica
	100 mg/kg	43,2
<i>P. hysterothorus</i>	500 mg/kg	Tóxica
	250 mg/kg	0
	100 mg/kg	0
cloroquina	10 mg/kg	100

Con la utilización del extracto de *M. leucadendron* se obtuvo una reducción de la parasitemia de 50 y 36,4% a la dosis de 250 y 100 mg/kg de peso, respectivamente. A la dosis de 250 mg/kg, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre las parasitemias del grupo tratado y el grupo control y el extracto fue considerado activo. A la dosis de 100 mg/kg de peso, las diferencias entre ambos grupos no fueron significativas ($P > 0,05$). A la dosis de 500 mg/kg el extracto fue considerado tóxico con un 35% de mortalidad.

El extracto de *A. absinthium* a la dosis de 500 mg/kg de peso, tuvo una tendencia a una reducción de la parasitemia del 65,9%, sin embargo, estadísticamente no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre la parasitemia de los grupos tratados en relación a los que solo recibieron el vehículo de la droga. A la dosis de 250 mg/kg no se produjo reducción de la parasitemia y la dosis de 100 mg/kg no fue evaluada.

El extracto de *S. glauca* a la dosis de 100 mg/kg de peso produjo una reducción de la parasitemia del 43,2%. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las parasitemias de ambos grupos. A las dosis de 500 y 250 mg/kg el extracto fue considerado tóxico con un 100 y un 60% de mortalidad, respectivamente.

El extracto de *P. hysterothorus* a las dosis empleadas (250 y 100 mg/kg de peso), no produjo reducción de la parasitemia, sino por el contrario, la mediana de la parasitemia de los tratados fue mayor que la del control ($P > 0,05$). A la dosis de 500 mg/kg el extracto fue considerado tóxico con un 100% de mortalidad.

Ninguno de los extractos evaluados *in vivo* fue considerado curativo, ni mostró una actividad superior a la cloroquina, como droga de referencia, que a una dosis diaria de 10 mg/kg durante cuatro días, fue capaz de eliminar completamente las formas eritrocíticas del parásito.

DISCUSIÓN

Plantas activas *in vitro* e *in vivo*

El extracto de *S. glauca* fue el más activo contra *P. falciparum* F32, con una CMI de 3,1 $\mu\text{g/ml}$, comparable con la actividad reportada en la literatura para los extractos etanólicos de *A. annua* (Concentración Inhibitoria Media (CI_{50}) de 3,9 $\mu\text{g/mL}$ frente a *P. falciparum* K1, resistente a cloroquina) y para *Azadirachta indica* (CI_{50} de 4,1-7,2 $\mu\text{g/mL}$ frente a *P. falciparum* FcB1, resistente a cloroquina) en ensayos *in vitro* (Vonhron-Sénécheau et al., 2003). En Guatemala, Franssen et al. (1997), demostraron la actividad antimalárica de extractos de la corteza de *S. glauca* frente a *P. falciparum* NF54 y K1 encontrando una CI_{50} de 0,195 $\mu\text{g/mL} \pm 0,04$ y 0,184 $\mu\text{g/mL} \pm 0,024$, respectivamente y frente a *P. berghei* a la dosis de 750 mg/kg de peso por vía oral. Los quasinoídes (glaucarubol, glaucarubin, glaucarubinone) son los constituyentes responsables de la actividad antimalárica que presentan varias especies de *Simaroubaceae*. A pesar de que son moléculas generalmente citotóxicas, algunos compuestos presentan selectividad moderada *in vitro*, lo cual no logra, aún después de varias modificaciones químicas, eliminar sus efectos tóxicos *in vivo* en ensayos con ratones infectados con *P. berghei* (Wright, 2005).

Con el extracto de *M. leucadendron* obtuvimos una CMI de 25 $\mu\text{g/mL}$. Esta planta ha sido utilizada por la población cubana que le ha atribuido propiedades antiparasitarias, antisépticas, analgésicas, estimulantes e insecticidas (Roig, 1953; 1974). Se sabe que el aceite esencial extraído de esta planta tiene actividad antihelmíntica, antimicrobiana, antifúngica, antiviral y como repelente de insectos (Anthony et al., 2005; Farag et al., 2004; Amer & Mehlhorn, 2006). Rodríguez (1997), realizó un estudio toxicológico de la administración del extracto fluido y del

aceite esencial en ratas Wistar y no encontró signos clínicos, lesiones morfológicas, ni histológicas que evidenciaran efectos tóxicos. Las evidencias encontradas en nuestros ensayos demuestran la actividad antiplasmodial de esta especie y justifican futuros estudios en la búsqueda de sus principios activos.

El extracto de *A. absinthium* mostró en nuestro estudio una CMI de 50 µg/mL. Se ha utilizado por la población de nuestro país como antipirético (Roig, 1953; 1974), en el tratamiento de enfermedades parasitarias, fundamentalmente amebiasis (Fuentes & Expósito, 1995) y recientemente se ha validado la actividad anti-giardíaca (Guerra Ordóñez et al., 2001). Sus propiedades antimaláricas han sido estudiadas *in vitro* con anterioridad en Cuba. Hernández et al. (1990), encontraron activo el extracto acuoso, preparado a 100 mg/mL partiendo de la droga seca, contra *P. falciparum* A2, obteniendo entre el 62,53 y el 89,81% de inhibición a la concentración de 1,4 y 2,8 mg/mL. También evaluaron una fracción de lactonas sesquiterpénicas de esta especie, que mostró una CI₅₀ de 31,4 µg/mL. Zafar et al. (1990) en la India, evaluaron la actividad antimalárica *in vivo* de un extracto alcohólico de las hojas de esta planta, frente a ratones albinos suizos infectados con *P. berghei*, obteniendo una reducción de la parasitemia con la administración oral entre el 80,5 y el 96,2%, con la administración subcutánea entre el 88,4 y el 89,9% y con la administración intraperitoneal del 91,6%. La toxicidad de *A. absinthium* es controversial (John et al, 1999; Olsen, 2000). Muto et al. (2003), utilizaron ratas Wistar para un estudio de toxicidad y llegaron a la conclusión de que no se produjeron cambios tóxicos, ni se observaron niveles de efectos adversos relacionados con la administración del extracto, además ningún animal murió durante el período experimental. En Cuba, Piloto Ferrer et al. (2000), realizaron un estudio de genotoxicidad del extracto fluido del follaje y concluyeron en que dicho extracto no induce efectos mutagénicos en los sistemas de ensayo evaluados. En nuestro experimento no observamos signos de toxicidad durante el período en que los animales fueron tratados. Esta especie posee propiedades antimaláricas demostradas y que han sido corroboradas en nuestro estudio. Sería importante encaminar estudios futuros a la investigación de los principios activos antimaláricos.

Plantas activas *in vitro* e inactivas *in vivo*

En general, la actividad *in vivo* negativa puede deberse a interferencias biológicas como baja absorción, vida media en plasma o metabolización de los componentes activos (Baelmans et al., 2000), además de las diferencias genéticas en las especies de *Plasmodium* utilizadas (Ridley, 2002).

El extracto de *P. hysterothorus* mostró una CMI de 12,5 µg/mL. Sin embargo, a las dosis de 250 y 100 mg/kg de peso fue inactivo. Se conoce que la partenina, una lactona sesquiterpénica aislada como principio activo de las partes aéreas de esta planta, fue activa *in vitro* frente a un cultivo de *P. falciparum* K1, resistente a cloroquina, pirimetamina y

sulfadoxina (Hooper et al., 1990). La partenina, al ser evaluada en ratas, mostró una DL₅₀ de 42,3 mg/kg y fue considerada como una potente toxina, responsable de las manifestaciones de la parteniosis (Narasimhan et al., 1984). Además, en un estudio de Toxicidad Aguda Oral (TAO) en ratas, de un crudo de lactonas sesquiterpénicas, se obtuvo una DL₅₀ de 121mg/kg (Victoria Amador, 2000). Nuestros resultados apoyan las evidencias de toxicidad para los extractos crudos hidroalcohólicos de esta planta. No obstante, existen estudios de toxicidad negativos (Gómez Montes de Oca, 1996). Teniendo en cuenta la posibilidad de que la actividad de las lactonas sesquiterpénicas se modifique por acción enzimática, puede ser importante investigar la posible actividad antimalárica usando la vía oral.

Plantas inactivas *in vitro*

Plantas frecuentemente reportadas por su uso como antimaláricas en varios países, no necesariamente muestran una elevada actividad en ensayos *in vitro*. Estos fallos pueden probablemente explicarse, en parte, porque muchas de las plantas usadas por la población en el tratamiento de la malaria pueden tener otras actividades terapéuticas además del efecto antiparasitario, tales como antipiréticas, antiinflamatorias o inmunomoduladoras (Madureira et al., 2002). En la práctica tradicional, "malaria" es usada como sinónimo de fiebre, escalofrío, dolores musculares y articulares, fatiga y cefalea (Randrianarivelojosia et al., 2003), síntomas y signos que son compatibles con otras enfermedades, por lo que no podemos excluir que la utilización de estas plantas por parte de la población sea para tratar enfermedades de etiología viral o bacteriana.

Con el extracto de *B. vulgaris* obtuvimos en nuestro estudio, a la dosis de 100 µg/mL, una reducción de la parasitemia del 25,8%. La población cubana la ha utilizado para combatir la malaria y el parasitismo intestinal (Roig, 1953; 1974). En la literatura existen muy pocos datos disponibles que avalen su actividad biológica.

El extracto de *I. suffruticosa* produjo en nuestro estudio solamente una reducción del crecimiento del parásito de 16,4% a la dosis de 100 µg/mL y fue considerado como inactivo. Se le han atribuido propiedades antipiréticas en fiebres intermitentes, antiparasitarias, antiherpéticas, antiespasmódicas, diuréticas y para combatir insectos parásitos (Roig, 1953; 1974), pero no existen estudios biológicos que apoyen el uso tradicional de esta especie, por el contrario, se conoce que sus hojas son tóxicas pues contienen aminoácidos tóxicos, ácido cianhídrico y canavalina y que produce efectos teratogénicos, abortos, reabsorciones fetales e infertilidad en animales (Arturo Alfonso et al., 2000).

Para concluir, deseamos destacar que en nuestro estudio, identificamos varias especies de plantas que han sido utilizadas con fines antimaláricos, antipiréticos y/o antiparasitarios en general que serán objeto de futuros estudios. La evaluación realizada a seis de estas plantas, reveló actividad contra *P. falciparum* "in vitro" en los

extractos pertenecientes a cuatro de ellas: *A. absinthium*, *M. leucadendron*, *S. glauca* y *P. hysterophorus*; permitiéndonos apoyar el uso tradicional de éstas como fuentes de posibles compuestos antimaláricos. Sin embargo, consideramos que estos resultados son preliminares los cuales son tributarios de futura confirmación.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se benefició de la acción de fortalecimiento de la capacidad de investigación brindada por el Programa Especial de la OMS/Banco Mundial/ Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo, la Investigación y el Entrenamiento en Enfermedades Tropicales, a el proyecto ID990948.

Agradecemos al Dr. Lázaro Romero por su ayuda con el análisis estadístico.

SUMMARY

Evaluation of the antimalarial activity in some Cuban medicinal plants.

The search for new treatments against malaria has a high priority in the fight to bring this disease under control. The aim of this study was to assess the therapeutic potential of extracts of plants selected on the basis of ethnobotanical information collected from Cuban traditional medicine. Extracts from six plants (*Bambusa vulgaris*, *Parthenium hysterophorus*, *Melaleuca leucadendron*, *Indigofera suffruticosa*, *Artemisia absinthium*, *Simarouba glauca*) were tested for their *in vitro* effect against the F32/Tanzania strain of *Plasmodium falciparum*. *S. glauca*, *P. hysterophorus*, *M. leucadendron* and *A. absinthium* exhibited minimum inhibitory concentrations (MIC) in the range from 3.1 to 50 g/mL, while *B. vulgaris* and *I. suffruticosa* showed negative activity against this strain. The highest *in vivo* activities against *Plasmodium berghei* NK65 were shown by *A. absinthium*, with a 65.9% reduction in parasitemia at a dose of 500 mg/kg, *M. leucadendron*, with 50% reduction at 250 mg/kg, and *S. glauca*, with 43.2% reduction at 100 mg/kg. The less toxic extracts were *A. absinthium* and *M. leucadendron*. These results demonstrate the antimalarial properties of some Cuban medicinal plants and pave the way to detailed research on their active chemical constituents.

Keywords: *Plasmodium falciparum*; *Plasmodium berghei*; antimalarial plants; ethnobotany.

REFERENCIAS

Amer A, Mehlhorn H. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex*

mosquitoes. *Parasitol Res* 2006; 99:478-90

Andrade-Neto VF, Brandão MGL, Stehmann JR, Oliviera LA, Krettli AU. Antimalarial activity of Cinchona-like plants used to treat fever and malaria in Brazil. *J Ethnopharmacol* 2003; 87:253-6.

Anthony JA, Fyfe L, Smith H. Plant active components- a resource for antiparasitic agents? *Trends Parasitol* 2005; 21:462-8.

Arturo Alfonso H, Tablada Pérez R, Quesada Pastor N, Carballo Velásquez N, Acosta Pedroso B, Sanchez LM. *Plantas tóxicas*. Habana: Editorial Capitán San Luis; 2000. p. 72-3.

Baelmans R, Deharo E, Bourdy G, Muñoz V, Quenevo C, Sauvain M, et al. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part IV. Is a new haem polymerisation inhibition test pertinent for the detection of antimalarial natural products? *J Ethnopharmacol* 2000; 73:271-5.

Caraballo A, Caraballo B, Rodriguez-Acosta A. Preliminary assessment of medicinal plants used as antimalarials in the southeastern Venezuelan Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37(2):186-8.

Deharo E, Bourdy G, Ovevevo C, Muñoz V, Ruiz G, Sauvain M. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians. *J Ethnopharmacol* 2001; 77:91-8.

Deharo E, Gautret P, Muñoz V, Sauvain M. *Técnicas de laboratorio para la selección de sustancias antimaláricas*. Bolivia: CYTED-IRD; 2000. p.98.

Farag RS, Shalaby AS, El-Baroty GA, Ibrahim NA, Ali MA, Hassan EM. Chemical and biological evaluation of the essential oils of different *Melaleuca* species. *Phytother Res* 2004; 18:30-5.

Franssen FFJ, Smeijsters LJJW, Berger I, Medinilla Aldana BE. *In vivo* and *in vitro* antiplasmodial activities of some plants traditionally used in Guatemala against Malaria. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:1500-3.

Fuentes V, Expósito A. Las encuestas etnobotánicas sobre plantas medicinales en Cuba. *Rev Jardín Bot Nac* 1995; 16:77-144.

Ginorio Gavito DE, Ortega Medina S, Rojas Rivero L, Marin Castro H, Oviedo Delgado A. Control de la calidad del diagnóstico de paludismo en la provincia de Cienfuegos, Cuba. *Rev Cubana Med Trop* 2004; 56:49-53.

Gómez Montes de Oca L. *Evaluación toxicológica del Parthenium hysterophorus* (Escoba amarga). [Trabajo de diploma]. Habana: Universidad de la Habana; 1996.

Guerra Ordóñez M, Torres Idavoy D, Martínez Pol L. Validación del uso tradicional de plantas medicinales cultivadas en Cuba. *Rev Cubana Plant Med* 2001; 2:48-51.

- Hernández H, Mendiola J, Torres D, Garrido N, Pérez N. Effect of aqueous extracts of *Artemisia* on the in vitro culture of *Plasmodium falciparum*. *Fitoterapia* 1990; 61:540-1.
- Hooper M, Kirby GC, Kulkarni MM, Kulkarni SN, Nagasampagi BA, O'Neill MJ, et al. Antimalarial activity of parthenin and its derivatives. *Eur J Med Chem* 1990; 25:717-23.
- John S, Wilfred A, Timothy P. Absinthe: What's your poison? Though absinthe is intriguing, it is alcohol in general we should worry about. *Br Med J* 1999; 319:1590-2.
- Kotecka BM, Rieckmann KH. Chloroquine bioassay using malaria microcultures. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 49:460-4.
- Krettli AU, Andrade-Neto V, Brandao MGL, Ferrari WMS. The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96:1033-42.
- Lin AJ, Arba L, Ager JR, Klayman DL. Antimalarial activity of dihydroartemisinin derivatives by transdermal application. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 50:777-83.
- Madureira MC, Martins AP, Gomes M, Paiva J, Cunha AP, Rosaro V. Antimalarial activity of medicinal plants used in traditional medicine in S. Tomé and Príncipe Islands. *J Ethnopharmacol* 2002; 81:23-9.
- Meshnick SR. The form quinine to Qinghaosu: Historic perspectives. En: Irwin W, Sherman J, editores. *Parasite biology, pathogenesis and protection*. Washington DC: ASM; 1998. p.341-53.
- MINSAP. Ministerio de Salud Pública. Medicamentos de origen vegetal: extractos y tinturas: proceso tecnológico. Cuba: MINSAP; 1991 (Norma Ramal de Salud Pública (NRSP); 311)
- Muñoz V. et al. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach Part I. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Chacobo Indians. *J Ethnopharmacol* 2000a; 69:127-37.
- Muñoz V, Sauvain M, Bourdy G, Callapa J, Rojas I, Vargas L, Tae A, Deharo E. The search for natural bioactive compounds through a multidisciplinary approach in Bolivia. Part II. Antimalarial activity of some plants used by Mosekene Indians. *J Ethnopharmacol* 2000b; 69:139-55.
- Murnigsih T, et al. Evaluation of the inhibitory activities of the extracts of Indonesian traditional medicinal plants against *Plasmodium falciparum* and *Babesia gibsoni*. *J Vet Med Sci* 2005; 67(8):829-31.
- Muto T, Watanabe T, Okamura M, Moto M, Kashida Y, Mitsumari K. Thirteen week repeated dose toxicity study of wormwood (*Artemisia absinthium*) extract in rats. *J Toxicol Sci* 2003; 28:471-8.
- Narasimhan TR, Keshava BS, Harindranath N, Subba Rao PV. Characterization of a toxin from *Parthenium hysterophorus* and its mode of excretion in animals. *J Biosci* 1984; 6:729-38.
- Olsen RW. Absinthe and gamma-aminobutyric acid receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:4417-8.
- OPS. Organización Panamericana de la Salud. *Informe para la certificación y registro de la erradicación de la malaria en Cuba*. Washington, DC: OPS; 1972. p. 114-6.
- Pérez HA, De la Rosa M, Apitz R. In vivo activity of ajoene against rodent malaria. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38:337-9.
- Phillipson JD, Wright CW, Kirby GC, Warhurst DC. Phytochemistry of some plants used in traditional medicine for the treatment of protozoal diseases. En: Hostellman K, Marston A, Maillard M, Hamburger M, editores. *Phytochemistry of plants used in traditional medicine*. Oxford: University Press; 1995. p.95-135.
- Piloto Ferrer J, Ramos Ruiz A, Vizoso Parra A, García López A. Evaluación del potencial genotóxico de un extracto fluido de incienso (*Artemisia absinthium* L). *Rev Cubana Plant Med* 2000; 5:64-7.
- Randrianarivojosia M, Rasidimanana VT, Rabarison H, Cheplogoi PK, Ratsimbason M, Mulholland DA, et al. Plants traditionally prescribed to treat tazo (malaria) in the eastern region of Madagascar. *Malar J* 2003; 2:1-9.
- Ridley RG. Medical need, scientific opportunity and the drive for antimalarial drugs. *Nature* 2002; 415:686-93.
- Rodríguez LE. *Posibilidades del empleo en formas farmacéuticas del extracto fluido y el aceite esencial de Melaleuca leucadendron, L.* [Tesis de Mastría]. Habana: Universidad de la Habana; 1997.
- Roig JT. *Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos*. La Habana: Editorial Seoane, Fernández y Cia; 1953. 1129p.
- Roig JT. *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1974. 1125p.
- Sachs J, Malaney P. The economic and social burden of malaria. *Nature* 2002; 415: 680-5.
- Schlichtherle M, Wahlgren M, Perlmann, Scherf A. *Methods in malaria research*. 3^{ra} ed. Virginia: Malaria Research and Reference Reagent Resource Center; 2000. 88p.
- Tagboto S, Townson S. Antiparasitic properties of medicinal plants and other naturally occurring products. *Adv Parasitol* 2001; 50:199-295.
- Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 1976;193:673-5.
- Victoria Amador MC. *Obtención y caracterización de los crudos de lactonas sesquiterpénicas del Parthenium hysterophorus Linn.* Estudios de toxicidad genética. [Trabajo de diploma]. Habana: Universidad de la Habana; 2000.
- Vikas Dhingra K, Vishweshwar R, Lakshmi Narasu M. Current status of artemisinin and its derivatives as antimalarial drugs. *Life Sci* 2000; 66:279-300.

Actividad antimalárica de plantas cubanas

Vonthron-Sénécheau C, Weniger B, Ovattara M, Tra Bi F, Kamenan A, Lobstein A, et al. In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of ethnobotanically selected Ivorian plants. *J Ethnopharmacol* 2003; 87:221-5.

Willcox ML, Cosentino MJ, Pink R, Bodeker G, Wayling S. Natural products for the treatment of tropical diseases. *Trends Parasitol* 2001; 17:58-60.

Wright CW. Traditional antimalarials and the development of novel antimalarial drugs. *J Ethnopharmacol* 2005; 100:67-71.

Zafar MM, Hamdard ME, Hameed A. Screening of *Artemisia absinthium* for antimalarial effects on *Plasmodium berghei* in mice: a preliminary report. *J Ethnopharmacol* 1990; 30:223-6.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.