

ACTIVIDAD ANTIPLASMODIAL DE EXTRACTOS DE LA PLANTA *Calophyllum lucidum* (CLUSIACEAE)

RESUMEN

En este trabajo se evaluó la actividad antiplasmodial *in vitro* en cultivos continuos de *P. falciparum* cepa FCB-2 de cuatro extractos de la planta *Calophyllum lucidum*, utilizando el método HRP-2. El extracto que mostró mayor actividad fue el de metanol con una inhibición máxima de 81% y una IC50 de 8,7 µg/mL, por lo cual se justifica seguir con el fraccionamiento y la búsqueda de metabolitos activos a partir de este extracto.

PALABRAS CLAVES: actividad antiplasmodial, *Calophyllum lucidum*, método HRP2, *Plasmodium falciparum*.

ABSTRACT

This study evaluated the in vitro antiplasmodial activity of four extracts from the plant Calophyllum lucidum, through HRP-2 assay. The MeOH extract showed the greatest activity with a maximal inhibition of 81% and an IC50 of 8.7 µg/mL. It is necessary to continue studying this extract searching the active metabolites.

KEYWORDS: antiplasmodial activity, *Calophyllum lucidum*, HRP2 assay, *Plasmodium falciparum*.

ANA MARIA MESA VANEGAS

Estudiante de Química
Grupo Malaria y Química de plantas.
Universidad de Antioquia
anammv@gmail.com

JAIRO SAEZ VEGA

Químico, *Ph.D.*
Jefe, Química de Plantas Colombianas
Profesor titular
Universidad de Antioquia
jaisav@matematicas.udea.edu.co

SILVIA BLAIR TRUJILLO

Médico y Cirujano, *M.Sc*
Profesor titular
Jefe Grupo Malaria
Universidad de Antioquia
sblair@carios.udea.edu.co

ELIANA ARANGO

Bacterióloga, *M.Sc*
Grupo Malaria
Universidad de Antioquia
emarango@gmail.com

1. INTRODUCCIÓN

Se estima que anualmente se producen en el mundo entre 300 y 500 millones de casos de malaria y más de un millón de muertes por esta causa [1]. En Colombia, el 85% del territorio presenta condiciones que favorecen la transmisión de la enfermedad y en el año 2005 se reportaron 107866 casos [2]. La quimioterapia es la principal herramienta para el control de la morbimortalidad por malaria y el estudio de las plantas ha jugado un papel fundamental en el desarrollo de los antimaláricos disponibles actualmente. La quinina, el antimalárico más antiguo, fue aislada de plantas del género *Cinchona* (Rubiaceae) [3] y a partir de la planta *Artemisia annua* (Asteraceae) se obtuvieron la artemisinina y sus derivados semisintéticos, conocidos como artemisininas y que son los antimaláricos más recientes [4]. Se han reportado cerca de 1277 especies de plantas de 160 familias que son empleadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la malaria, y muchas de ellas han sido utilizadas para la obtención de nuevas sustancias antimaláricas naturales. Estas son una fuente de posibles medicamentos que podrían reemplazar los fármacos actuales que han ido perdiendo su potencial activo debido a la resistencia del parásito [5].

El estudio de las plantas ha permitido descubrir una diversidad de compuestos orgánicos con actividad antimalárica como terpenos, alcaloides y heterociclos oxigenados, entre otros. En plantas de los géneros *Hypericum*, *Vismia* y *Garcinia* de la familia Clusiaceae se han encontrado compuestos con actividad antimalárica, como xantonas y derivados del acilfloroglucinol [6]. En la familia Clusiaceae, el género *Calophyllum* constituye un gran grupo de árboles tropicales que consta de 180 a 200 especies; muchas de ellas poseen propiedades medicinales y son empleadas para tratar enfermedades como úlceras gástricas, infecciones patológicas, procesos inflamatorios, entre otras. El género *Calophyllum* es una fuente potencial de metabolitos secundarios que incluye xantonas, esteroides, triterpenos, biflavonoides, piranocumarinas y benzopiranos [7].

En Colombia, la planta *Calophyllum lucidum* conocida vulgarmente como “cachicamo”, ha sido encontrada en la región de la Amazonía y en los departamentos de Vaupés y Cesar. Sobre esta especie, no existen reportes en la

literatura de estudios químicos ni de actividad biológica (Bases de datos: SCIFINDER SCHOLAR, PUBMED, CHEMWEB, 2007). En este trabajo se pretende evaluar la actividad antiplasmodial *in vitro* en cultivos continuos de *P. falciparum* cepa FCB-2 de diferentes extractos de la planta *C. lucidum* colectada en el departamento del Cesar (Colombia) con el fin de buscar nuevas alternativas promisorias contra este flagelo.

2. METODOLOGIA

Recolección del material vegetal y obtención de extractos.

El material vegetal se colectó en el Municipio San Alberto, situado en el departamento del Cesar, a 200 msnm a una temperatura media de 30°C. Un ejemplar de herbario se encuentra depositado en el Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe de Medellín bajo el número 7310A. Las hojas se secaron a temperatura ambiente durante 10 días, posteriormente se molieron (1.103 Kg) y se sometieron a un proceso de extracción por percolación hasta agotamiento empleado los siguientes solventes: éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo y metanol. Los extractos obtenidos se concentraron a presión reducida en un rotaevaporador y luego se monitorearon por cromatografía de capa delgada revelando las placas con una solución 1 al 5% de ácido sulfúrico en etanol y una solución 2 al 1% de Vainillina.

Ensayos de actividad antiplasmodial.

Se utilizó la técnica HRP-2, la cual se basa en determinar, mediante una prueba de ELISA, los niveles de la proteína rica en histidina II (HRP-2) como una medida del crecimiento de los parásitos después de ser sometidos a diferentes concentraciones de un compuesto [8].

Los ensayos se realizaron sobre la cepa FCB-2 de *Plasmodium falciparum* (resistente a cloroquina) mantenida en cultivo continuo con la metodología de Trager & Jensen [9]. Se evaluaron en total 7 concentraciones dobles seriadas de los cuatro extractos y de cada concentración se hicieron dos réplicas. Del control sin tratamiento se hicieron 10 réplicas en total. El resultado de actividad antiplasmodial se determinó mediante el cálculo del porcentaje de inhibición del crecimiento para cada concentración de compuesto, utilizando la siguiente fórmula [10]:

$$\% \text{ de inh} = \frac{\text{absorbancia del control} - \text{absorbancia del extracto}}{\text{absorbancia del control}} \times 100 \quad (1)$$

La concentración inhibitoria del 50% (IC50) se calculó con el programa PRISMA 4.0, haciendo una regresión no lineal entre el porcentaje de inhibición y el logaritmo de la concentración.

3. RESULTADOS

En la tabla 1 y en la figura 1 se muestra el porcentaje de inhibición obtenido con cada concentración de cada extracto y la IC50 calculada.

Concentración (µg/mL)	Eter	Dicloro	Etoac	MeOH
3,1	0,0	5,8	-3,3	-13,4
6,3	3,5	3,7	-9,0	11,2
12,5	6,2	-6,6	-8,5	28,3
25,0	9,4	24,0	-9,9	52,9
50,0	13,9	58,1	24,3	75,9
100,0	18,8	63,6	57,8	78,0
200,0	30,8	70,3	73,9	81,3
IC50 (µg/mL)	----	46,5	186,1	8,7

Tabla 1. Porcentaje de inhibición para cada concentración de extracto

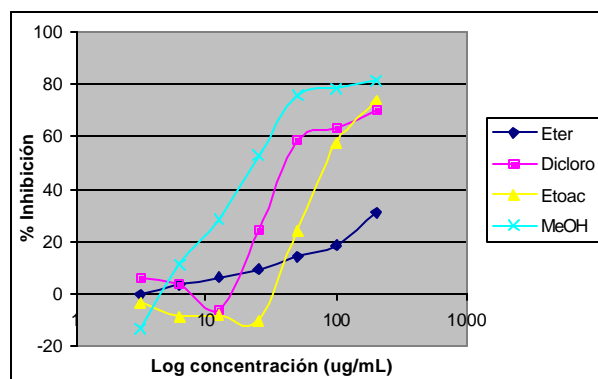


Figura 1. Relación dosis respuesta

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con todos los extractos se observó una adecuada relación dosis respuesta. La máxima inhibición obtenida con el extracto de eter de petróleo fue de 30%, por lo que no se pudo calcular una IC50. El extracto que mostró mayor actividad fue el de metanol con una inhibición máxima de 81% y una IC50 de 8,7 µg/mL, por lo cual se justifica seguir con el fraccionamiento y la búsqueda de metabolitos activos a partir de este extracto.

4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Organización Mundial de la Salud. 2006. Medicina tradicional. Informe de la Secretaría. 56ª Asamblea Mundial de la Salud.
- [2] Zambrano, P. (2006). Enfermedades Transmitidas por Vectores (ETV). Informe final de malaria,

- semanas 1 a 52 Colombia, 2005. Inf Quinc Epidemiol Nac 11, 49-64.
- [3] Brown, T. C. Smale, T. J. King, R. Hasenkamp, and R. H. Thompson. 1976. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1165-1170.
- [4] Tang and G. Eisenbrand, Eds., Chinese Drugs of Plant Origin, Springer-Verlag, Berlin, 1992, pp. 161-175.
- [5] Blair S, Correa A, Madrigal B, Zuluaga C, Franco H. 1991. Plantas antimaláricas, una revisión bibliográfica. Universidad de Antioquia, Medellín.
- [6] Schwikkard S, van Heerden F. 2002. Antimalarial activity of plant metabolites. Nat. Prod. Rep. 19:675-692.
- [7] Vânia Floriani Noldin, Daniela Buffon Isaias e Valdir Cechinel Filho. Calophyllum Genus: Chemical and pharmacological importance. Quim. Nova, Vol. 29, No. 3, 549-554, 2006.
- [8] Noeld H. Malaria drug sensivity testing. <http://malaria.farch.net>.
- [9] Trager & Jensen. J B. Human malaria. parasites in Continuous culture. Science 193:673-5,. 1976.
- [10] Deharo E, Gautret P, Muñoz V, Sauvain M. 2000. Técnicas de laboratorio para la selección de sustancias antimaláricas. Corporación Iberoamericana CYTED, Institut de recherche pour le développement IRD.