

Actividad antiplasmódica y hemolítica de extractos etanólicos y fracciones obtenidas de *Cecropia membranacea* Trécul. y *Cecropia metensis* Cuatrec. (sin. *Cecropia peltata* var. *candida* Velásquez)

Antiplasmodial and haemolytic activity of ethanolic extracts and fractions obtained from *Cecropia membranacea* Trécul. and *Cecropia metensis* Cuatrec. (syn. *Cecropia peltata* var. *candida* Velásquez)

MSc. Jorge Enrique Hernández Carvajal, Dra. Pilar Ester Luengas Caicedo, MSc. Vanessa Otero Jiménez, Dr. Giovanny Garavito Cárdenas

Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

RESUMEN

Introducción: el estudio de las plantas medicinales ha permitido el desarrollo de productos fitoterapéuticos y fármacos para el tratamiento de diferentes enfermedades, entre estas la malaria. En Brasil las plantas usadas en la medicina tradicional por sus antecedentes como febrifugos o antimaláricos incluyen *Cecropia hololeuca*, *Cecropia* sp., *Cecropia pachystachya* y *Cecropia glaziovii*. Aún no ha sido comprobada la actividad antimalárica de *Cecropia membranacea* y *Cecropia metensis*, especies distribuidas en América Central y América del Sur, incluida Colombia.

Objetivo: evaluar la actividad antiplasmódica frente a *Plasmodium falciparum* de extractos y fracciones de *Cecropia membranacea* y *Cecropia metensis*.

Métodos: a partir de las hojas con peciolo de las dos especies se prepararon extractos etanólicos utilizando el método de percolación, se llevó a cabo el fraccionamiento del extracto etanólico, de cada especie, utilizando un sistema de partición con solventes de diferente polaridad (éter de petróleo, acetato de etilo, n-butanol y agua). Con los extractos y fracciones obtenidas se realizó un estudio fitoquímico preliminar. La actividad de extractos y fracciones se evaluó *in vitro* frente a *Plasmodium falciparum* FCB-2 y se estudió la actividad hemolítica.

Resultados: las fracciones acetato de etilo de *Cecropia membranacea* (CI₅₀ 10,12 µg/mL) y *Cecropia metensis* (CI₅₀ 12,52 µg/mL) presentaron actividad antiplasmódica sin

generar daño a la membrana de la célula hospedera ($CH_{50} > 1\ 000\ \mu\text{g/mL}$). La evaluación fitoquímica evidenció en estas fracciones una mezcla de compuestos tipo esteroide, terpénico y flavonoide.

Conclusiones: las fracciones acetato de etilo de *Cecropia membranacea* y *Cecropia metensis* presentan actividad antiplasmodica promisorio, no asociada con propiedades líticas sobre las células eritrocitarias hospederas. Las dos especies son de interés para profundizar su estudio, en cuanto a la actividad antimalárica y composición fitoquímica.

Palabras clave: *Cecropia membranacea*, *Cecropia metensis*, actividad hemolítica, malaria, antimalárico.

ABSTRACT

Introduction: the study of medicinal plants has led to the development of phytotherapeutic products and drugs for the treatment of various diseases, including malaria. Among the plants used in Brazilian traditional medicine for their febrifuge and antimalarial effects are *Cecropia hololeuca*, *Cecropia* sp., *Cecropia pachystachya* and *Cecropia glaziovii*. The antimalarial activity of *Cecropia membranacea* and *Cecropia metensis* has not been demonstrated. These two species may be found in Central and South America, including Colombia.

Objective: evaluate the antiplasmodial activity of extracts and fractions of *Cecropia membranacea* and *Cecropia metensis* against *Plasmodium falciparum*.

Methods: ethanolic extracts were obtained from petiolate leaves of the two species using the percolation method. The ethanolic extract of each species was then fractionated, using a partition system based on solvents of varying polarity (petroleum ether, ethyl acetate, n-butanol and water). The extracts and fractions obtained underwent preliminary phytochemical examination. Extracts and fractions were evaluated for their *in vitro* antiplasmodial activity against *Plasmodium falciparum* FCB-2, as well as for their haemolytic activity.

Results: ethyl acetate fractions of *Cecropia membranacea* ($IC_{50}\ 10.12\ \mu\text{g/mL}$) and *Cecropia metensis* ($IC_{50}\ 12.52\ \mu\text{g/mL}$) showed antiplasmodial activity without damaging the host cell membrane ($HC_{50} > 1000\ \mu\text{g/mL}$). Phytochemical evaluation of these fractions revealed a mixture of steroid, terpene and flavonoid compounds.

Conclusions: ethyl acetate fractions of *Cecropia membranacea* and *Cecropia metensis* showed promising antiplasmodial activity, not associated to lytic properties, over erythrocyte host cells. The two species are good ground for further study of their antimalarial activity and phytochemical composition.

Key words: *Cecropia membranacea*, *Cecropia metensis*, haemolytic activity, malaria, antimalarial.

INTRODUCCIÓN

La malaria es una de las principales enfermedades parasitarias del trópico a la cual se le atribuye una importante tasa de morbilidad y mortalidad.¹ En 2010 se estimaron 216 millones de casos de malaria y 655 000 muertes. Es importante resaltar que aproximadamente 86 % de estas muertes en el mundo correspondieron a niños menores de 5 años de edad.²

La resistencia a los antimálaricos se ha propagado con gran rapidez y de manera global, minando los esfuerzos por erradicar o al menos controlar la enfermedad. Adicionalmente, otros instrumentos de control presentan limitaciones como la dificultad en el desarrollo de vacunas, la falta de nuevas sustancias eficaces en el tratamiento y los efectos adversos de los medicamentos existentes, lo cual hace evidente la necesidad de desarrollar nuevas herramientas terapéuticas para el tratamiento de esta enfermedad, que sean eficaces, seguras y asequibles a las poblaciones ubicadas en áreas endémicas.^{1,3,4}

En los países endémicos de malaria, que se caracterizan por su bajo ingreso *per cápita*, el acceso a los medicamentos antimaláricos es deficiente, consecuencia de lo cual muchos de los tratamientos se basan en el uso de remedios tradicionales a partir de plantas. El desarrollo histórico evidencia cómo los productos naturales de origen vegetal han desempeñado un papel protagónico como fuente de moléculas antimaláricas. Desde la quina que dio origen a la utilización de la quinina, hasta *Artemisia annua* que permitió la disponibilidad de artemisinina y, a partir de ella, de los fármacos que actualmente son empleados en el tratamiento de esta enfermedad.^{1,5}

Colombia es un país con zonas endémicas de malaria que en la última década, junto con Brasil y Guyana, han logrado pequeñas reducciones de esta enfermedad, inferior a 50 %.² Por otro lado, el país dispone de una alta diversidad biológica en cuanto a especies vegetales. Estos dos factores hacen altamente pertinente el desarrollo de investigaciones encaminadas a encontrar extractos, fracciones enriquecidas y fármacos antimaláricos a partir de plantas.⁶

En este trabajo se utilizaron dos especies de la familia Urticaceae:⁷ *C. metensis* (sin. *C. peltata* var. *candida* Velásquez) y *C. membranacea*, las cuales son conocidas en Colombia como yarumos. *C. metensis* es descrita como árboles terrestres, a veces con raíces zancudas. Ramas primarias por lo común pocas y con frecuencia formando una copa abierta con apariencia de candelabro. Corteza lisa y de color grisáceo muy pálido; estípulas grandes, completamente unidas y en apariencia solitarias. Hojas peltadas de peciolo largo blancuzcos, coriáceas, simples, dispuestas en espiral, con haz verde oscuro y envés blanco-tomentoso. Posee inflorescencias dispuestas en pares en las axilas de las hojas y el fruto es un aquenio pequeño, glabro.^{8,9} *C. membranacea*, corresponde a árboles entre 20 y 30 m de altura y raíces con apariencia de zancos. Presenta hojas peltadas cuyo diámetro puede alcanzar los 60-65 cm, con lóbulos de punta gruesa y roma. Las hojas son de color verde oscuro por el haz y verde claro por el envés. *C. membranacea* presenta en el tallo manchas blancas.^{10,11}

Reportes farmacológicos de *C. peltata* han indicado actividad cicatrizante del extracto etanólico de las hojas,¹² efecto hipoglicemiante del extracto acuoso y fracción butanólica de hojas, correlacionando esta actividad con la presencia de ácido clorogénico;¹³ actividad bactericida contra *Neisseria gonorrhoeae*.¹⁴ El cocimiento de los frutos de *C. peltata* administrado por ingestión oral, genera un efecto laxante.¹⁵ Para *C. membranacea* se ha reportado la actividad anticonvulsivante del extracto metanólico.¹⁶

Como una contribución a la identificación de especies promisorias para el desarrollo de medicamentos antimaláricos, en este trabajo de investigación se evaluó la actividad antiplasmódica de extractos y fracciones orgánicas obtenidas de *C. membranacea* y *C. metensis*.

La selección de estas especies nativas tuvo como base la existencia de reportes previos de actividad antimalárica para plantas del género *Cecropia*.^{17,18}

MÉTODOS

Colecta del material vegetal y preparación de los extractos

En concordancia con los reportes etnofarmacológicos previos^{17,18} se colectaron hojas con peciolo de dos especies del género *Cecropia*, en el Departamento del Meta-Colombia: *C. membranacea* (Cm) en el municipio de Villavicencio y *C. metensis* (Cmp) en el municipio de Puerto López. El material vegetal fue colectado durante el mes de octubre de 2009, época de lluvia. Un ejemplar de cada especie se clasificó taxonómicamente y se depositó en el Herbario Nacional Colombiano de la Universidad Nacional de Colombia con los códigos de identificación siguientes: *C. membranacea* (COL 546004) y *C. metensis* (COL 213003).

El material vegetal se seleccionó, retirándole el material extraño y en mal estado, se secó en estufa de aire circulante a 40 y 50 °C por 48 h y fue llevado a polvo, empleando un molino de cuchillas.

Del material vegetal se pesaron 1 250 g y se pusieron en contacto con 3 L de etanol 96 % durante 24 h. Posteriormente, el material "humedecido" se sometió a extracción por percolación con etanol 96 % hasta agotamiento, confirmado mediante cromatografía en capa delgada (CCD), empleando vainillina/H₃PO₄ como revelador. El extracto obtenido fue concentrado en rotavapor Büchi R-114, a una temperatura entre 38 y 40 °C y llevado a sequedad en baño de María, temperatura de 35 a 40 °C durante un tiempo de 6 a 8 h; finalmente se colocó en estufa de secado al vacío a 40 °C durante 24 h, para eliminar los residuos de solvente y humedad.

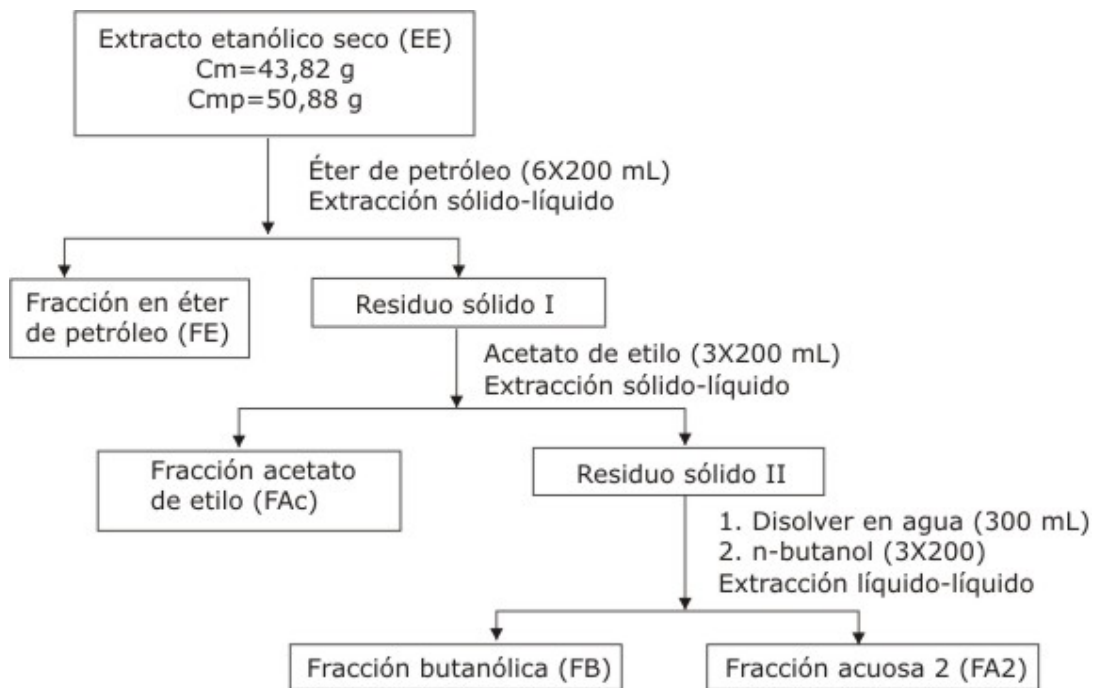


Fig. Fraccionamiento del extracto etanólico de las hojas con peciolo de *Cecropia membranacea* y *Cecropia metensis*.

Se realizó el fraccionamiento del extracto etanólico (EE) de las dos especies vegetales utilizando un sistema de partición con solventes de polaridad creciente (éter de petróleo, acetato de etilo, n-butanol y agua) y técnicas de separación sólido-líquido y líquido-líquido, hasta agotamiento de la matriz en cada paso (Fig.). Las fracciones se llevaron a sequedad siguiendo el procedimiento descrito antes para los extractos.

Estudio fitoquímico

En el estudio fitoquímico preliminar de los extractos etanólicos se emplearon pruebas de tubo y CCD con sílica gel GF 254 (Merck®) (tabla 1). Las pruebas fitoquímicas realizadas a cada fracción se seleccionaron tomando como base la polaridad de la fracción y las clases de metabolitos secundarios detectados en los extractos. Se empleó CCD, fases móviles y reactivos de pulverización adecuados para cada caso.¹⁹

Tabla 1. Ensayos realizados en el estudio fitoquímico preliminar de los extractos etanólicos

Clases de metabolitos secundarios	Fase móvil/prueba de tubo	Revelador para cromatografía de capa delgada /prueba de tubo	Compuesto de referencia
Alcaloides	cloroformo:metanol (18:2), gotas de amoniaco	<i>Dragendorff</i>	Atropina
	Prueba de tubo	<i>Dragendorff</i> <i>Mayer</i> <i>Valser</i> Reineckato de amonio	Fracción alcaloidal de yagé
Esteroides/ Triterpenoides	éter de petróleo: acetato de etilo (8:2)	<i>Liebermann-Burchard</i>	Lupeol
Naftoquinonas/ Antraquinonas	tolueno:acetato de etilo: ácido acético (75:24:1)	KOH 10 % en etanol	Alizarina
Glicósidos cardiotónicos	cloroformo:acetona (9:1)	Vainillina 1 % - ácido o-fosfórico 10 %/ reactivo de <i>Kedde</i>	Digitoxina
Lactonas terpénicas	cloroformo:acetona (9:1)	Vainillina 1 % - ácido o-fosfórico 10 % / FeCl ₃ -HCl 2N	Umbeliferona
Cumarinas	Cloroformo	Vainillina 1 % - ácido o-fosfórico 10 %/ FeCl ₃ -HCl 2N	Umbeliferona
Flavonoides	Acetato de etilo: ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:27).	NP-PEG	Rutina
Taninos	tolueno-BuOH-AcOH-H ₂ O (50:25:25:5)	Ferricianuro de potasio 1 % - cloruro férrico 2 %. (1:1).	Ácido tánico
Flavonoides	Pruebas de tubo	<i>Shinoda</i> , HCl y calentamiento, FeCl ₃	Rutina
Proantocianidinas		Butanol/HCl (95:5), baño de maría	
Taninos		Gelatina-sal/urea/FeCl ₃	
Saponinas		Prueba de la espuma Agitación	
		Hemólisis	Digitonina

Actividad antiplasmodica in vitro

La cepa colombiana FCB-2, cloroquina resistente, de *P. falciparum*,^{6,20,21} fue mantenida en cultivo en medio RPMI 1640, enriquecido con glucosa y suplementado con hipoxantina 11,1 mg/mL y suero humano inactivado al 10 %; e incubada a 37 °C en atmosfera de CO₂ 5 %, de acuerdo con lo descrito por *Trager y Jensen*.²² El cultivo de *P. falciparum* se acondicionó con una parasitemia de 2 %. El estudio de actividad *in vitro* fue adaptado de la técnica de microdilución descrita por *Desjardins* y otros,²³ y cuyo protocolo fue previamente adaptado por *Deharo*.²⁴ Los extractos y las fracciones se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) y se diluyeron en medio *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) a una concentración final en placa entre 0,1 y 50 µg/mL; la concentración final de DMSO fue siempre inferior a 0,1 %. La parasitemia se cuantificó por microscopia. Cada muestra se evaluó por triplicado en sus diferentes concentraciones. Los resultados se expresaron como la concentración inhibitoria 50 % (CI₅₀) estimados en un modelo de regresión logística concentración-respuesta (Microsoft Excel®, 2007).

Ensayo de actividad hemolítica

Se realizó una adaptación del protocolo descrito por *Rocha* y otros,²⁵ las muestras se diluyeron en tampón fosfato salino (PBS) adicionando DMSO (máximo 25 %), se evaluaron 7 diluciones (desde 0,001 hasta 1 000 µg/mL). Los glóbulos rojos (GR) recuperados a partir de sangre fresca, obtenida de donadores voluntarios sanos y colectada en tampón de citrato de sodio, se lavaron 3 veces con solución salina y se resuspendieron en PBS (pH 7,0). Se adicionaron a cada pozo, de una placa de 96 pozos, 100 µL de la muestra, más 100 µL de una suspensión de GR con hematocrito al 2 %. La placa fue incubada a 37 °C durante 1 h, transcurrido este tiempo se centrifugó a 17 066 *g* por 10 min y la hemoglobina en el sobrenadante se cuantificó con un espectrofotómetro a 418 nm. Las muestras fueron evaluadas por triplicado y se realizaron 3 experimentos independientes. Se utilizó PBS como control negativo de hemolisis y Triton X-100® de control positivo. La concentración hemolítica 50 (CH₅₀) se calculó empleando un modelo de regresión logística concentración-respuesta.

RESULTADOS

El estudio fitoquímico preliminar realizado al extracto etanólico de las hojas con peciolo de *C. membranacea* y *C. metensis* permitió constatar la presencia, en ambas especies de la misma clase de metabolitos secundarios ([tabla 2](#)).

Para el caso de las fracciones ([tabla 3](#)), el rendimiento obtenido para cada fracción se calculó en relación con el peso del extracto etanólico seco de partida, 50,88 y 43,82 g para *C. membranacea* y *C. metensis*, respectivamente. El mayor porcentaje en la extracción se observó, en las fracciones de polaridades extremas (fracciones éter de petróleo [FE] y acuosa [FA2]). El estudio fitoquímico preliminar de las fracciones permitió establecer la presencia del mismo tipo de metabolitos secundarios: flavonoides, taninos, esteroides y terpenos en las dos especies estudiadas ([tabla 3](#)).

Tabla 2. Resultado del estudio fitoquímico para el extracto etanólico de *Cecropia membranacea* y *Cecropia metensis*

Clases de metabolitos presentes	<i>Cecropia membranacea</i>	<i>Cecropia metensis</i>
Flavonoides	++	++
Taninos	++	++
Esteroides/Triterpenoides	++	++
Alcaloides	-	-
Naftoquinonas/Antraquinonas	-	-
Saponinas	-	-
Glicósidos cardiotónicos	-	-
Cumarinas	-	-
Lactonas terpénicas	-	-

++: abundante, -: ausente.

Tabla 3. Conocimientos que poseen los jefes de familia de la comunidad Copey-El Guayabillo, 2012

Conocimiento sobre	n	%	IC
Vector			
Sí	30	83,33	67,18-93,62
No	6	16,67	3,10-30,22
El vector es un problema			
Sí	31	86,11	70,50-95,33
No	1	2,78	0,07-14,52
No sabe	1	2,78	0,07-14,52
No contestó	3	8,33	1,75-22,46
La enfermedad de Chagas			
Sí	22	61,11	43,79-78,42
No	14	38,89	21,57-56,20
Daños del Chagas			
Sí	18	50,00	32,27-67,72
No	18	50,00	32,27-67,72
Conoce enfermos en la comunidad			
Sí	24	66,67	49,87-83,45
No	12	33,33	16,54-50,12
La enfermedad es un problema			
Sí	30	83,33	67,18-93,62
No	3	8,33	1,75-22,46
No contestó	3	8,33	1,75-22,46

Los resultados de actividad antiplasmodica para los extractos y fracciones evaluados en este estudio se reportan en la tabla 4. El nivel de actividad obtenido se clasificó tomando como base los criterios armonizados por *The Research Initiative on Traditional Antimalarial Methods* (RITAM)²⁶ y la propuesta de Inbaneson y otros.²⁷

Tabla 4. Actividad antiplasmodica de los extractos y fracciones frente a *Plasmodium falciparum* cepa FCB-2

Especie	Extracto/Fracción	*Actividad antiplasmodica CI ₅₀ (µg/mL)	Clasificación actividad antiplasmodica -RITAM**	Actividad hemolítica CH ₅₀ (µg/mL)***
<i>Cecropia membranacea</i>	CmEE	> 50	Débil actividad	> 1 000
	CmFE	> 50	Débil actividad	922,51 +/- 51,78
	CmFAc	10,12	Buena actividad	> 1 000
	CmFB	40,07	Moderada actividad	> 1 000
	CmFA2	47,66	Moderada actividad	> 1 000
<i>Cecropia metensis</i>	CmpEE	> 50	Débil actividad	> 1 000
	CmpFE	47,97	Moderada actividad	996,76 ± 42,41
	CmpFAc	12,52	Buena actividad	> 1 000
	CmpFB	42,50	Moderada actividad	> 1 000
	CmpFA2	> 50	Débil actividad	> 1 000
Cloroquina		1,48	-	> 1 000

*: ensayo independiente único, con tres réplicas, **: *Research Initiative on Traditional Antimalarial Methods*, ***: promedio ± EEM (error estándar de la media).

Los extractos etanólicos presentaron CI₅₀ mayores que 50 µg/mL con lo cual su nivel de actividad fue clasificado como débilmente activo, igual comportamiento se apreció en las fracciones CmFE y CmpFA2. Las fracciones CmFB, CmFA2, CmpFE y CmpFB se ubicaron en un nivel de moderada actividad (2650 µg/mL). Las fracciones acetato de etilo de *C. membranacea* y *C. metensis* presentaron la mejor actividad, permitiendo ser clasificadas en un nivel de buena actividad (10,0-25,0 µg/mL).

En la prueba de actividad hemolítica las fracciones en éter de petróleo de *C. membranacea* y *C. metensis* presentaron CH₅₀ de 922,51 ± 51,78 y 996,76 ± 42,41 µg/mL, respectivamente. Los extractos etanólicos y sus fracciones presentan CH₅₀ > 1 000 µg/mL.

DISCUSIÓN

Las plantas medicinales han desempeñado un papel protagónico como fuente de la mayor parte de los fármacos utilizados actualmente en el tratamiento de la malaria, de las 15 moléculas más recomendadas por la OMS, 2 son fitofármacos (quinina y quinidina), 4 corresponden a compuestos derivados de la quinina (amodiaquina, cloroquina, mefloquina y primaquina) y 5 son compuestos sintéticos o diseñados a partir de otros núcleos de origen vegetal (artemeter y artesunato de artemisinina, atovaquona de lapachol, doxiciclina y tetraciclina de especies de *Streptomyces*). Así, 11 de 15 sustancias tienen una relación con los productos naturales.²⁸ Durante las últimas tres décadas se han evaluado *in vitro* e *in vivo* diversos extractos de plantas usadas en la medicina tradicional para tratar la malaria, de estos estudios han surgido moléculas con alta selectividad frente a *P. falciparum* como es el caso de glaucarubinona y cryptolepina, obtenidas a partir de *Simarouba amara* y *Cryptolepis sanguinolenta* respectivamente;²⁹ sin embargo, al ser evaluadas *in vivo* en roedores infectados, estas sustancias mostraron ser tóxicas, lo que ha llevado a la síntesis de análogos buscando retener o mejorar su actividad antiplasmodial y reducir su toxicidad, lo cual parece haberse logrado con el 2,7-dibromocryptolepina. Lo mencionado antes hace pertinente continuar la búsqueda, a partir de extractos vegetales, de sustancias de baja toxicidad y alta actividad antimalárica que puedan ser candidatos a fármacos. Las especies del género *Cecropia* han sido reportadas en la medicina tradicional en Centro y Sur América como febrífugas,³⁰ signo asociado con los síntomas de la malaria.

Se evidenció que los extractos etanólicos de *C. membranacea* y *C. metensis* presentaron débil actividad antiplasmodica, resultado similar a lo reportado por otros autores utilizando *C. peltata*^{30,31} en ensayos *in vitro*, lo cual puede estar relacionado con la complejidad y baja concentración en los extractos, de las moléculas que generan la actividad biológica. Otra de las razones que puede explicar este resultado frente al reportado en la medicina tradicional es la variabilidad en la composición, asociada con la época y el lugar de colecta del material vegetal.^{32,33}

La actividad encontrada en los ensayos *in vitro* para la fracción etérea de *C. metensis* (CmpFe) CI_{50} 47.97 $\mu\text{g/mL}$ es comparable con el resultado de buena actividad en ensayos *in vitro* para ácido tormentico, compuesto obtenido a partir de la fracción hexánica de *C. pachystachya*, con el cual se obtuvo un porcentaje de inhibición de 100 % a una concentración de 50 $\mu\text{g/mL}$.¹⁸ La fracción CmpFe presentó una CH_{50} de $996,76 \pm 42,41$ $\mu\text{g/mL}$, más de 20 veces superior a su CI_{50} , evidenciando que su mecanismo de acción no afecta la membrana del eritrocito.^{34,35} En el caso de *C. membranacea*, la $CI_{50} > 50$ $\mu\text{g/mL}$ puede estar relacionada con el tipo de ensayo biológico, porque algunas sustancias se pueden comportar como profármacos, las cuales adquieren su forma activa por la acción metabólica en el animal íntegro;^{12,17} la CH_{50} de $922,51 \pm 51,78$ $\mu\text{g/mL}$ es similar a la presentada para la fracción etérea de *C. metensis*, siendo aplicables las consideraciones presentadas anteriormente. La actividad que presentaron estas fracciones aún complejas, se puede asociar con la actividad antimalárica reportada por Texeira y otros¹⁸ utilizando *C. pachystachya*, en la cual se presentaron compuestos esteroidales y triterpenos, como el β -sitosterol y ácido torméntico, respectivamente, compuestos que fueron evidenciados en la presente investigación. El nivel de actividad puede aumentar con el fraccionamiento bioguiado que da origen a fracciones enriquecidas en algunas clases de metabolitos o a sustancias puras, como se reportó para *C. pachystachya*.¹⁸

Algunas plantas con reportes etnofarmacológicos en el tratamiento de la malaria y que tenían su actividad antimalárica confirmada por observaciones clínicas mostraron débil actividad o ausencia de actividad frente a *Plasmodium* sp. en

ensayos *in vitro* como es el de *Mikania glomerata*, *Melampodium divaricatum* y *Galipea multiflora*,¹⁷ por lo que no es conveniente desestimar la actividad antimalárica de plantas utilizadas tradicionalmente, basándose solo en una baja actividad *in vitro* contra *Plasmodium* sp.

Las fracciones de mayor polaridad CmFB, CmFA2 y CmpFB se ubicaron en un nivel de moderada actividad. A pesar de que en especies del género *Cecropia* no se han reportado previamente fracciones polares con actividad antiplasmodica, esta actividad puede estar asociada a la presencia de metabolitos tipo flavonoide y taninos, detectados en este trabajo. En plantas como *Artemisia indica*, *Siparuna andina*, *Vriesea sanguinolenta* y *Andira inermis* se han reportado flavonoides tipo flavanona, hidroxiflavanona e isoflavonas con actividad antiplasmodica *in vitro*.³⁶

La fracción acetato de etilo de ambas especies, *C. metensis* y *C. membranacea*, presentó la mejor actividad antiplasmodica, de moderada a buena, sin mostrar hemólisis significativa en concentraciones de hasta 1 000 mg/mL, lo cual descarta que su actividad sea indirecta, derivada de daños a la membrana de la célula hospedera.^{34,35}

Las fracciones acetato de etilo presentaron compuestos del tipo esteroides, terpenos y flavonoides, que pueden contribuir con la actividad antiplasmodica observada. Se han obtenido compuestos tipo flavonoide a partir de la fracción acetato de etilo de algunas especies vegetales con actividad antiparasitaria *in vitro* frente a *P. falciparum*.³⁷⁻⁴¹ Esta es la primera vez que se reporta la actividad antimalárica de la fracción acetato de etilo de una especie del género *Cecropia*.

A pesar de que en las fracciones butanólicas y acetato de etilo se detectó la presencia de flavonoides, la diferencia en la actividad antiplasmodial puede estar relacionada con el tipo de flavonoide presente en cada fracción. En la fracción acetato de etilo se pueden encontrar flavonoides de mediana a baja polaridad y flavonoides polares en la fracción butanólica como vitexina, isoorientina y rutina.^{19,42} Además, en la fracción acetato de etilo se presentan otros compuestos tipo esteroides y terpenos que pueden contribuir con la actividad.

La actividad de las fracciones acetato de etilo, CmFAc y CmpFAc, fue respectivamente 7 y 8,5 veces menor que la presentada para la cloroquina. Teniendo en cuenta que la fracción es un sistema multicomponente y que está siendo desafiada frente a un compuesto puro, este resultado evidencia que esas fracciones son promisorias para continuar el estudio de su actividad antimalárica.

C. membranacea y *C. metensis* presentaron amplia semejanza en cuanto los tipos de metabolitos secundarios detectados mediante el estudio fitoquímico preliminar, entre ellos terpenos y esteroides, flavonoides y taninos. Destaca la actividad antiplasmodica de la fracción acetato de etilo en las dos especies, sin generar lisis de las células eritrocitarias. Estas especies se pueden considerar promisorias para continuar su estudio en cuanto a actividad antimalárica y composición fitoquímica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Muthaura CN, Rukunga GM, Chhabra SC, Omar SA, Guantai AN, Gathirwa JW, et al. Antimalarial activity of some plants traditionally used in treatment of malaria in Kwale district of Kenya. J Ethnopharmacol. 2007;112:545-51.

2. World Health Organization [Internet]. World Malaria Report 2011. Geneva: WHO Press [citado 27 Feb 2013]. Available at: <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241564403/en/>
3. Nathan SS, Kalaivani K, Murugan K. Effects of Neem limonoids on the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: culicidae). Acta Trop. 2005; 96: 47-55.
4. World Health Organization [Internet]. WHO Media centre [citado: 27 Feb 2013]. Disponible en: <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/index.html>
5. Valadeau C, Pabon A, Deharo E, Albán-Castillo J, Estevez Y, Lores FA, et al. Medicinal plants from the Yanasha (Peru): Evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. J Ethnopharmacol. 2009; 123: 413-22.
6. Garavito G, Rincón J, Arteaga L, Hata Y, Bourdy G, Gimenez A, et al. Antimalarial activity of some Colombian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2006; 107: 460-2.
7. Tropicos.Org. Missouri Botanical Garden [Internet]. Familia Urticaceae [citado 25 Sep 2013]. Disponible en: <http://www.tropicos.org>
8. Carvajal S, Gonzáles LM. La familia Cecropiaceae en el estado de Jalisco, México. [Internet]. México: Universidad de Guadalajara; 2005 [citado 6 Jun 2010]. Disponible en: http://cucba.udg.mx/publicaciones1/flora_de_jalisco/CFJ_19_Cecropiaceae.pdf
9. Sanchez MJ. Arboles ornamentales [Internet]. España: Flora ornamental Española; 2008 [citado 06 de Jun 2010]. Disponible en: <http://www.arbolesornamentales.es/index.htm>
10. Lamotte S. Essai d'interprétation dynamique des végétations en milieu tropical inondable [Internet]. Francia: Académie de Montpellier. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Montpellier II; 1992 [citado 10 Abr 2011]. Disponible en: http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_6/TDM/38710.pdf
11. Spichiger R, Meróz J, Loizeau P, Ortega L. Contribución a la flora de la Amazonía Peruana. [Internet]. Perú: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana; 1989. [citado 18 Nov 2011]. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacio/L004.pdf>
12. Nayak BS. *Cecropia peltata* L. (Cecropiaceae) has wound-healing potential: a preclinical study in a Sprague Dawley rat model. Int J Low Extrem Wounds. 2006 Mar; 5(1): 20-6.
13. Andrade-Cetto A, Vázquez RC. Gluconeogenesis inhibition and phytochemical composition of two *Cecropia* species. J Ethnopharmacol. 2010; 130: 93-7.
14. Cáceres A, Menéndez H, Méndez E, Cohobón E, Samayoa BE, Jauregui E, et al. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. J Ethnopharmacol. 1995; 48: 85-8.
15. Cano JH, Volpato G. Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. J Ethnopharmacol. 2004; 90: 293-316.
16. Jaramillo DA, Rincón J, Guerrero MF. Actividad tipo anti-ausencia del extracto metanólico de *Cecropia membranacea* Trécul en ratones. VITAE. 2008; 15: 267-73.

17. Botsaris AS. Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: the archives of Flora Medicinal. J Ethnobiol Ethnomed. 2007 May;3(18):1-8.
18. Teixeira U, De Paula RC, Krettli LG, Goulart EA, Krettli AU. Antimalarial activity of compounds and mixed fractions of *Cecropia pachystachya*. Drug Dev Res. 2010 Feb;71(1):82-91.
19. Hernández CJ. Análisis fitoquímico y de actividad antimalárica de dos especies del género *Cecropia*. Bogotá-Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 2012.
20. Espinal C, Moreno E, Guerra P, Vega P. Aislamiento y caracterización de cepas colombianas de *Plasmodium falciparum*. Biomedica. 1982;2:118-28.
21. Arango E, Carmona-Fonseca J, Blair S. *In vitro* susceptibility of Colombian *Plasmodium falciparum* isolates to different antimalarial drugs. Biomedica. 2008;28:213-23.
22. Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture. Science. 1976 Aug 20;193(4254):673-5.
23. Desjardins RE, Canfield CJ, Haynes JD, Chulay JD. Quantitative assessment of antimalarial activity *in vitro* by a semiautomated microdilution technique. Antimicrob Agents Chemother. 1979 Dec;16(6):710-8.
24. Deharo E, Gautret P, Mufioz V, Sauvain M. Técnicas de laboratorio para la selección de sustancias antimaláricas. La Paz: CYTED IRD, 2000. p. 24-80.
25. Rocha TD, De Brum Vieira P, Gnoatto SC, Tasca T, Gosmann G. Anti-Trichomonas vaginalis activity of saponins from Quillaja, Passiflora, and Ilex species. Parasitol Res. 2012 Jun;110(6):2551-6.
26. Willcox M, Bodeker G, Rasoanavio P. Traditional medicinal plants and malaria. Paris: Editorial CRC PRESS; 2004.
27. Inbaneson SJ, Sundaram R, Suganthi P. *In vitro* antiplasmodial effect of ethanolic extracts of traditional medicinal plant *Ocimum* species against *Plasmodium falciparum*. Asian Pac J Trop Med. 2012 Feb;5(2):103-6.
28. Bourdy G, Willcox ML, Ginsburg H, Rasoanaivo P, Graz B, Deharo E. Ethnopharmacology and malaria: new hypothetical leads or old efficient antimalarials? Int J Parasitol. 2008 Jan;38(1):33-41.
29. Wright CW. Traditional antimalarials and the development of novel antimalarial drugs. J Ethnopharmacol. 2005;100:67-71.
30. Jenett-Siems K, Mockenhaupt FP, Bienzle U, Gupta MP, Eich E. *In vitro* antiplasmodial activity of Central American medicinal plants. Trop Med Int Health. 1999 Sep;4(9):611-5.
31. Fernández A, Valdés C, Mendioloa J, Acuña D, Caballero Y, Scull R, et al. Actividad antimalárica y citotoxicidad de extractos hidroalcohólicos de seis especies de plantas usadas en la medicina tradicional cubana. Rev Cubana Med Trop. 2011;63:52-7.
32. Luengas-Caicedo PE, Braga FC, Brandão GC, Oliveira AB. Seasonal and intraspecific variation of flavonoids and proanthocyanidins in *Cecropia glaziovii*

Sneth. leaves from native and cultivated specimens. Z. Naturforsch. 2007; 62c(9/10): 701-9.

33. Andrade-Cetto A, Cardenas R, Ramírez-Reyes B. Hypoglycemic effect of *Cecropia peltata* on N5-STZ type 2 diabetic rats. Pharmacologyonline [Internet] 2007. [Citado 6 Mayo 2012]; [aprox. 8 p.]. Disponible en: http://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2007/vol3/16_Andrade-Cetto.pdf

34. Kwiecinski MR, Felipe KB, Schoenfelder T, de Lemos Wiese LP, Rossi MH, Gonçalves E, et al. Study of the antitumor potential of *Bidens pilosa* (Asteraceae) used in Brazilian folk medicine. J Ethnopharmacol. 2008; 117: 69-75.

35. Ifeoma O, Samuel O, Itohan AM, Adeola SO. Isolation, fractionation and evaluation of the antiplasmodial properties of *Phyllanthus niruri* resident in its chloroform fraction. Asian Pac J Trop Med. 2013 Mar; 6(3): 169-75.

36. Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R. Antimalarials from nature. Bioorg Med Chem. 2009; 17: 3229-56.

37. Adams M, Plitzko I, Kaiser M. HPLC-profiling for antiplasmodial compounds -3-methoxycarpachromene from *Pistacia atlantica*. Phytochem Lett. 2009; 2: 159-62.

38. Abourashed EA, Toyang NJ, Choinsk J, Khan IA. Two new flavone glycosides from *Paullinia pinnata*. J Nat Prod. 1999; 62: 1179-81.

39. Dhooghe L, Maregesi S, Mincheva I, Ferreira D, Marais JP, Lemièrre F, et al. Antiplasmodial activity of (I-3,II-3)-biflavonoids and other constituents from *Ormocarpum kirkii*. Phytochemistry. 2010; 71: 785-91.

40. Torres-Mendoza D, González J, Ortega-Barría E, Heller MV, Capson TL, McPhail K, et al. Weakly Antimalarial flavonol arabinofuranosides from *Calycolpus warszewiczianus*. J Nat Prod. 2006; 69: 826-8.

41. Tona L, Cimanga RK, Mesia K, Musuamba CT, Bruyne T, Apers S, et al. *In vitro* antiplasmodial activity of extracts and fractions from seven medicinal plants used in the Democratic Republic of Congo. J Ethnopharmacol. 2004; 93: 27-32.

42. Tanae MM, Lima-Landman MT, De Lima TC, Souccar C, Lapa AJ. Chemical standardization of the aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth endowed with antihypertensive, bronchodilator, antiacid secretion and antidepressant-like activities. Phytomedicine. 2007 May; 14(5): 309-13.

Recibido: 22 de julio de 2013.

Aprobado: 28 de octubre de 2013.

Pilar Ester Luengas Caicedo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. Carrera 30 No. 45-03. Edificio 450. Conmutador (57-1) 3165000 Ext. 14640, 14671. Ciudad Universitaria. Bogotá D.C., Colombia. Correo electrónico: peluengasc@unal.edu.co
