

---

---

# Actividad Leishmanicida y Tripanocida de algunas plantas reportadas como medicinales en Colombia

---

**RUIZ, P. Grace** <sup>1\*</sup>  
**GARAVITO, Giovanni** <sup>2\*\*</sup>  
**ACEBEY, C. Lucía** <sup>3\*</sup>  
**ARTEAGA, Lucía** <sup>4\*\*</sup>  
**PINZON, Roberto** <sup>5\*\*</sup>  
**GIMENEZ, T. Alberto** <sup>6\*</sup>

- 1 Licenciada en Bioquímica
- 2 Licenciado en Bioquímica
- 3 Licenciada en Biología
- 4 Licenciada en Bioquímica
- 5 Ph.D.
- 6 Ph.D.

E-mail:  
gracerfm@hotmail.com

\* Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés, Av. Saavedra 2224, La Paz - Bolivia

\*\*Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, A.A. 14490, Bogotá D.C., Colombia.

---

## PALABRAS CLAVE

Leishmaniasis, Tripanosomiasis, Especies vegetales, Antiparasitarios.

## KEY WORDS

Leishmaniasis, Trypanosomiasis, Vegetal species, Antiparasitics.

## RESUMEN

Ocho extractos crudos y dos fracciones de alcaloides obtenidos de siete especies vegetales provenientes de la flora Colombiana, (*Abuta grandifolia*, *Piper holtonii*, *Acnistus arborescens*, *Croton leptostachys*, *Piper cumanense*, *Acacia farnesiana* y *Xilopia aromática*) fueron evaluadas *in vitro* frente a tres especies de *Leishmania* (promastigotes): *Leishmania amazonensis*, *Leishmania donovanni* y *Leishmania braziliensis* y epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* (Tulahuen); dos de estas especies (*Acnistus arborescens* y *Piper cumanense*) mostraron alta actividad en los ensayos realizados con valores de concentración inhibitoria 50 (CI<sub>50</sub>) menores de 12.5 µg/mL; cercanos a los obtenidos con el fármaco de referencia pentamidina 10 µg/mL.

## ABSTRACT

Eight crude extracts and two alkaloids fractions from seven Colombian vegetal species, (*Abuta grandifolia*, *Piper holtonii*, *Acnistus arborescens*, *Croton leptostachys*, *Piper cumanense*, *Acacia farnesiana* and *Xilopia aromática*) were evaluated *in vitro* against tree leishmania species (promastigote stage): *Leishmania amazonensis*, *Leishmania donovanni* and *Leishmania braziliensis* and epimastigote stage from *Trypanosoma cruzi* (Tulahuen). Two species (*Acnistus arborescens* and *Piper cumanense*) presented high activity in the assays with inhibitory concentration 50 (IC<sub>50</sub>) lower that 12.5 µg/mL; closed to obtained with pentamidine 10 µg/mL. as reference drug.

## INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis es una enfermedad que afecta 88 países en cuatro continentes; la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que 350 millones de personas están en riesgo de infección y 12 millones de personas son infectadas anualmente.

La leishmaniasis es el resultado de la infección causada por una especie de protozoo del género *Leishmania*, transmitido al huésped vertebrado a través de la picadura de un insecto del género *Phlebotomus*. Esta afección puede presentarse bajo las formas cutánea, mucocutánea, cutánea difusa y visceral, siendo esta última la más severa, causada por *L. donovani* y fatal si no responde al tratamiento <sup>(1)</sup>.

Los parásitos de la *Leishmania* existen como formas flagelares extracelulares (promastigotes) en sus vectores *flebotominos* (mosquitos), el hospedero puede ser infectado cuando el vector hematófago se alimenta de sangre inyectando con la saliva los parásitos a través de la picadura. En los hospederos mamíferos los parásitos son transformados a formas intracelulares (amastigotes) dentro del fagolisosoma de los macrófagos <sup>(1)</sup>.

En zonas tropicales y subtropicales, que son regiones endémicas para esta afección, se ha venido presentando resistencia por parte del parásito a los tratamientos tradicionales, esto ha llevado al empleo de fármacos más tóxicos para el paciente como la anfotericina B; así mismo los fármacos disponibles son costosos y requieren largos regímenes de tratamiento lo que hace necesario el desarrollo de nuevas herramientas terapéuticas para el tratamiento de esta enfermedad <sup>(1)</sup>.

La técnica *in vitro* en la investigación de sustancias leishmanicidas sobre la forma promastigote tiene la capacidad de generar información confiable con el empleo de cantidades pequeñas de extracto o fracción a evaluar, además permiten la medición de la actividad intrínseca leishmanicida, sin la intervención de factores del hospedador, con una mayor exactitud lo cual generalmente no es posible con modelos farmacológicos *in vivo*; este modelo permite además la evaluación de un mayor número de compuestos por experimento, comparado con la forma amastigote intracelular (método *in vivo*) que demanda en ocasiones meses de duración.

La Enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana

es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* y transmitido por un insecto hematófago del género *triatoma*. En América Latina más de 10 millones de personas son infectadas y alrededor de 600.000 personas presentan los síntomas característicos de la etapa crónica de la enfermedad, generando aproximadamente 17.000 muertes por año.

Son pocos los medicamentos disponibles en forma comercial para el tratamiento de esta enfermedad, los cuales en muchos casos no son suficientemente efectivos y presentan efectos secundarios serios que incluyen toxicidad cardíaca o renal <sup>(2)</sup>.

Es prioritario, para el control de estas enfermedades, el desarrollo de fármacos leishmanicidas y tripanocidas que presenten baja toxicidad y buena selectividad, razón por la cual se requieren estudios de investigación para la búsqueda de nuevos agentes quimioterapéuticos y quimioproliféricos a través de pruebas biológicas *in vitro* e *in vivo* sobre extractos y moléculas puras de origen natural.

Las especies vegetales utilizadas en el presente estudio pertenecen a plantas tropicales colombianas que son reportadas en la literatura como utilizadas para el tratamiento de diversas enfermedades. Tabla 1; estas plantas están siendo estudiadas fitoquímicamente y se están utilizando para la evaluación de otros tipos de actividades farmacológicas.

En el presente trabajo se encontraron extractos prometedores con actividad leishmanicida y tripanocida

**TABLA 1**  
**Especies estudiadas (3)**

<b>Nombre científico</b>	<b>Nombre vulgar</b>	<b>Parte usada</b>	<b>Uso etnomédico</b>
<i>Croton leptostachys</i> (Euphorbiaceae)	Mosquero, mosquerito	Partes aéreas	Febrífugo y antipalúdico
<i>Acnistus arborescens</i> (Solanaceae)	tomatoquina, tabalque o fruto de gatillo	Partes aéreas	Contusiones y torceduras o esguinces, febrífugo
<i>Piper cumanense</i> (Piperaceae)	Cordoncillo	Hojas y Frutos	Febrífugo
<i>Piper holtonii</i> (Piperaceae)	Cordoncillo	Partes aéreas	Febrífugo
<i>Acacia farnesiana</i> (Caesalpinaceae)	Pela, Cují, aroma, cují cimarrón, espinoso, corona de cristo, trapiche	Flor, Raíz, Tallo, Corteza y Hojas	Dispepsia, analgésico, antiinflamatorio, antimalárico.
<i>Calea prunifolia</i> (Asteraceae)	Carrasposa	Partes aéreas	Antihipertensivo, antipalúdico
<i>Xilopia aromatica</i> (Anonaceae)	Malaguita, Anchón, Fruta de burro, pepemato,	Partes aéreas	Tónico, en trastornos digestivos y menstruales, antipalúdico
<i>Abuta grandifolia</i> (Menispermaceae)	Vibuajeinia. Taque-taque	Hojas y Corteza	Cólicos menstruales, antituberculoso, purgante, vermífugo, antibacteriano y antiparasitario

que presentan valores de  $CI_{50}$  cercanos a los encontrados con la pentamidina (fármaco control).

### **METODOLOGÍA**

Las especies vegetales fueron colectadas en diversas regiones de Colombia y fueron clasificadas taxonómicamente. Un espécimen de cada planta se encuentra depositado en el Herbario de la Universidad Nacional de Colombia con su respectiva codificación. Las fracciones de alcaloides fueron obtenidas por métodos de extracción ácido-base a partir del material vegetal. Los extractos etanólicos fueron preparados por percolación y concentrados en rotavapor a presión reducida.

### **Ensayos biológicos**

Las formas *promastigotes de Leishmania: L. donovanni* (cepa PP75), *L. braziliensis* (cepa 2903) y *L. amazonensis* (cepa PH8), fueron cultivados a 26 °C en medio Schneider suplementado al 5 % con suero bovino fetal inactivado (56 °C por 30 minutos), los parásitos en fase de crecimiento logarítmico fueron distribuidos en microplacas de 96 pozos a una concentración de  $1 \times 10^6$  parásitos/mL y cada pozo fue tratado con diferentes concentraciones de los extractos o fracciones durante 72 horas. La actividad se evaluó mediante conteo óptico en microscopio, comparándose con pozos control positivo y negativo.

La pentamidina y la anfotericina fueron usadas como fármacos control. Se evaluaron concentraciones de los extractos o fracciones de 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL; en caso de que los productos mostrasen actividad, las concentraciones se disminuyeron hasta hallar la el  $IC_{50}$ ; para cada factor de tratamiento fueron realizadas tres réplicas.

Las formas *epimastigotes de T. cruzi*, cepa Tulahuen, fueron cultivadas a 26 °C en medio *Liver Infusión Tryptose* (LIT), suplementado al 5 % con suero bovino fetal inactivado (56 °C por 30 minutos). Los parásitos en fase de crecimiento logarítmico se distribuyeron en placas de 96 pozos a una concentración de  $1 \times 10^6$  parásitos/mL. Cada pozo fue tratado con diferentes concentraciones de los extractos o fracciones de durante 72 horas.

La actividad fue medida por conteo óptico con la utilización de un microscopio invertido y comparándose con los pozos control. La pentamidina y la anfotericina fueron usadas como fármacos de referencia para este ensayo. Se evaluaron concentraciones de 100µg/ml, 50µg/ml y 25µg/ml de los extractos o fracciones; en caso de que en estas condiciones se presentase actividad, las concentraciones se disminuyen hasta hallar la el  $IC_{50}$ ; fueron realizadas tres replicas para cada factor de tratamiento.

En ambos modelos la  $CI_{50}$  del extracto o fracción fue determinada mediante análisis de regresión lineal de un

gráfico porcentaje de inhibición vs. logaritmo de la concentración del extracto o fracción. El vehículo utilizado para la preparación de los extractos fue DMSO, la concentración de DMSO no fue superior al 1 % y en estas condiciones la sobrevivencia de los parásitos es del 100%

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados de los ensayos de actividad determinando la inhibición de la parasitemia de las diferentes cepas empleadas, con relación al fármaco de referencia, mostraron efectos significativos en cuatro de los extractos etanólicos evaluados. En el caso de *Leishmania* dos de ellos [*Piper cumanense* (hojas) y *Acnistus arborescens* (parte aérea)] presentaron valores de  $CI_{50}$  menores de 12.5 µg/mL cercanos a los obtenidos para el control (pentamidina 10 µg/mL).

En el caso de actividad sobre epimastigotes de *T. cruzi* estos mismos extractos etanólicos presentaron también valores de  $CI_{50}$  menores de 12.5 µg/mL, llegando a ser casi tan activos como el fármaco de referencia (pentamidina, 10 µg/mL). Adicionalmente otros dos extractos etanólicos presentaron solo actividad tripanocida con valores de  $CI_{50} < 12.5$ , estos fueron *Acacia farnesiana* (hojas) y *Xilopia aromática* (parte aérea). Los resultados generales se encuentran resumidos en la Tabla 2.

Se puede concluir sobre la base de los ensayos realizados la existencia de dos extractos etanólicos activos sobre las formas parasitarias tanto de *Leishmania* en sus tres cepas como también sobre epimastigotes de *T. cruzi* [*Piper cumanense* (hojas) y *Acnistus arborescens* (parte aérea)]. Adicionalmente se encontraron dos extractos etanólicos activos contra *T. cruzi* [*Acacia farnesiana* (hojas) y *Xilopia aromática* (parte aérea)].

### **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo contó con el apoyo del proyecto Búsqueda de principios bioactivos en plantas medicinales colombianas del Departamento de Farmacia Universidad Nacional de Colombia, de la Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, Unidad de Quimioterapia Experimental, La Paz, Bolivia IIFB - UMSA, del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED y de la Organización de Estados Americanos OEA, a quienes los autores expresamos nuestros agradecimientos.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

1. Información sobre Leishmaniasis.

<http://www.who.int/tdr/diseases/leish/default.htm>.

TABLA 2

Actividad Leishmanicida y Tripanocida *in vitro* de extractos y alcaloides de plantas Colombianas

Extracto o Fracción	IC 50 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) <i>L. donovanni</i> PP75	IC 50 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) <i>L. amazonensis</i> PH8	IC 50 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) <i>L. braziliensis</i> 2903	IC 50 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) <i>T. cruzi</i> TULA
<i>Abuta grandifolia</i> , (fracción alcaloides)	>100	>100	>100	46.8
<i>Piper holtonii</i> (parte aérea)*	25	25	25	41.7
<i>Acnistus arborescens</i> (parte aérea)*	<12.5	<12.5	<12.5	<12.5
<i>Croton leptostachys</i> (alcaloides parte aérea)	79.1	-	-	53.3
<i>Croton leptostachys</i> (parte aérea)*	37.5	37.5	46.9	37.5
<i>Croton leptostachys</i> (parte aérea cloroformico)	20.8	20.8	20.8	20.8
<i>Piper cumananse</i> (hojas)*	<12.5	<12.5	<12.5	<12.5
<i>Acacia farnesiana</i> (hojas)*	<37.5	<25	<37.5	<12.5
<i>Acacia farnesiana</i> (corteza)*	52.8	52.8	52.8	18.8
<i>Xilopia aromatica</i> (parte aérea)*	41.7	41.7	41.7	<12.5
Pentamidina / Anfotericina	10 / 0.2	10 / 0.2	10 / 0.2	10 / 0.2

\* Extractos etanólicos

2. Información sobre Chagas

<http://www.who.int/tdr/diseases/chagas/default.htm>

3. Garavito G. "Estandarización de dos modelos de actividad antimalárica como herramientas para la evaluación farmacológica de sustancias o extractos de origen vegetal", Tesis de Maestría, Universidad Nacional, Departamento de Farmacia. (2003).

4. World Health Organization (WHO). Rapport Sur la Santé dans le Monde, WHI: Genève, (1998) p 49.

5. Fournt A, Angelo A. y Munos, V. Leishmanicidal and trypanocidal activities of Bolivian medicinal plants, J. Ethnopharmacol. (1994). 41, 19.

6. Del Olmo E, Garcia M, Lopez J, Ruiz G, Vargas F, Gimenez A, Deharo, E. y San Feliciano A. Anti-Trypanosoma activity of some natural stilbenoids and synthetic related heterocyclic compounds, Bioorg Med Chem Lett., . (2001). 11, 2755.

7. Del Olmo E, Garcia M, Lopez J, Munoz V, Deharo E. y San Feliciano A. Leishmanicidal activity of some stilbenoids and related heterocyclic compounds, Bioorg Med Chem Lett.. (2001). 11, 2123.



