

Actividad antimalárica de extractos crudos de plantas en ratones infectados con *Plasmodium berghei*

TEOLINDA CARRILLO-ROSARIO, ADELINA DÍAZ DE RAMÍREZ

Departamento de Biología y Química, Núcleo Universitario "Rafael Rangel",
Universidad de Los Andes, Trujillo. Venezuela.

Recibido mayo 2005 - Aceptado diciembre 2005

RESUMEN

El surgimiento y expansión de cepas de malaria resistentes a las drogas más ampliamente usadas en el tratamiento de la enfermedad, enfatiza la importancia de la búsqueda de nuevos compuestos activos contra estos parásitos. El presente estudio reporta la actividad antimalárica de 24 extractos orgánicos obtenidos de 8 plantas indicadas en la medicina tradicional venezolana para tratar la fiebre o la malaria, los cuales fueron evaluados en ratones albinos inoculados con 1×10^6 eritrocitos infectados con *Plasmodium berghei*. De estas especies de plantas, 6 (25%) extractos, incluyendo el obtenido con metanol agua de *Hypochoeris* spp. y de *Momordica charantia* L., los obtenidos con metanol de *Eucaliptus globulus*, *Argemone mexicana* L. y *Plantago major*; así como el extraído con cloroformo de *Plantago major*, exhibieron actividad antimalárica parcial reduciendo el crecimiento de los parásitos de 32% a 58%, con estos extractos la parasitemia media de los animales tratados fueron estadísticamente diferentes ($P < 0,05$) a las del grupo control no tratado. Los extractos obtenidos de las especies *Ambrosia cumanensis* H.B.K., *Scoporia dulcis* y *Cassia occidentales* resultaron inactivos. Estos resultados confirman que algunos extractos poseen potencial actividad antimalárica y resaltan la importancia de evaluar drogas antimaláricas desde un abordaje etnobotánico, basado en el uso tradicional de las plantas medicinales.

PALABRAS CLAVES

Plantas medicinales, extractos de plantas, actividad antimalárica, etnobotánica, *Plasmodium berghei*.

ABSTRACT

The emergence and spread of resistant strains of malaria to the drugs most widely used in the treatment of the disease, underlines the importance the search of new compound active against these parasites. The

present study reports the activity antimalarial of 24 organic extracts obtained from 8 different plants known in Venezuelan traditional medicine to treat fever or malaria were studied in albino mice inoculated with 1×10^6 *Plasmodium berghei* infected erythrocytes. From these plants species, 6 extracts (25%) including the methanol-water of *Hypochoeris* spp. and *Momordica charantia* L., the ones obtained with methanol from *Eucaliptus globulus*, *Argemone mexicana* L. and *Plantago major*, as well as the one obtained with chloroform from *Plantago major*, showed partial antimalarial activity reducing the parasites' growth in a range from 32% to 58%. It could be seen that the average parasitemia in the treated animals was statistically different ($P < 0.05$) to the one presented in the untreated group. Extracts obtained from *Ambrosia cumanensis* H.B.K., *Scoporia dulcis* and *Cassia occidentales* species were inactive. These results confirm the fact that some extracts have potential antimalarial activity and highlight the importance of testing antimalaric drugs from an ethnobotanical point of view, based on the traditional use of medicinal plants.

INTRODUCCIÓN

La malaria es la enfermedad parasitaria más importante en el mundo debido a la alta morbilidad, mortalidad y el impacto socio económico, que ocasiona a las poblaciones humanas afectadas. Esta enfermedad es causada por un protozooario parásito del género *Plasmodium*; los miembros de este género que infectan al hombre son *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* y *P. malariae*, destacándose las dos primeras en salud pública, debido a que *P. falciparum* resulta la más letal y *P. vivax* la más prevalente (WHO, 1997; 2000).

Cerca del 40% de la población mundial permanece expuesta a la malaria, estimándose que cada año ocurren entre 300 a 500 millones de nuevos casos clínicos y alrededor de 2 a 3 millones de muertes (WHO 1993; 1996). Uno de los principales obstáculos para el control de la transmisión de la enfermedad en muchas partes

del mundo, lo constituye el acelerado desarrollo de resistencia de los vectores a los insecticidas que comúnmente los eliminaban y a la propagación de cepas de parásitos maláricos resistentes a los fármacos utilizados para el tratamiento de la enfermedad (Godoy *et al.*, 1975; WHO 1996; Wernsdorfer, 1991; Molina *et al.*, 1997; Caraballo y Rodríguez-Acosta, 1999). Por otra parte, el progresivo aumento de focos de malaria producto de los movimientos migratorios de individuos infectados y los cambios ambientales ecológicos o sociales, tales como aquellos derivados de la agricultura u otras explotaciones económicas en regiones selváticas, dificultan también el control de la transmisión (WHO, 1996; PAHO-WHO, 2003).

En Venezuela, después de la implementación durante varias décadas de un exitoso programa de erradicación de la malaria (Gabaldon, 1983), en los últimos años se ha observado el resurgimiento de la enfermedad, sobre todo en las áreas asociadas con la actividad minera. Por segundo año consecutivo, el país termina en situación de epidemia malárica, con 31.719 casos diagnosticados para el año 2002, la mayoría de ellos autóctonos (Cáceres y Vela, 2003).

Por otra parte, se estima que cerca del 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional para cubrir sus necesidades de atención primaria de salud, y se puede asegurar que gran parte de los tratamientos tradicionales suponen el uso de extractos de plantas o sus principios activos (Akerle, 1993). Existen al menos tres razones que explican la importancia de la medicina tradicional basada en el uso de plantas: estas son mucho más baratas y accesibles; no existen registros que indiquen resistencia de los extractos totales de las plantas, posiblemente debido a la acción sinérgica de los diversos constituyentes; y es posible que la fitoterapia produzca menos efectos adversos que la quimioterapia (Willcox y Bodeker, 2000).

La utilidad clínica de la quinina y la quinidina derivadas de la corteza del árbol *Cinchona* spp. (Rubiaceae), y la artemisina aislada de la planta tradicionalmente usada en la medicina china *Artemisa anua* L. (Asteraceae), han dado considerable impulso a la búsqueda de nuevas drogas antimaláricas a partir de plantas medicinales (Klayman, 1985; Kirby, 1996; Ridley, 2002). De esta forma, el reconocimiento y validación de la medicina popular con toda su carga de experiencia práctica, tradiciones, usos y costumbres, pueden conducir al desarrollo de nuevas drogas derivadas de plantas. Es importante, por lo tanto, que aquellas plantas que presentan mayor popularidad en la medicina tradicional por sus propiedades antimaláricas, sean investigadas con el fin de determinar su eficacia y evaluar su potencial como fuente de nuevas drogas antimaláricas.

En el presente trabajo, fue evaluada la actividad antimalárica *in vivo* de extractos crudos obtenidos de plantas seleccionadas sobre la base de sus usos en la medicina tradicional venezolana, para el tratamiento de la malaria y de la fiebre.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección y Colecta de las Plantas Medicinales. De la literatura que aborda el uso de plantas medicinales en Venezuela (Rodríguez, 1983; Delascio Chitty, 1985; 273 Plantas Medicinales Venezolanas, 1988; Dako, 1991; López-Palacios, 1991; Portillo y Balliache, 1994; Albornoz, 1997; Germosén-Robineau *et al.*, 1997; Gil Otaiza, 1997; Guánchez, 1999; Bermúdez y Velásquez, 2002) fueron seleccionadas ocho especies vegetales utilizadas popularmente como febrífugas y/o antimaláricas en algunas regiones del país. El material vegetal fue colectado de su ambiente natural en el estado Trujillo, Venezuela en una zona de vida de bosques montanos, entre las coordenadas 8° 57' de latitud norte y 70° 18' de longitud oeste. Se realizó la identificación taxonómica de cada especie, comparando las muestras colectadas con la colección del herbario de la Universidad Simón Bolívar, en Caracas. En la TABLA I se reportan las ocho plantas utilizadas, especificando la familia, los nombres científico y vulgar, las partes usadas en la preparación de los extractos, la composición química y el uso medicinal reportado en la literatura.

Preparación de Extractos Crudos. Los extractos fueron preparados con material vegetal secado y pulverizado, utilizando como solventes cloroformo, metanol y metanol-agua (1:1), en esa misma secuencia. Para ello se mezclaron mediante agitación constante durante 24 horas, 100 gr del material vegetal por cada 500 mL del respectivo solvente, la mezcla se filtró y con el material resultante se repitió la operación tres veces. Posteriormente, se eliminaron los solventes del extracto filtrado utilizándose un rotaevaporador a baja presión seguido de una corriente de aire caliente a 50 °C y luego se colocó en un desecador al vacío (Phillipson y O'Neill, 1986; Carvalho *et al.*, 1991). Al momento de su uso, los extractos fueron pesados y diluidos con agua destilada a fin de obtener dosis de 250, 500 o 1000 mg/kg de peso para un volumen final de administración por vía oral de 0,5 mL Para aquellos extractos insolubles en agua, se empleó Tween-80 (0.2%).

Ensayos en Ratones. Todos los extractos fueron evaluados *in vivo* en ratones Swiss albinos, infectados con formas sanguíneas de *Plasmodium berghei* usando el ensayo supresor de cuatro días (Peters, 1965). La cepa de *P. berghei* fue conservada a -70 °C y a través de

pasajes sucesivos en ratones albinos. En los experimentos, se emplearon animales de 20 ± 2 gr de peso, inoculados por vía intravenosa con 1×10^6 eritrocitos parasitados con *P. berghei* y luego fueron distribuidos de manera aleatoria en lotes de cuatro ratones cada uno, constituyéndose los siguientes grupos: a) Grupos tratados, en los cuales se evaluó la parasitemia y la sobre-vida de los ratones infectados y tratados con los diferentes extractos crudos de plantas en las dosis de 250, 500 o 1000 mg/kg/día por vía oral durante cuatro días consecutivos, comenzando un día después de la inoculación de los parásitos. b) Grupos controles, estos animales se usaron para evaluar la parasitemia y la sobre-vida de los ratones infectados y no tratados, que recibieron solamente el solvente usado en la dilución de los extractos y c) Grupo testigo, el cual fue tratado con la dosis de 50 mg/kg de peso de cloroquina, usada como droga antimalárica de

referencia. Al 5to día de la inoculación de los parásitos, fueron realizados frotis sanguíneos, fijados con metanol, coloreados con Giemsa y examinados en microscopio óptico bajo el objetivo de inmersión 100X.

La actividad antimalárica fue establecida sobre la base del porcentaje de reducción de la parasitemia causada por los extractos, en relación a la parasitemia media observada en los ratones no tratados, y fueron considerados activos cuando el porcentaje de reducción de la parasitemia fue mayor del 30% (Carvalho *et al.*, 1991). Diariamente, durante 30 días, tanto los grupos: ratones infectados y tratados con los extractos como los no tratados, fueron monitoreados con el fin de registrar el tiempo de sobre-vida. Para estimar diferencias significativas entre las medias de la parasitemia en los grupos tratados y controles no tratados fue realizada la Prueba T de Student.

TABLA I:
Especies de plantas utilizadas como febrifugas y/o antimaláricas en la medicina tradicional Venezolana

Especie (Nombre vulgar)	Familia	Partes Usadas	Composición Química	Usos Médicos Reportados	Referencias
<i>Ambrosia cumanenses</i> H.B.K. (Altamisa, artemisa)	COMPOSITAE	Hojas	Aromática, el aceite de las hojas contiene Metilchavicol (60-70%), felandreno, acetato de linalilo, ocimeno.	Contra la fiebre. Como antiespasmódico, diurética, antirreumática, antihelmíntica, antiséptica. Contra los cálculos de la vejiga y enfermedades del hígado. Para facilitar la menstruación.	Rodríguez, 1983, López-Palacios, 1991; Gil Otaiza, 1997.
<i>Hypochoeris spp</i> (Achicoria de páramo, chicoria)	COMPOSITAE	Hojas	Presencia de una lactona sesquiterpénica, hipochoreína, y de gencianólidos en la raíz.	Contra la fiebre. Como aperitiva, estimulante de la secreción biliar, laxante, diurética y sudorífica. Para las enfermedades del corazón y del sistema nervioso.	Rodríguez, 1983, López-Palacios, 1991; Albornoz, 1997.
<i>Cassia occidentalis</i> (L). H. Irwin et Barneby. (Brusca o brusca hedionda brusca negra, chiquichique)	LEGUMINOSAE Subfamilia CAESALPINACEAE	Semilla	Presencia de alcaloide isoquinólico y senósidos. La planta entera tiene pinselina, ácido pincélico; ácido cítrico, micoxantona, sidowinina-B, tartárico y taninos. En la semilla se evidenciaron fitosteroles, flavonoides.	Contra la Malaria y la fiebre. Para el asma, dificultad para orinar, úlceras, granos y culebrilla. Como antiinflamatoria purgante y antimicrobiana. Contra enfermedades de próstata, dolores de vientre y de estomago	Rodríguez, 1983, Albornoz, 1997; Germosén-Robineau, 1997; Guánchez, 1999.
<i>Momordica charantia</i> L. (Cudeamor)	CURCUBITACEAE	Hojas	Contiene glicósidos triterpénicos momordicin alfa y beta; un alcaloide mordicina, una sustancia hipoglicémica, charantina; una sustancia tóxica, momordina; saponinas y taninos.	Contra la Malaria y la fiebre. Para el reumatismo, dolor de oído, hemorroides. Para las enfermedades de la piel, heridas y golpes. Como cicatrizante y astringente, anti diabética, antiinflamatoria, purgante y vermífuga.	Rodríguez, 1983, Delascio Chitty, 1985, López-Palacios, 1991; Albornoz 1997; Guánchez, 1999; Bermúdez y Velásquez, 2002.
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill. (Eucalipto)	MYRTACEAE	Hojas	Contiene aceites esenciales el eucalipto, amplia gama de mono, di y sesquiterpenos, resinas, algunos benzenoides el flavonoide eucaliptina taninos, ácidos grasos, alcoholes etílico y amílico.	Contra la Malaria y la fiebre. Para las afecciones bronquiales, laríngeas y catarrales, amigdalitis y gripe. Descongestionante nasal. Contra el reumatismo. Como balsámico, antiséptico, diaforético y cicatrizante de úlceras.	Rodríguez, 1983; López-Palacios, 1991; Albornoz, 1997; Portillo y Balliache 1994; Germosén-Robineau, 1997.
<i>Argemone mexicana</i> L. (Cardo santo)	PAPAVERACEAE	Hojas	Presencia de los alcaloides isoquinol- lefínicos como protopina, berberina, sanguinarina y otros. Hay un aceite esencial, vitamina B, tanino y un principio amargo.	Contra la Malaria y la fiebre. Como diafotérica, diurética, antiséptica, antiinflamatoria y queratolítica. Contra la ictericia, gastralgia, reumatismo enfermedades de la piel y el asma. Como expectorante y broncodilatador.	Rodríguez, 1983, López-Palacios, 1991; Albornoz, 1997; Germosén-Robineau, 1997.
<i>Plantago major</i> L. (Llantén)	PLANTAGINACEAE	Hojas	Contiene flavonoides, saponinas, esteroides y alcaloides, varios mono- terpenoides, glicósidos aucubina y plantamajorosida, goma, mucílago, resinas, taninos, emulsina, ácidos cítrico, oxálico y ascórbico.	Contra la fiebre. Para enfermedades del riñón, vejiga e intestinales. Como expectorante, astringente, diurética, antiinflamatoria y cicatrizante. Contra granos y accesos, hemorroides y anginas.	Rodríguez, 1983; Albornoz, 1997; Germosén-Robineau, 1997; Gil Otaiza, 1997.
<i>Scoporia dulcis</i> L. (Escoba dulce o escobilla)	ESCROPHULARIACEAE	Hojas	Se ha detectado la presencia de alcaloides y un triterpeno, el escoprol, pigmentos derivados de la xantona y un glicósido.	Contra la Malaria y la fiebre. Como antiséptica, astringente, diurética, vomitiva y abortiva. Contra hemorroides, diabetes, dolores de cabeza. Para afecciones de la garganta y pulmonía.	Rodríguez, 1983, López-Palacios, 1991; Albornoz, 1997; Guánchez, 1999.

RESULTADOS

De un total de 24 extractos orgánicos crudos elaborados de ocho especies vegetales, 6 (25%) fueron capaces de reducir la parasitemia entre 32% y 58%, en ratones infectados con formas sanguíneas de *P. berghei* (TABLA II). Los extractos activos fueron obtenidos de 5 (63%) de las 8 plantas seleccionadas.

Como se aprecia en el TABLA II, el extracto de las hojas de *Hypochoeris spp.* obtenido con metanol-agua y evaluado en las dosis de 250 y 1000 mg/kg, redujo la parasitemia en 41% y 30%, respectivamente. Sin embargo, solamente en los animales tratados con 250 mg/kg, la parasitemia media ($12,2 \pm 1,6$) mostró diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$) cuando comparada con la del grupo control no tratado ($20,8 \pm 2,8$). Además, los animales que recibieron dicha dosis del extracto, presentaron un tiempo medio de sobre-vida de $12,0 \pm 2,8$ días, superando así, en tres días a los del control no tratado ($9,3 \pm 1,9$ días); esta diferencia no fue significativa.

De manera similar, la extracción realizada con metanol-agua de las hojas de *Momordica charantia L.*, fue parcialmente activa en las dosis ensayadas de 250 y 1000 mg/kg, inhibiendo la multiplicación de los parásitos en 42 y 58%, respectivamente (TABLA II). Con ambas dosis se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre la parasitemia media del grupo tratado, ($12,0 \pm 4,2$ / 250 mg/kg y $8,7 \pm 4,2$ / 1000 mg/kg) y el control no tratado ($20,8 \pm 2,8$). Este extracto tampoco presentó efectos significativos sobre el tiempo medio de sobre-vida de los ratones del grupo tratado a pesar que, retardó en aproximadamente 3 días la mortalidad de los ratones que recibieron dosis de 1000 mg/kg ($12,0 \pm 4,1$ días), con relación al grupo control no tratado cuyo tiempo de sobre-vida fue $9,3 \pm 1,9$ días.

El extracto metanólico preparado a partir de las hojas de la especie *Eucalyptus globulus* fue parcialmente activo, inhibiendo la multiplicación de los parásitos en 49% y 41% en las dosis de 250 y 500 mg/kg, respectivamente, mientras que la dosis de 1000 mg/kg resultó inactiva. Diferencias significativas ($P < 0,05$) fueron observadas entre la parasitemia media de los animales tratados ($10,7 \pm 2,3$ / 250 mg/kg y $12,4 \pm 2,1$ / 500 mg/kg) y las del control no tratado ($20,8 \pm 2,8$). En cambio, la diferencia en el tiempo medio de sobre-vida entre ambos grupos de animales, no fue significativa (TABLA II).

En el TABLA II se aprecia que el extracto obtenido con metanol de las hojas de *Argemone mexicana L.* mostró una reducción del crecimiento de los parásitos de 47%, 32% y 39%, en las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg, respectivamente. Con las tres dosis ensayadas se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre la parasitemia media

de los animales tratados ($13,3 \pm 3,5$ / 250 mg/kg; $17,1 \pm 3,0$ / 500 mg./kg y $15,3 \pm 6,3$ / 1000 mg/kg) con respecto al control no tratado ($25,0 \pm 2,8$). No obstante, en ningún caso se observaron diferencias significativas entre el tiempo medio de sobre-vida de los animales tratados y el control, no tratado.

Las extracciones efectuadas con cloroformo y metanol de la especie *Plantago major L.*, también presentaron actividad antimalárica parcial. El extracto clorofórmico en las dosis utilizadas de 500 y 1000 mg/kg redujo el crecimiento de los parásitos en 46% y 39%, respectivamente, mientras que con el metanólico, la reducción fue del 49%, 32% y 41% en las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg, respectivamente (TABLA II). Las parasitemias medias de los animales tratados, tanto con el extracto clorofórmico ($13,4 \pm 3,4$ / 250 mg/kg; $15,4 \pm 0,5$ / 1000 mg/kg) como con el metanólico ($12,7 \pm 2,6$ / 250 mg/kg; $17,0 \pm 3,8$ / 500 mg./kg y $14,8 \pm 2,6$ / 1000 mg/kg) fueron estadísticamente diferentes ($P < 0,05$) a las de los animales no tratados ($25,0 \pm 2,8$), aunque ninguno mostró efecto significativo sobre el tiempo medio de sobre-vida de los ratones tratados, con respecto al control no tratado.

Los ratones que recibieron cloroquina en la dosis de 50 mg/kg de peso, no presentaron parasitemia, ni mortalidad desde el 5^{to} al 30^{to} día de infección, período máximo de observación.

TABLA II:
Actividad antimalárica de extractos crudos obtenidos de las hojas de cinco plantas medicinales evaluadas mediante la reducción de la parasitemia de *Plasmodium berghei* en ratones albinos.

Familia y Especie (Solvente de extracción)	Dosis mg/kg/día	Parasitemia ^a	Reducción de la parasitemia (%) ^b	Tiempo Medio de Sobre-vida (días)
Compositae				
<i>Hypochoeris spp</i>	250	$12,2 \pm 1,6^*$	41	$12,0 \pm 2,8$
(Metanol-Agua)	500	NR	NR	NR
	1000	$14,5 \pm 5,6$	30	$10,5 \pm 2,4$
Curcubitaceae				
<i>Momordica charantia L.</i>	250	$12,0 \pm 4,2^*$	42	$8,8 \pm 1,0$
(Metanol-Agua)	500	NR	NR	NR
	1000	$8,7 \pm 4,2^*$	58	$12,0 \pm 4,1$
Myrtaceae				
<i>Eucalyptus globululus</i>	250	$10,7 \pm 2,3^*$	49	$9,8 \pm 2,9$
(Metanol)	500	$12,4 \pm 2,1^*$	41	$10,3 \pm 2,9$
	1000	$17,4 \pm 2,8$	16	$11,5 \pm 1,7$
Control Solvente	-	$20,8 \pm 2,8$	0	$9,3 \pm 1,9$
Papaveraceae				
<i>Argemone mexicana</i>	250	$13,3 \pm 3,5^*$	47	$11,3 \pm 3,3$
(Metanol)	500	$17,1 \pm 3,0^*$	32	$11,3 \pm 1,5$
	1000	$15,3 \pm 6,3^*$	39	$8,8 \pm 2,6$
Plantaginaceae				
<i>Plantago major L.</i>	250	NR	NR	NR
(Cloroformo)	500	$13,4 \pm 3,4^*$	46	$10,0 \pm 2,2$
	1000	$15,4 \pm 0,5^*$	39	$12,0 \pm 3,9$
(Metanol)	250	$12,7 \pm 2,6^*$	49	$11,8 \pm 3,5$
	500	$17,0 \pm 3,8^*$	32	$10,3 \pm 2,4$
	1000	$14,8 \pm 2,6^*$	41	$8,3 \pm 2,9$
Control Solvente (Cloroquina) ^c	-	$25,0 \pm 2,8$	0	$11,5 \pm 4,1$
	50	$0,0 \pm 0,0$	100	-

^a Valores expresados como $\bar{x} \pm DS$ (n=4)

^b Porcentaje de reducción de la parasitemia en relación a los ratones control no tratados

^c Ratones control tratados paralelamente con 50 mg/kg de Cloroquina.

* Diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$) en relación al control no tratado.

NR: No Realizado.

Como se puede observar en el TABLA III, ninguno de los extractos obtenidos de las hojas de *Ambrosia cumanensis* H.B.K (altamisa) y *Scoporia dulcis* L. (escobilla) y de las semillas de *Cassia occidentalis* L. (brusca hedionda) en las diferentes dosis empleadas, fueron activos contra las formas eritrocíticas del *P. berghei*. No obstante, el extracto metanólico obtenido de *Cassia occidentalis* en la dosis de 1000 mg/kg incrementó cerca de 6 días el tiempo medio de sobrevida de los ratones ($15,3 \pm 1,5$ días) con respecto a los del control no tratados ($9,5 \pm 3,1$ días), diferencia que fue estadísticamente significativo ($P < 0,05$).

Tampoco fueron activos contra los esquizontes sanguíneos del parásito, los extractos clorofórmico y metanólico aislados de las especies *Hypochoeris spp.* y de *Momordica charantia*. De forma similar, no presentaron actividad sobre la parasitemia, la extracción obtenida con cloroformo y metanol-agua de las plantas *Argemone mexicana* L. y *Eucaliptus globulos* así como, el extracto elaborado con metanol-agua de *Plantago major* (TABLA III).

TABLA III:

Extractos crudos aislados de plantas medicinales que resultaron inactivos *in vivo* contra las formas eritrocíticas de *Plasmodium berghei* en ratones albinos.

Familia Especie	Parte de la Planta usada	Solvente de Extracción
Compositae		
<i>Ambrosia cumanensis</i> H.B.K.	Hojas	Cloroformo
<i>Ambrosia cumanensis</i> H.B.K.	Hojas	Metanol
<i>Ambrosia cumanensis</i> H.B.K.	Hojas	Metanol Agua
<i>Hypochoeris spp.</i>	Hojas	Cloroformo
<i>Hypochoeris spp.</i>	Hojas	Metanol
Caesalpinaceae		
<i>Cassia occidentalis</i> L.	Semillas	Cloroformo
<i>Cassia occidentalis</i> L.	Semillas	Metanol
<i>Cassia occidentalis</i> L.	Semillas	Metanol Agua
Cucurbitaceae		
<i>Momordica charantia</i> L.	Hojas	Cloroformo
<i>Momordica charantia</i> L.	Hojas	Metanol
Myrtaceae		
<i>Eucaliptus globulus</i> Labill.	Hojas	Cloroformo
<i>Eucaliptus globulus</i> Labill.	Hojas	Metanol Agua
Papaveraceae		
<i>Argemone mexicana</i>	Hojas	Metanol Agua
Scrophulariaceae		
<i>Scoporia dulcis</i> L.	Hojas	Cloroformo
<i>Scoporia dulcis</i> L.	Hojas	Metanol
<i>Scoporia dulcis</i> L.	Hojas	Metanol Agua
Plantaginaceae		
<i>Plantago major</i> L.	Hojas	Metanol Agua

DISCUSIÓN

Un alto porcentaje de las plantas estudiadas mostraron actividad parcial contra las formas sanguíneas de *Plasmodium berghei*, a juzgar por las menores parasitemias presentadas por los animales

tratados en relación con los controles no tratados. De las cinco especies vegetales que resultaron activas, tres de ellas, *Eucaliptus globulus* (eucaliptos), *Argemone mexicana* L. (cardo santo) y *Momordica charantia* L., (cundeamor) son citadas tanto para el tratamiento de la fiebre, como de la malaria, mientras que, *Hypochoeris spp.* (achicoria de páramo) y *Plantago major* L. (lantén) forman parte del arsenal terapéutico popular usado para el tratamiento de la fiebre, síntoma más visible en los enfermos de malaria.

Estos resultados, al igual que otros previamente reportados (Brandão *et al.*, 1985; Carvalho *et al.*, 1991; Gessler *et al.*, 1994; Tona *et al.*, 1999; Krettli *et al.*, 2001) enfatizan la importancia de evaluar drogas antimaláricas desde un abordaje etnobotánico, basado en el uso tradicional de las plantas medicinales. Farnsworth *et al.*, (1985) mostraron que de las 119 sustancias químicas disponibles en el mercado y derivadas de especies vegetales, el 74% fueron descubiertas como resultado de un seguimiento científico para aislar el compuesto activo responsable del uso original de la planta en la medicina tradicional.

Al evaluar un amplio número de extractos obtenidos de más de un centenar de especies vegetales, Brandão *et al.* (1985) observaron que los mismos, utilizados en las dosis de 100 mg/kg resultaron inactivos en ratones infectados con *P. berghei*, por lo que sugieren el empleo de dosis superiores. Por esa razón y considerando que los principios activos suelen encontrarse en concentraciones extremadamente bajas en los extractos crudos, en el presente trabajo se ensayaron dosis que varían entre 250 y 1000 mg/kg de peso vivo.

Entre los extractos que presentaron actividad figuran los obtenidos con metanol-agua de *Hypochoeris spp.*, el metanólico de *Eucaliptus globulus*, *Momordica charantia* y de *Argemone mexicana* L., así como el metanólico y clorofórmico de *Plantago major* L. Sin embargo su actividad fue parcial, probablemente, sean requeridas dosis mayores o un tratamiento más prolongado para eliminar totalmente los parásitos.

El extracto preparado con metanol-agua de *Momordica charantia* en la dosis de 1000 mg/kg de peso resultó ser el más activo, reduciendo la parasitemia en 58%, por el contrario, las extracciones realizadas con cloroformo y metanol fueron inactivas. Otros trabajos refieren que los extractos etanólicos y acuosos de *M. charantia* tampoco afectaron los niveles de parasitemia de los animales tratados (Amorín *et al.*, 1991, Ueno *et al.*, 1996). De forma similar, Carvalho *et al.* (1991) señalan no haber encontrado actividad antimalárica con el extracto acuoso de *M. charantia* L. colectada en la región de la Amazonia Brasileira. Por el contrario, Ornelas *et al.* (1990) encontraron una discreta disminución de la parasitemia en ratones infectados con *P. berghei* y

Brandão *et al.* (1991), reportan que el extracto preparado con la planta colectada en el nordeste brasilero, fue activo *in vitro* contra *Plasmodium falciparum*.

Se ha reportado que una misma especie de planta colectada en diferentes regiones puede mostrar diferencias en los niveles de actividad sugiriendo que la localidad y tal vez, el momento de la colecta de la planta tendrían importancia, ya que la cantidad y la composición de los principios activos pueden variar (Capasso, 1985). La planta *Artemisa annua* es un buen ejemplo, con la cual quedó demostrado que la cantidad del compuesto activo, el *Quinghaosu*, puede presentar diferencias significativas entre la misma especie de planta, producida en la China y en los Estados Unidos (Klayman, 1985).

De las ocho plantas evaluadas, *Ambrosia cumanensis* H.B.K y *Scoporia dulcis* L., no mostraron actividad antimalárica con ninguno de los extractos preparados, a pesar que son mencionadas con frecuencia en la literatura, como antimaláricas y/o febrifugas. De forma similar, *Cassia occidentales* no inhibió la parasitemia de los animales tratados, sin embargo, fue capaz de incrementar significativamente el tiempo medio de sobre-vida de los ratones tratados con 1000 mg/kg de peso. Estos resultados podrían ser explicados, en parte, por el hecho de que muchas plantas son utilizadas en el tratamiento de la malaria, no por sus efectos antiparasitarios, sino por otras propiedades con valor terapéutico para el paciente con malaria, tales como reducción de la fiebre, alivio del dolor de cabeza u otros, y posiblemente, por estimular el sistema inmune (Rasoanaivo *et al.*, 1992). Con relación a este último aspecto, estudios recientes han demostrado que el extracto acuoso de *Cassia occidentales* posee actividad inmunomoduladora (Bin-Hafeez *et al.*, 2001). Otra posible explicación de la ausencia de actividad de los extractos, es que las hierbas tradicionales son administradas para el tratamiento de la enfermedad como una mezcla de plantas y tal vez, sólo resulten activas en combinación debido a sus efectos sinérgicos (Gessler *et al.*, 1994).

Con excepción de algunos primates, las especies de plasmodios que parasitan al hombre no son infectivas para otros animales. Por lo tanto, la evaluación *in vivo* de compuestos antimaláricos se inicia con plasmodios de roedores, disponiéndose de modelos que ya han sido validados a través de la identificación de antimaláricos tales como la mefloquina, halofantrina y más recientemente derivados de la artemisina (Peters *et al.*, 1977; Peters *et al.*, 1987; Posner *et al.*, 2003).

En este trabajo, los ensayos *in vivo* fueron realizados con ratones infectados con *P. berghei*. Históricamente, los modelos que usan plasmodios de roedores han sido ampliamente empleados para estudiar las drogas

antimaláricas y resultan eficientes para realizar ensayos *in vivo* que permitan la selección primaria de los compuestos con potencial actividad esquizocida. Las pruebas *in vivo* resultan más prácticas, más rápidas y menos onerosas que los cultivos *in vitro* con *P. falciparum*, aunque no todas las drogas antimaláricas, son activas en el modelo ratón-*P. berghei* (Kirby *et al.*, 1996; Ferreira-da-Cruz *et al.*, 2000) y la sensibilidad de una determinada especie de malaria de roedores a una droga, no siempre refleja que dicho efecto ocurra en los plasmodios humanos (Fidock *et al.*, 2004).

Los resultados de este estudio confirman que algunos extractos poseen potencial actividad antimalárica y justifican la conducción de futuras investigaciones para extraer e identificar los compuestos químicos activos responsables de estos efectos antimaláricos observados.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes (CDCHT-ULA), por el financiamiento de este trabajo a través del proyecto NURR-C-220-97.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akerele, O. 1993. **Las Plantas Medicinales: Un tesoro que no debemos desperdiciar.** Foro Mundial de la Salud. Vol. 14: 390-395.

Albornoz A. 1997. **Medicina Tradicional Herbaria.** Edi. Instituto Farmacoterápico Latino, S.A. Caracas-Venezuela: 1-564.

Amorim C.Z.; Díaz Marques, A.; Balão Cordeiro R.S. 1991. **Screening of the antimalarial activity of plants of the Cucurbitaceae family.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Vol. 86, Suppl. II: 177-180.

Bermúdez, A. y Velásquez, D. 2002. **Etnobotánica médica de una comunidad campesina del estado Trujillo, Venezuela: un estudio preliminar usando técnicas cuantitativas.** Revista de la Facultad de Farmacia Vol. 44: 2-6.

Bin-Hafeez B.; Ahmad I.; Haque R. y Raisuddin S. 2001. **Protective effect of *Cassia occidentalis* L. on cyclophosphamide-induced suppression of humoral immunity in mice.** J. Ethnopharmacol. Vol. 75: 13-18

Brandão M.G.L.; Botelho M.G.A. y Krettli, A.U. 1985. **Quimioterapia experimental antimalárica com productos naturais: I. uma abordagem mais racional?.** Ciência e Cultura, Vol. 37(7): 1152-1163.

Brandão M.G.L.; Carvalho L.H. y Krettli A.U. 1991. **Antimaláricos de uso popular na Amazônia.** Ciencia Hoje. Vol 13(78): 9-11.

Cáceres G.; J.L. y Vela G.F.A. 2003. Reporte Epidemiológico. **Incidencia Malárica en Venezuela Durante el año 2002.** Boletín de Malariología y Salud Ambiental. Vol. XLIII (1):53-58.

Capasso F. 1985. **Medicinal plants: an approach to the study of naturally occurring drugs.** J. Ethnopharmacol. Vol. 13: 111-114.

Caraballo A. and Rodríguez-Acosta A. 1999. **Chemotherapy of Malaria and resistance to antimalarial drugs in Guayana area, Venezuela.** Am. J. Trop. Med. Hyg., Vol.61(1):120-124.

Carvalho L.H.; Brandão M.G.L.; Santos-Filho D; López J.L.C. and Krettli, A.U. 1991. **Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied in vivo in Plasmodium berghei-infected Mice and in vitro against Plasmodium falciparum in culture.** Brazilian J. Med. Biol. Res. Vol. 24: 1113-1123.

Dako J. 1991. **1500 Recetas botánicas a base de plantas medicinales.** Edit. Panapo. Caracas-Venezuela: 1-232.

Delascio Chitty, F. 1985. **Algunas Plantas Usadas en la Medicina Empírica Venezolana.** Dirección de Investigaciones Biológicas División de Vegetación Jardín Botánico. INPARQUES. P. 1-186.

Farnsworth N.; Akerele O.; Bingel A.S.; Soejarto D.D. y Guo Z. 1985. **Medicinal plants in therapy.** Bulletin of the WHO. Vol. 63(6): 965-981.

Ferreira da Cruz M.F.; Adami Y.L.; Espinola-Mendes, E.C.; Figueiredo M.R.; Daniel-Riveiro C.T. 2000. **The intraperitoneal Plasmodium berghei-Pasteur infection of swiss mice in not a system that is able to detect the antiplasmodial activity in the Pothomorphe plant extracts that are used as antimalarials in Brazilian endemic areas.** Exp. Parasitol Vol. 94:243-247.

Fidock D.A.; Rosenthal P.J.; Croft S.L.; Brun R. and Nwaka S. 2004. **Antimalarial drug discovery: Efficacy models for compound screening.** Nat. Rev. Drug. Discov. Reviews. Vol. 3(6):509-520.

Gabaldon A. 1983. **Malaria eradication in Venezuela: Doctrine, practice, and achievements after twenty years.** Am. J. Trop. Med. Hyg., Vol. 32(2): 203-211.

Germosén-Robineau, L.; Weninger, B.; Carballo, A.; y Lagos-Witte, S. 1997. **Farmacopea Caribeña. Tramil.** 1er Edic. Ediciones Emile Désormeaux. P. 1-360.

Gessler M.C.; Nkunya M.H.H.; Mwasumbi L.B.; Heinrich M. y Tanner M. 1994. **Screening Tanzanian medicinal plants for antimalarial activity.** Acta Trop. Vol. 56: 65-77.

Gil Otaiza, R. 1997. **Plantas Usuales en la Medicina Popular Venezolana.** Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico. Universidad de Los Andes. Mérida. P. 1-209.

Godoy G.A.; Volcan G.S.; Marengo R.O.; Guevara R.; Texeira A. 1975. **Demostración de resistencia al difosfato cloroquina por cepas de Plasmodium falciparum infectando naturalmente al hombre en un área del Estado Bolívar, Venezuela.** Rev.Inst.Med.Tro. Sao Paulo. Vol. 17: 34-48.

Guánchez F.J. 1999. **Plantas Amazónicas de Uso Medicinal y Mágico.** Fundación Polar. P. 1-229.

Kirby G.C. 1996. **Medical plants and the control of parasites. Medical plants and the control of protozoal disease, with particular reference to malaria.** Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. Vol. 90: 605-609.

Klayman D.L. 1985. **Quinghaosu (Artemisinin): An antimalarial drug from China.** Science. Vol. 228: 1049-1055.

Krettli A.U; Andrade-Neto V.F.; Brandão M.G.L.; Ferrari W.M.S. 2001. **The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: a review.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro. Vol. 96(8): 1033-1042.

López-Palacios S. 1991. **Usos médicos de plantas comunes.** 4ta Edición. Talleres Gráficos Universitarios. Mérida-Venezuela. 1-241.

Molina de Fernández D.; Saume F.; Bisset J.; Hidalgo O.; Anaya W.; González J.; Salas O. y Bazararte H. 1997. **Establecimiento de la línea de susceptibilidad de la fase adulta de Anopheles spp a insecticidas químicos.** Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental. Vol. 37 (1-2): 55-69

Ornelas H.M.; Di Stasi L.C.; Curi P.R.; Salata E. 1990. **Efeito de plantas medicinais sobre a infecção pelo Plasmodium berghei em camundongos.** Revista de Diências Farmacêuticas, São Paulo. Vol. 12:71-80.

Pan American Health Organization-World Health Organization. 2003. **Status report on malaria programs in the americas.** 44th Directing Council, 55th Session of the Regional Committee, Washington, D.C., USA, 22-23 sptember. p. 1-48.

Peters W. 1965. **Drug resistance in Plasmodium berghei vincke and lips, 1948. I. Chloroquine resistance.** Experimental Parasitology. Vol. 17: 8-89.

Peters W.; Howells R.E.; Portus J.; Robinson B.L.; Thomas S; Warhurst D.C. 1977. **The chemotherapy of rodent malaria, XXVII. Studies on mefloquine (WR 142,490).** Ann. Trop. Med. Parasitol. Vol. 71(4): 407-418.

Peters W.; Robinson B.L. y Ellis D.S. 1987. **The chemotherapy of rodent malaria. XLII. Halofantrine and halofantrine resistance.** Ann. Trop. Med. Parasitol. Vol.81:639-646.

Phillipson J.D. y O'Neill M.J. 1986. **Antimalarial and amoebicidal compounds from plants.** Fitoterapia. Vol. LVIII (5): 336-337.

Portillo G. J. y Balliache D. 1994. **Venezuela:**

Percepción de yerberos y usuarios en la utilización de yerbas medicinales en enfermedades tropicales.

Fermentum. 8 y 9: 142-143.

Posner G.H.; Paik I.H.; Sur S.; McRiner A.J.; Borstnik K.; Xie S.; Shapiro T.A. 2003. **Orally active, antimalarial, anticancer, artemisinin-derived trioxane dimers with high stability and efficacy.** J. Med. Chem. Vol. 46(6): 1060-1065.

Rasoanaivo P.; Petitjean A.; Ratsimamanga-Urverg S. y Rakoto-Ratsimamanga A. 1992. **Medicinal plants used to treat malaria in Madagascar.** J. Ethnopharmacol. Vol. 37:117-127.

Ridley R.G. 2002. **Medical need, scientific opportunity and the drive for antimalarial drugs.** Nature Vol. 415: 686-693

Rodríguez M.P. 1983. **Plantas de la Medicina Popular Venezolana de Venta en Herbolarios.** Publicaciones de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales. Caracas. P. 1-267.

Tona, L.; Ngimbi, N.P.; Tsakala, M.; Mesia, K.; Cimanga, K.; Apers, S.; De Bruyne, T.; Pieters, L.; Totté, J.; Vlietinck, A.J. 1999. **Antimalarial activity of 20 crude extracts from nine African medicinal plants used in**

Kinshasa, Congo. J. Ethnopharmacology. Vol. 68: 193-203.

Ueno H.M.; Doyama J.T.; Padovani C.R.; Salata E. 1996. **Effect of Momordica charantia L. in mice infected with Plasmodium berghei.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. Vol. 29(5): 455-460.

Wernsdorfer W.H. 1991. **The development y spread of drugresistant malaria.** Parasitol.Today. Vol. 7(11): 297-303.

Willcox, M.L., Bodeker, G 2000. **Plant-based malaria control: research initiative on traditional antimalarial methods.** Parasitol. Today; Vol.16 (6):220-221.

World Healt Organization. 1993. **Rapport Technique.** Vol. 529. p.128.

World Healt Organization. 1996. **World Malaria Situation in 1993. Weekly Epidemiology Record.** Vol. 71(3), pp.17-24; Vol. 71 (4), pp. 25-32; Vol. 71 (5), pp. 33-40; Vol. 71 (6), pp. 41-48.

World Healt Organization. 1997. **Tropical Diseases Research.** TDR. Twelfth Programs Report. pp57-76.

World Healt Organization. 2000. **Severafalciparum malaria.** Trans.R.Soc.Trop.Med. Hyg. Vol. 94: 36-37.

273 Plantas Medicinales de Venezuela. 1988. Edit . Panapo. Caracas.: 1-261.