



Actividad antiparasitaria in vitro de plantas de la medicina tradicional Tacana sobre Plasmodium falciparum a través del método fluorométrico-SYBR GreenI

In vitro antiparasitic activity from plants of the Tacana traditional medicine on Plasmodium falciparum through the fluorometric method-SYBR GreenI.

CONDO, CLAUDIA¹
SALAMANCA,
TICONA, JUAN³
ENRIQUE, UDAETA⁴
IVAN, LIMACHI⁵

NINOSKA, FLORES⁶
EFRAÍN² ALCIDES⁷
NATALIO, MARUPA⁸
BENIGNO, CHAO⁹
GIMÉNEZ, ALBERTO¹⁰

Resumen

Introducción: La presencia de compuestos activos en las plantas las posiciona como una fuente alternativa para el descubrimiento de nuevos fármacos.

Objetivo: Realizar la bioprospección de plantas utilizadas en la Medicina Tradicional Tacana frente a cultivos de Plasmodium falciparum.

Métodos: Se obtuvieron extractos por maceración en etanol a temperatura ambiente, de 31 órganos colectados de 23 plantas, estos fueron evaluados sobre cultivos asincrónicos de la cepa de Plasmodium falciparum resistente a la

Abstract

Introduction: The presence of active compounds in plants, converts them as an alternative to find new drugs.

Objective: Carry out the bioprospecting of plants used in Tacana Traditional Medicine against Plasmodium falciparum cultures.

Methods: From the 31 collected organs of 23 plants, raw extracts were obtained by ethanolic maceration at room temperature and these were evaluated on asynchronous cultures of the strain Plasmodium falciparum resistant to Chloroquine (FCR3). The active extracts ($IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$), were

1. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS, ÁREA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA Y ÁREA DE EVALUACIONES BIOLÓGICAS.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2951-0496>

2. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS, ÁREA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA Y ÁREA DE EVALUACIONES BIOLÓGICAS.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9999-3759>

3. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS, ÁREA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA Y ÁREA DE QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8073-6840>

4. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS, ÁREA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8769-468X>

5. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS, ÁREA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA Y ÁREA DE QUÍMICA DE PRODUCTOS NATURALES.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1179-9770>

6. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS, ÁREA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6718-1702>

7. COMUNIDAD DE BUENA VISTA.

8. COMUNIDAD DE BUENA VISTA.

9. COMUNIDAD DE BUENA VISTA.

10. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS, ÁREA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7176-7810>

Dirección para correspondencia: Alberto Giménez, ajgimenez@umsa.bo. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés. Av. Saavedra # 2224, Miraflores. La Paz, Bolivia

Cloroquina (FCR3). A los extractos que mostraron actividad antiplasmódica ($CI_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$), se evaluó la citotoxicidad (DL_{50}) frente a células HeLa y se calculó el Índice de Selectividad ($IS = DL_{50}/CI_{50}$). Los extractos que dieron resultados $IS > 5$, fueron seleccionados como promisorios.

Resultados: Se obtuvieron 3 plantas muy activas ($CI_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$); 2 moderadamente activas ($10 \mu\text{g/mL} < CI_{50} < 15 \mu\text{g/mL}$); 4 plantas poco activas ($15 \mu\text{g/mL} < CI_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$) y 14 plantas inactivas ($CI_{50} > 20 \mu\text{g/mL}$). De las 9 plantas que presentaron actividad, solo 2 plantas presentaron $IS > 5$.

Conclusiones: Incorporar los conocimientos del uso tradicional para realizar las evaluaciones biológicas es de mucha ayuda en la selección de plantas con efectos antiplasmódicos.

evaluated for cytotoxicity (LD_{50}) against HeLa cells and the Selectivity Index ($IS = DL_{50}/IC_{50}$) was calculated. The extracts that showed $IS \geq 5$ were selected as promising.

Results: A total of 3 species were very active ($IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$); 2 were moderately active ($10 \mu\text{g/mL} < IC_{50} < 15 \mu\text{g/mL}$); 4 slightly active ($15 \mu\text{g/mL} < IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$) and 14 inactive plants ($IC_{50} > 20 \mu\text{g/mL}$). From the 9 active plants only 2 presented $IS \geq 5$.

Conclusions: Incorporating the traditional knowledge to carry out biological evaluations is very helpful in the selection of plants with antiplasmodial effects.

PALABRAS CLAVE

Plasmodium, medicina tradicional Tacana, HeLa, Índice de Selectividad.

KEY WORDS

Plasmodium, Tacana traditional medicine, HeLa, Selective Index.

INTRODUCCIÓN

La malaria o paludismo es una enfermedad causada por parásitos pertenecientes al género *Plasmodium*, existen cinco especies que causan la enfermedad en el ser humano, donde *Plasmodium vivax* y *Plasmodium falciparum* (ambas especies presentes en Bolivia) son las más peligrosas y este último es el responsable de la mayoría de las muertes provocadas por la enfermedad (Ministerio de Salud – Bolivia, 2018). Esta parasitosis es transmitida por la picadura del flebotomo infectado *Anopheles* hembra y los casos de resistencia, a los tratamientos disponibles, están aumentando a nivel mundial (Blasco et al., 2017; Rout & Mahapatra, 2019) por lo que la lucha para la erradicación de esta enfermedad continúa siendo un enorme desafío y existe una urgencia y necesidad de probar nuevos compuestos antiparasitarios que ayuden en la eliminación de este agente.

La comunidad indígena Tacana, ubicada al norte del departamento de La Paz, practica la medicina tradicional, utilizando diversos tipos de plantas como tratamiento a las diversas enfermedades, (Quenevo & Lara 2007) este



conocimiento de la comunidad Tacana sobre la biodiversidad vegetal puede ser una alternativa para el descubrimiento de nuevos fármacos antipalúdicos ya que las plantas son una fuente importante de principios activos con diversas propiedades farmacológicas y alternativas de tratamiento (Newman & Cragg, 2012).

MATERIALES Y METODOS

Equipos

Estufa a 37°C, 5% CO₂ y 100% de humedad (Midi 40 CO₂ Incubator Thermo Fisher Scientific, EE.UU.); Estufa a 37°C (Compact CO₂ Series 5000), Cámara de seguridad biológica (Labconco Clase II); centrifugadora Jouan CR3i, (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.); lector de microplacas (BioTeckSynergy HT: Multi – Mode Microplate Reader, EE.UU.); Software Gen5 versión 2.09; Microscopio de fluorescencia EVOS FL (Cell imaginig System, Life Technologies, EE.UU.); Microscopio óptico (Leitz Aristoplan, Alemania); Microscopio óptico invertido (Axiovert 25, Zeiss, Alemania), Placas de 96 pozos, fondo plano (Thermo Scientific, EE.UU.) Ph metro (Oakton, pH 700), Balanza analítica (AND), agitador magnético (Lab-line, pyro-magnestir), Vortex (Genie 2), Refrigerador -50°C (Revco), Refrigerador -20°C (LG), shaker (Heidolph, Bioblock).

Reactivos

RPMI 1640 (Sigma), NaHCO₃ (Cicarelli), D-glucosa (Sigma), Hipoxantina (Sigma), Hepes (Sigma), Gentamicina (VWR), Albumax (Gibco) KCL y NaCl (Biopack), KHCO₃, Dimetil sulfoxido (DMSO) al 96% (Sigma), Na₂HPO₄ (Sigma), KH₂PO₄ (Sigma), NaH₂PO₄ (Sigma), sal sódica de ácido etilendiamintetraacético (EDTA) (Sigma), Tincion Giemsa, SYBR Green I (Invitrogen), Tris (Sigma), Saponina (Sigma), Triton (Sigma), Resazurina sodium salt (Sigma), clorhidrato de hemina (Sigma), NaOH (Riedel-de Haën), ácido acético (Sigma), acetato de sodio (Sigma), Suero Bovino Fetal (Thermo Scientific), citrato de sodio (Sigma).

Material Vegetal

El material vegetal, se recolecto en la localidad de Buena Vista (S 14°21'969" y O 67°33'764"), provincia Abel Iturralde del departamento de La Paz, Bolivia. Las muestras voucher fueron depositadas e identificadas en el Herbario Nacional de Bolivia (HLP). Los usos medicinales, forma de preparación y tratamiento de estas plantas se consensuaron en un taller local con diferentes naturistas Tacanas, reunidos por el Consejo Indígena de Los Pueblos Tacana (CIPTA) y el Consejo Indígena de Mujeres Tacana (CIMTA).

Los controles utilizados para las evaluaciones biológicas in vitro y sus concentraciones fueron: Alcaloides totales de la corteza de Evanta, Galipea Longiflora Krause (CAT, 50.0, 25.0, 12.5, 6.2, 3.1 μ g/mL), Quinina y Cloroquina, (5.0, 0.5, 0.25, 0.12, 0.06 μ g/mL).

Los extractos crudos (y sus fracciones) para evaluar actividad antipalúdica y citotóxica se utilizaron a concentraciones de 50.0, 25.0, 12.5, 6.2, 3.1 μ g/mL.

Medio de Cultivo RPMI 1640 parasitario

El cultivo parasitario se realizó siguiendo la metodología descrita por Trager & Jensen, 1979. Se preparó el medio de cultivo RPMI 1640-HEPES (16.0g/L), suplementado con D-glucosa (4.5g/L), NaHCO₃ (1.5g/L), Hepes (5.95g/L), Hipoxantina (40.0mg/L), Gentamicina (60.0mg/L), pH 7.4, para lavar los eritrocitos. Para mantener el cultivo parasitario, se añadió a este medio 5% de una solución de Albumax al 5%, denominado como medio RPMI 1640 completo. Se utilizó una solución de lisis: Tris (2.42g/L), EDTA (1.86g/L), Saponina (800.0mg/L), Triton (800 μ L.) para revelar los cultivos.

Medio de Cultivo RPMI 1640 celular

Para el cultivo celular se utilizó RPMI 1640-Hepes (16.0g/L), gentamicina (60.0mg/L), NaHCO₃ (2.13g/L), pH 7.4, se añadió 5% de Suero Bovino Fetal (SBF), denominado RPMI celular completo. Se realizó el cambio de medio de cultivo cada 72 horas para garantizar la viabilidad celular. Se utilizó solución de desprendimiento celular: NaCl (0.8g/mL), Na₂HPO₄ (0.11g/mL), KCl (0.02g/mL), KH₂PO₄ (0.02g/mL) y EDTA (0.02g/mL) para desprender las células antes de cultivarlas.

Plasmodium falciparum

La cepa Plasmodium falciparum Cloroquina Resistente (FCR3) fue donada por la Dra. Lastenia Ruiz Mesia del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonia – LIPNAA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Iquitos Perú. Las cepas fueron cultivadas en medio RPMI 1640 completo, incubadas a 37°C, 5% de CO₂ en el aire y 100% de humedad relativa. Se colectó sangre total de donantes voluntarios, utilizando 1.5mL de anticoagulante citrato de sodio por 10.0mL de sangre, los eritrocitos fueron recuperados y lavados con medio RPMI.

Células HeLa



Se utilizó la línea celular *Helacyton glarteri* (HeLa), donada por el laboratorio de Farmacología del Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, fueron cultivadas en medio RPMI celular con 5% de SBF, incubadas a 37°C, 5% de CO₂ en el aire y 100% de humedad relativa.

Evaluación de la actividad antiplasmódica de extractos de especies vegetales *in vitro*

Cultivos *in vitro* de cepas de *Plasmodium falciparum*

Para el control de la parasitemia se realizaron frotis de una pequeña muestra del sedimento de eritrocitos del cultivo parasitario, se tiñó con Giemsa y se observó al microscopio óptico con un lente de 100X.

Preparación de mix de eritrocitos sanos y parasitados

Se preparó un mix de eritrocitos al 4% con RPMI parasitario completo utilizando una parasitemia inicial de 2%.

Preparación de la placa de 96 pozos.

Se utilizó placas de 96 pozos, dispensando 100µl de diluciones de los extractos y controles a cada pozo, añadiendo sobre estos 100µl de mix de eritrocitos. Al control de crecimiento se colocó 100µl mix de eritrocitos y 100µl de RPMI parasitario completo. Como blanco se utilizó 200µl de mix eritrocitos no infectados al 2%. La placa se incubó a 37°C con 5% de CO₂ por 48 horas.

Medición de la parasitemia por fluorescencia (SYBR Green I)

Pasadas las 48 horas de incubación se añadieron 100µl de solución de SYBR Green I al 2% utilizando la solución de lisis como diluyente a cada pozo. Se dejó actuar por 3 horas a 37°C con 5% de CO₂. La solución provocó la ruptura de la membrana de los eritrocitos permitiendo que el reactivo fluorescente, SYBR Green I, llegue al ADN del parásito y emita fluorescencia. Seguidamente las placas fueron leídas en el lector de fluorescencia a una longitud de excitación y emisión de 495nm y 528nm respectivamente. A partir de las lecturas los valores de fluorescencia fueron transformados en porcentaje de inhibición, donde el 100% representa la absorbancia del blanco.

Evaluación de la actividad citotóxica de extractos de especies vegetales *in vitro*

Se aplicó al cultivo celular la solución de desprendimiento (5mL) dejando



actuar por 10 minutos a 37°C, fue re-suspendida y centrifugada a 2.500 r.p.m. por 10 minutos, desechando el sobrenadante y aumentando al precipitado 2mL de RPMI celular, posteriormente se realizó el recuento celular en cámara de Neubauer ajustando la población a 5×10^4 células /mL con medio RPMI celular completo y se dispensó 100µL a cada pozo en placas de 96 pozos. Se dejó incubar a 37°C con 5% de CO₂ por 24 horas, para permitir la adherencia celular a la superficie plana del pozo, pasado este tiempo se añadieron 100µL de las diluciones de extractos, fracciones y drogas de control, se dejó incubar en las mismas condiciones anteriormente descritas por 72 horas. Como blanco se utilizó 200µL de medio RPMI celular y como control de crecimiento se utilizó 100µL de la población ajustada y 100µL de medio RPMI celular completo.

Medición de la citotoxicidad por fluorescencia (Resazurina)

Pasadas las 72 horas, se realizaron las lecturas de fluorescencia por el método fluorométrico Resazurina, se adicionó a cada pozo 10µl de una solución de resazurina (2mM) y se incubó a 37°C por 3 horas, las placas fueron leídas en el lector de fluorescencia a una longitud de onda de excitación y de emisión de 540nm y 590nm respectivamente. A partir de las lecturas los valores de fluorescencia fueron transformados en porcentaje de inhibición, donde el 100% representa la absorbancia del blanco. La conversión del porcentaje de inhibición al valor de la CI₅₀ se realizó en Microsoft Excel.

Obtención del Índice de selectividad

Se define como el cociente de la DL₅₀ de una determinada droga sobre células de mamíferos entre la CI₅₀ de la misma droga sobre un microorganismo.

RESULTADOS

Se evaluó la actividad biológica *in vitro* (CI₅₀) de los extractos crudos de maceración etanólica de 23 plantas utilizadas dentro la medicina tradicional Tacana para tratar sintomatología relacionada al paludismo, frente a la cepa de Plasmodium falciparum resistente a la Cloroquina (FCR3) los resultados obtenidos se observan en la tabla 1.º

Tabla1. Actividad *in vitro* de 23 plantas Tacana utilizadas para tratar sintomatología relacionada al paludismo.

Nº	Nombre Científico	Nombre Tacana	Usos	Órgano	FCR3 CI ₅₀ µg/mL



1	<i>Jacaranda-cuspidifolia</i>	Acaranda	Riñones	Corteza	17.2±7.6
2	<i>Ureraciniata</i>	Adjadja	Resfrío	Hojas y ramas	17.8±2.7
3	<i>Vernonanthurabraziliana</i>	AichaAicha	Fiebre	Flores	>50
4	<i>Himatanthus-sucuuba</i>	Aquí baba	Dolor de músculos	Corteza Hojas	35.6±8.6 24.2±8.8
5	<i>Lantana cf trifolia</i>	Aquidjawa	Vómitos	Raíz Hojas	29.9±3.6 12.1±5.4
6	<i>Psychotriacarthagenensis</i>	Aquí Djebe	Epilepsia	Hojas Ramas	12.3±2.2 8.3±2.6
7	<i>Scopariadulcis</i>	Bacuaetse	Dolorde cabeza	Raíz	38.6±1.0
8	<i>Helotropium-indicum</i>	Bacuatidja	Riñones Vomitos	Inflorescencia	>50
9	<i>Talinumpaniculatum</i>	Bechuina	Fiebre	Hojas Ramas	35.1±13.0 44.6±1.8
10	<i>Costusarabicus</i>	Budjubud-juidjewe	Dolor de cabeza con fiebre.	Tallo	>50
11	<i>Scleriamacrophylla</i>	Cawuasha Baba	Fiebre	Hojas Raíz	8.4±3.6 6.0±0.1
12	<i>Pluchegasitalis</i>	Chiweru	Riñones	Hojas	>50
13	<i>Philodendroncompositum</i>	Djududu-huatsi	Riñones	Hojas	>50
14	<i>Euterpe longevaginata</i>	Ebid´aaidha	Fiebre.	Raíz	32.2±0.8
15	<i>Capsicumsp</i>	Ejjebid´u	Dolores musculares.	Corteza	>50
16	<i>Ocimummicranthum</i>	Nahuarau	Fiebre en niños	Hojas	37.6±9.8
17		Paja aquí	Vómitos	Tallo y raíz	40.5±12.0

18	<i>Salacia impresifolia</i>	Panu	Resfrío	Corteza Raíz	26.0±5.6 8.6±0.9
19	<i>Caricamicrocarpa</i>	Papa huana	Riñones	Raíz con puas	>50
20	<i>Randyacfcalycina</i>	Rauqui	Riñones	Hojas y ramas	17.1±0.5
21	<i>Stachytarphetacayannensis</i>	Shitetidja	Riñones.	Hojas	41.5±16.3
22	<i>Cecropiacf-cocolor</i>	Tahuamidha	Riñones	Hojas Tallos y ramas	22.3±1.2 13.0±1.6
23	<i>Physalis angulata</i>	Teinitumati	Malaria y fiebre	Frutos Hojas y ramas	18.0±1.0 25.3±10.8

Se obtuvieron valores de CI_{50} que van desde $6.0 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$ hasta $>50 \mu\text{g/mL}$, resultados iniciales que nos permitieron clasificar estos extractos de las diferentes plantas según Rasoanaivo et al., (2004) en: plantas muy activas $CI_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ (3 Plantas); moderadamente activas $< 10 \mu\text{g/mL}$ $CI_{50} < 15 \mu\text{g/mL}$ (2 Plantas); poco activas $< 15 \mu\text{g/mL}$ $CI_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$ (4 Plantas); e inactivas $CI_{50} > 20 \mu\text{g/mL}$. (14 Plantas).

Seleccionando de esta manera 9 plantas entre muy activas y poco activas, a las cuales se les realizó la evaluación de citotoxicidad frente a células HeLa para obtener la Dosis Letal media (DL_{50}) de los extractos y calcular el Índice de Selectividad (IS) como se muestra en la tabla 2, lo que finalmente indicó si el extracto en estudio presentaba o no toxicidad.

Tabla 2. Citotoxicidad e Índice de Selectividad de los extractos activos.

Nº	Nombre Tacana	Órgano	FCR3	HeLa	IS
			$CI_{50} \mu\text{g/mL}$	$DL_{50} \mu\text{g/mL}$	
1	Acaranda	Corteza	17.2±7.6	71.5±4.2	4.2
2	Adjadja	Hojas y ramas	17.8±2.7	43.4±3.5	2.4
5	Aquidjawa	Hojas	12.1±5.4	28.7±5.2	2.4
6	Aquí Djebe	Hojas	12.3±2.2	64.6±7.1	5.3
		Ramas	8.3±2.6	33.0±13.0	4.0
11	Cawuasha Baba	Hojas	8.4±3.6	38.1±1.7	4.5
		Raíz	6.0±0.1	51.7±11.0	8.6



18	Panu	Raíz	8.6±0.9	35.6±5.5	4.1
20	Rauqui	Hojas y ramas	17.1±0.5	45.0±3.0	2.6
22	Tahuamidha	Tallo y ramas	13.0±1.6	29.7±0.6	2.3
23	Teinitumati	Frutos	18.0±1.0	16.3±7	0.9
	Cloroquina		0.6±0.1	22.4±5.6	37.3
	Quinina		0.3±0.1	10.0±3.0	33.3
	CAT		14.5±5.0	21.6±4.0	1.4

En base al IS y tomando en cuenta la clasificación de Fletcher, quien indica que en casos de *P. falciparum*, cuando el IS de un producto es menor a 5 es considerado no selectivo, si esta es entre 5 y 18 es moderadamente Selectivo y cuando el IS es mayor a 18 es Selectivo (Fletcher & Avery, 2014), obtuvimos dos productos de la medicina tradicional Tacana (Aquí Djebe, Cawuasha Baba) considerados moderadamente selectivos frente a *P.falciparum*, las demás plantas fueron consideradas citotóxicas no selectivas. Estas 2 especies vegetales: *Psychotria carthagenensis* y *Scleria macrophylla* se encuentran bajo estudios biodirigidos para aislar e identificar los metabolitos secundarios responsables de la actividad antipaludica.

DISCUSIÓN

Estudios realizados en *Psychotria carthagenensis*, conocida en la medicina tradicional Tacana como Aquí Djebe (Bourdyet al., 2000), muestran presencia de alcaloides indólicos y muchas especies han reportado extractos bioactivos (Silva et al., 2017) frente a bacterias y parásitos protozoarios, al igual que en nuestro estudio con *P. falciparum*. En un trabajo realizado en el año 2003, se obtuvieron alcaloides de *Psychotria klugii*:klugine, 7'-O-demetilisocefaeline, cefaeline con actividad leishmanicida y potente actividad contra *P. falciparum* en las cepas W2 y D6 con CI_{50} de 27.7 a 46.3ng/mL (Iliaset al., 2003), nuestros resultados no han sido tan potentes como los reportados por estos autores, sin embargo, se debe considerar que ellos trabajaron con moléculas aisladas. También una evaluación biodirigida de extractos metanólicos de *Psychotria bahiensis* resultó en el aislamiento de 5 alcaloides bioactivos tipo indol mono terpenoides que tuvieron actividad antiplasmodial (Paul et al., 2003). Otro estudio ha reportado el aislamiento de moléculas bioactivas con actividades citotóxicas, antibióticas (*Psychotria microlabastra*), analgésicas, (*Psychotria capensis*) ansiolíticas, antidepresivas, psicotrópicas (*Psychotria viridis*), antipiréticas, antiinflamatorias, antioxidantes, vaso relajante, antivirales, (*Psychotria serpens*), antimicrobiana y anti-protozoaria (*Psychotria insularum*) (Silva et al., 2017).

Nyongbela et al., 2017, publicaron un artículo de extractos de *Scleria striatinux* evaluados frente a cepas de *Plasmodium* Resistentes a Cloroquina K1,

W2 y en cepas Sensibles a Cloroquina NF54, D6 con un CI_{50} entre 664 y 894 ng/mL respectivamente, demostrando que estos resultados son más sensibles que los nuestros realizados con *Scleria macrophylla*, conocida en la medicina tradicional Tacana como Cawuasha Baba (Bourdy et al., 2000). Existen reportes donde indican que se aisló el peróxido okundo del extracto de raíz de *Scleria striatonuxde* Wild. El cual fue evaluado frente a cepas sensibles y resistentes de *Plasmodium* W2, D6, K1, NF54 cuyos CI_{50} fueron de 1.8, 1.8, 5.6, 4.9 μ M respectivamente (Mori et al., 2017). Un trabajo realizado por Subramani et al. en el año 2017 reporta resultados con actividad biológica de *Scleria* spp frente a una cepa Resistente a Cloroquina de *P. falciparum*, corroborando los resultados obtenidos en nuestro estudio acerca de la presencia de moléculas bioactivas en las plantas evaluadas.

CONCLUSIONES

La actividad biológica observada en las plantas durante el estudio indicaría ~~la presencia de compuestos bioactivos que se han reportado en ambos géneros, Psychotria y Scleria, demostrando que estas plantas pueden ser de interés para futuras investigaciones por lo que se recomienda incrementar las investigaciones en modelos in vitro e in vivo sobre estas especies.~~

AGRADECIMIENTOS

El estudio fue desarrollado con fondos de los Proyectos UMSA-ASDI: ~~Biomoléculas de Interés Medicinal e Industrial y Bioprospección Tacana. Al CIPTA y CIMTA~~ por la coordinación de los trabajos de campo. A la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, por el apoyo en las misiones de campo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blasco, B., Leroy, D. & Fidock, D. (2017). Antimalarial drug resistance: linking *Plasmodium falciparum* parasite biology to the clinic. *Nat Med* 23, 917–928. <https://doi.org/10.1038/nm.4381>
- Bourdy, G., De Walt, S.J., Chavez de Michel, L.R., Roca, A., Deharo, E. & Muñoz, V. (2000). Medicinal plants uses of the Tacana, an Amazonian Bolivian ethnic group. *Ethnopharmacology J.*, 70, 87-109.
- Fletcher & Avery. (2014). A novel approach for the discovery of chemically diverse anti-malarial compounds targeting the *Plasmodium falciparum* Coenzyme A synthesis pathway. *Malaria Journal* 13:343, 1-17.
- Ilias Muhammad, I., Dunbar, D., Khan S., Tekwani, B., Bedir E., Takamatsu, S., Ferreira, D., & Walker, L. (2003). Antiparasitic Alkaloids from *Psychotria klugii*, *Journal of Natural Products.*, 66(7), 962–967.
- Ministerio de Salud (2018) Bolivia se encamina a ser declarada libre de Malaria. <https://www.minsalud.gob.bo/3229-ministerio-de-salud-bolivia>



- ia-se-encamina-a-ser-declarada-libre-de-malaria
- Mori, N., Sakoda, D., Watanabe, H. (2017) Synthesis of (-)-okundo peroxide and determination of the absolute configuration of natural (+)-okundo peroxide; *Tetrahedron Letters*, 58 (40), 3884-3886.
- Newman David J. and Cragg Gordon M. (2012) Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010, *J. Nat. Prod.* 75, 311-335
- Nyongbela, K.D., Ntie-Kang, F., Hoye, T.R. (2017). Antiparasitic Sesquiterpenes from the Cameroon Spice *Scleria striatinux* and Preliminary In Vitro and In Silico DMPK Assessment. *Nat. Prod. Bioprospect.* 7, 235-247 <https://doi.org/10.1007/s13659-017-0125>
- Paul, J. H. A; Maxwell, A. R; Reynolds, W. F. (2003). Bioactive compounds from local Psychotria plant species, *Med. Carib.*, 2, 2-7.
- Porto, D., Henriques, A. &Fett-Net, A. (2009). Bioactive Alkaloids from South American Psychotria and Related Species; *The Open Bioactive Compounds Journal*, 2, 29-36
- Quenevo Cartagena C., Lara Delgado K. (2007). Pueblo Indígena Tacana, consolidación y gestión territorial; Consejo Indígena del Pueblo Tacana 1; 6 - 46.
- Rasoanaivo,P., Deharo,E., Ratsimamanga-Urverg,S., Frappier,F. (2004),Guidelines for the evaluation of the non-clinical efficacy of traditional antimalarials; *Traditional Medicinal Plants and Malaria*; 262. https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers19-12/010042409.pdf
- Rout, S, Mahapatra, RK. (2019) *Plasmodium falciparum*: Multidrug resistance. *Chem Biol Drug Des.* 93: 737-759. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13484>
- Silva, G., GobboA., Pereira, M., Scherrer, S., Ferreira A., Monguilhott, E., Costa, I. (2017). Phytochemical study and anti-inflammatory effect of *Psychotriasthenocalyx* (Rubiaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(04), 168-173.
- Subramani, R., Narayanasamy, M. &Feussner, K. (2017). Plant-derived antimicrobials to fight against multi-drug-resistant human pathogens. *3 Biotech* 7 (172). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0848-9>
- Trager W.& Jensen J.B. (1976). Human malaria parasites in continuous culture. *Science.* 193(4254), 673-675. <http://garfield.library.upenn.edu/classics1988/A1988M801700001.pdf>