



## ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

## Evaluación in vivo de la actividad antimalárica de 25 plantas provenientes de una Reserva de Conservación Biológica de Costa Rica

## In vivo evaluation of the antimalarial activity of 25 plants from a Biological Conservation Reserve of Costa Rica

MISAELE CHINCHILLA-CARMONA<sup>1,\*</sup>, IDALIA VALERIO-CAMPOS<sup>1</sup>, RONALD SÁNCHEZ-PORRAS<sup>2</sup>, VÍCTOR MORA-CHAVES<sup>2</sup>, VANESSA BAGNARELLO-MADRIGAL<sup>1</sup>, LAURA MARTÍNEZ-ESQUIVEL<sup>1</sup>, ANTONIETA GONZÁLEZ-PANIAGUA<sup>2</sup> & JUAN CARLOS VANEGAS<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED), San José, Costa Rica

<sup>2</sup> Universidad de Costa Rica, Sede Occidente, Biology Section, San José, Costa Rica

\*Autor correspondiente: chinchillacm@ucimed.com

## RESUMEN

Se realizó una evaluación in vivo de la actividad antimalárica de las hojas, flores, frutos, corteza y raíz de 25 plantas de la Reserva Biológica Alberto Manuel Brenes (REBAMB), situada en San Ramón, Alajuela, Costa Rica. Las plantas estudiadas fueron *Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl., *Aphelandra tridentata* Hemsl. (Acanthaceae), *Xanthosoma undipes* (K. Koch & C.D. Bouché) K. Koch. (Araceae), *Iriartea deltoidea* Ruiz & Pav. (Arecaceae), *Neurolaena lobata* (L.) Cass. (Asteraceae), *Lonchocarpus pentaphyllus* (Poir.) Kunth ex DC., *Pterocarpus hayesii* Hemsl., *Senna papillosa* (Britton & Rose) H.S. Irwin & Barneby., *Cinnamomum chavarrianum* (Hammel) Kosterm. (Fabaceae), *Nectandra membranacea* (Sw.) Griseb., *Persea povedae* W.C. Burger. (Lauraceae), *Hampea appendiculata* (Donn. Sm.) Standl. (Malvaceae), *Guarea glabra* Vahl., *Ruarea glabra* Triana & Planch. (Meliaceae), *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae), *Piper friedrichsthalii* C. DC. (Piperaceae), *Clematis dioica* L. (Ranunculaceae), *Prunus annularis* Koehne. (Rosaceae), *Siparuna thecaphora* (Poepp. & Endl.) A. DC. (Siparunaceae), *Solanum arboreum* Dunal., *Witheringia solanacea* L'Hér. (Solanaceae), *Ticodendron incognitum* Gómez-Laur. & L.D. Gómez. (Ticodendraceae), *Heliocarpus appendiculatus* Turcz. (Tiliaceae) y *Myriocarpa longipes* Liebm. (Urticaceae). Los extractos alcohólicos frescos y secos, fueron evaluados por su actividad inhibitoria de la parasitemia causada por *Plasmodium berghei* en ratones Swiss. Al realizar las prueba de  $CI_{50}$ , las plantas en que esa actividad fue muy relevante fueron (en mg kg<sup>-1</sup> de peso): 12 para la corteza de *B. frutescens*, 18 para la raíz de *H. appendiculata*, 14 para la raíz de *I. deltoidea*, 4 para el fruto inmaduro de *M. longipes*, 21 para la raíz de *N. membranacea*, 19 para las hojas tiernas de *P. povedae* y 16 para el fruto inmaduro de *S. thecaphora*. Los extractos frescos presentaron una mayor actividad antimalárica que los sometidos a desecación. Este estudio es una contribución más al conocimiento del valor potencial farmacológico de la biodiversidad botánica costarricense.

**Palabras clave:** antimaláricos, Costa Rica, in vivo, plantas, *Plasmodium berghei*.

## ABSTRACT

An evaluation of the antimalarial activity of the leaves, flowers, fruits, bark and roots of 25 plants from the Reserve Alberto Manuel Brenes Biological (REBAMB) was performed. The reserve is located in San Ramon, Alajuela, Costa Rica and the plants studied were *Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl., *Aphelandra tridentata* Hemsl. (Acanthaceae), *Xanthosoma undipes* (K. Koch & C.D. Bouché) K. Koch. (Araceae), *Iriartea deltoidea* Ruiz & Pav. (Arecaceae), *Neurolaena lobata* (L.) Cass. (Asteraceae), *Lonchocarpus pentaphyllus* (Poir.) Kunth ex DC., *Pterocarpus hayesii* Hemsl., *Senna papillosa* (Britton & Rose) H.S. Irwin & Barneby., *Cinnamomum chavarrianum* (Hammel) Kosterm. (Fabaceae), *Nectandra membranacea* (Sw.) Griseb., *Persea povedae* W.C. Burger. (Lauraceae), *Hampea appendiculata* (Donn. Sm.) Standl. (Malvaceae), *Guarea glabra* Vahl., *Ruarea glabra* Triana & Planch. (Meliaceae), *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae), *Piper friedrichsthalii* C. DC. (Piperaceae), *Clematis dioica* L. (Ranunculaceae), *Prunus annularis* Koehne. (Rosaceae), *Siparuna thecaphora* (Poepp. & Endl.) A. DC. (Siparunaceae), *Solanum arboreum* Dunal., *Witheringia solanacea* L'Hér. (Solanaceae), *Ticodendron incognitum* Gómez-Laur. & L.D. Gómez. (Ticodendraceae), *Heliocarpus appendiculatus* Turcz. (Tiliaceae) y *Myriocarpa longipes* Liebm. (Urticaceae). The fresh and dry alcoholic extracts were evaluated in Swiss mice for their inhibitory activity on multiplication of *Plasmodium berghei*. When making the test  $IC_{50}$ , the only plants whose activity (mg kg<sup>-1</sup> of body weight) was relevant were: 12 for bark in *B. frutescens*, 18 for root in *H. appendiculata*, 14 for root in *I. deltoidea*, 4 for unripe fruits in *M. longipes*, 21 for root in *N. membranacea*, 19 for young leaves in *P. povedae* and 16 for unripe fruits in *S. thecaphora*. The fresh extracts showed greater antimalarial activity than those previously dried. This study is a contribution to the knowledge of potential medicinal value of botanical biodiversity of Costa Rica.

**Key words:** antimalarial, Costa Rica, in vivo, plants, *Plasmodium berghei*.

## INTRODUCCIÓN

La malaria es una enfermedad que representa un verdadero flagelo para la humanidad (WHO 2005, Wrigth 2005). Los mayores problemas son causados por el *Plasmodium falciparum* en África (Tramputz et al. 2003, Batista et al. 2009, Kakkilaya 2008) y otros lugares del mundo ya que esta especie es la más patógena (Mackintosh et al. 2004). El *P. vivax* es otro agente de la malaria presente tanto fuera como dentro de África y que es encontrado con bastante regularidad en América (Wells et al. 2010). Contra el tratamiento usual, la Cloroquina, se ha producido resistencia primero en *P. falciparum* (Bloland 2001) y luego al *P. vivax*. (Baird 2004, Anstey et al. 2009). Por esta razón se buscan alternativas naturales como son los componentes químicos derivados de plantas del género *Artemisia*, recomendados actualmente por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Kakkilaya 2008, WHO 2010).

A raíz de lo anterior es que existe una tendencia a la búsqueda de productos naturales efectivos contra la malaria, tanto en el Viejo Continente (Kayser et al. 2003, Rafatro et al. 2005, Soh & Benoit-Vidal 2007, Ogbonna et al. 2008, Pillay et al. 2008, Ramazani et al. 2010 entre muchos otros autores) como en América del Sur (e.g., Krettli et al. 2001, Garavito et al. 2006, Botsaris 2007, Kaur et al. 2009, Oliveira et al. 2009, Valadeu et al. 2009), el Caribe (Rodríguez-Pérez et al. 2006) y Centroamérica (Franssen et al. 1997, Jenett et al. 1999, Kohler et al. 2003). En Costa Rica, se han realizado varios estudios buscando productos naturales antiparasitarios (Castro et al. 1996, Chinchilla et al. 1998, 2001, 2003). Precisamente, en una investigación conjunta con el Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), estudiando extractos de insectos, se encontraron en algunos de ellos componentes activos antimaláricos (Chinchilla et al. 2008) cuyo origen podrían ser las plantas hospedadoras de los artrópodos encontrados positivos. Estas plantas presentes en la Reserva Biológica Alberto Manuel Brenes (REBAMB) fueron estudiadas en busca de productos antimaláricos; los resultados obtenidos en el análisis realizado en un modelo in vivo, representan la razón de esta publicación.

## MÉTODOS

*Lugar de colecta*

El estudio se realizó en la Reserva Biológica Alberto Manuel Brenes (REBAMB), una reserva biológica que pertenece a la Universidad de Costa Rica, situada a 42 km al Noreste de la ciudad de San Ramón en Alajuela, Costa Rica. Esta reserva se localiza entre los 600 y 1640 m de altura sobre el nivel del mar, con una temperatura promedio de 21 °C, una humedad relativa del 98 % y una precipitación de 3461 mm por año. Estas condiciones hacen que esta reserva presente una amplia variedad de climas y zonas de vida (Sánchez 2000).

*Plantas*

La colecta de 25 plantas seleccionadas de acuerdo con estudios anteriores, fue realizada de octubre de 2007 a diciembre de 2008. La selección fue realizada después de identificar las familias y especies de plantas que servían de alimento a ciertos artrópodos que presentaron componentes con actividad antimalárica (Sittenfeld et al. 1999, Chinchilla et al. 2008). En el campo, las plantas fueron ubicadas con la ayuda de un experto y de acuerdo con los registros realizados previamente en la REBAMB (Barrantes 2004, Gómez-Laurito & Ortiz 2004). Luego fueron marcadas por medio de una cinta roja; su posición fue ubicada geográficamente con ayuda de un sistema de posicionamiento global (GPS).

Porciones de entre 300 y 500 g de corteza, raíz, hojas tiernas y maduras, frutos maduros e inmaduros, así como flores fueron empacadas y etiquetadas, colocándolas luego en una hielera para su transporte al laboratorio, en donde se procesaron según se describe a continuación. Todas las partes en estudio fueron lavadas cuidadosamente para eliminar contaminantes externos, dejando luego una parte para trabajarla como material fresco y separando otra para someterla a secado, de acuerdo con procedimientos ampliamente descritos. El material fresco fue triturado y el sometido a desecación fue prácticamente pulverizado, todo con el fin de facilitar los procesos de extracción.

Para los análisis siguientes y con el objeto de extraer los componentes químicos, 15 g de material fresco o 10 g del seco, fueron colocados en botellas ámbar de 250 mL, que contenían 100 mL de etanol al 70 %, por una semana a temperatura ambiente, agitando la mezcla ocasionalmente. Los extractos así obtenidos fueron filtrados al vacío usando un embudo Buchner y papel filtro Whatman 1 y concentrados a 40 °C con un rotavapor (Buchi R-114), con lo cual se eliminó completamente el alcohol.

*Estudios de actividad antimalárica*

**Animales.** Durante todo el estudio se usaron ratones machos y hembras (*Mus musculus* Swiss), con un peso promedio de 23 g obtenidos del bioterio de la Universidad de Costa Rica. Estos animales se mantuvieron en el bioterio de la UCIMED, suministrándole el alimento concentrado usual y agua ad libitum.

**Parásitos.** En este estudio se empleó la cepa NK de *Plasmodium berghei* NK 65 de la American Type Culture Collection (ATCC). Esta cepa se mantiene en el laboratorio inoculándola vía intraperitoneal (i.p.)

semanalmente en ratones Swiss; para los procesos de análisis in vivo se siguieron los protocolos establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para los estudios de actividad antimalárica.

Inoculaciones. Con el objetivo de obtener el inóculo requerido, animales previamente infectados fueron sangrados por punción cardíaca, usando heparina como anticoagulante. La sangre fue diluida en solución salina al 0.85 % y el número total de eritrocitos por mL fue determinado mediante recuentos en cámara de Neubauer. Para calcular el porcentaje de infección globular, se preparó previamente con la sangre del ratón, un extendido en un portaobjeto, el cual fue teñido con el colorante de Giemsa. En esta laminilla se determinó el número de eritrocitos infectados en un total de 500 células. El porcentaje así obtenido, en conjunto con el número de eritrocitos por mL antes calculado, nos sirvió de base para el cálculo del inóculo de  $10^7$  células infectadas en 0.2 mL requerido en estos experimentos (Deharo et al. 2000)

Modelo experimental. El procedimiento utilizado sigue en líneas generales las recomendaciones de Deharo et al. (2000). En resumen, grupos de cuatro ratones fueron inoculados i.p. con el *P. berghei* y 24 h después se inició el tratamiento vía subcutánea con 0.2 mL cada uno de los extractos sujetos a análisis, diluidos 1:80. Esta dilución fue escogida con base en estudios preliminares de toxicidad de las plantas, así como de la información que se conoce de la actividad mínima que debe tener una planta para considerarse activa. Animales tratados únicamente con solución salina al 0.85 % o con cloroquina fueron los controles correspondientes. El tratamiento se administró por cuatro días, luego se prepararon extendidos sanguíneos de todos los ratones para el posterior estudio de las láminas teñidas con el colorante Giemsa. Se contaron 500 glóbulos rojos por cada lámina, determinando los porcentajes de infección los cuales fueron analizados según los métodos establecidos (Deharo et al. 2000) y reconocidos por la OMS. La fórmula para realizar tales cálculos es

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{\text{parasitemia del GC} - \text{Parasitemia del GTr}}{\text{Parasitemia del GC}} \times 100$$

donde GC es el grupo control de animales inoculados únicamente con solución salina al 0.85 % y GTr es el grupo tratado con cada uno de los extractos en prueba.

La actividad antimalárica se determinó de acuerdo con los porcentajes de inhibición de la parasitemia en los ratones, clasificando los extractos según la tabla de Rasoanaivo (1992) en muy activos (> 70 %), activos (50 a < 70 %), activos débiles (30 a < 50 %) e inactivos (< 50 %).

Los análisis estadísticos de la concentración mínima capaz de reducir la parasitemia en los animales en un 50 % (CI50), fueron realizados siguiendo lo establecido por Deharo et al. (2000) como por el método de Probit (Diaz et al. 2004).

## RESULTADOS

Los análisis de las 25 plantas seleccionadas (Tabla 1), indicaron que en todos los casos al menos una de las partes de la planta presentó algún grado de actividad antimalárica, ya

fuera solamente en extractos frescos, solo en los secos o en ambos; este último caso fue el más frecuente (Tabla 1, Fig. 1). Sin embargo, al analizar específicamente todos los extractos determinando el CI50 tanto a frescos (Tabla 2) como secos (Tabla 3), se reduce el número de plantas con una actividad de menos de  $\leq 10$  a  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso de los animales, lo que califica a esas plantas como activas o muy activas. Al considerar las partes de cada planta que presentaron alguna actividad, se encontró que al trabajar con material fresco, el mayor porcentaje de los ejemplares estudiados presentaron solo una parte activa, reduciéndose el número de plantas positivas con dos, tres y cuatro o más partes activas (Fig. 2). Resultados similares se observaron al estudiar extractos secos, con la diferencia que ninguna planta mostró tres partes activas (Fig. 2).

Al determinar la potencia de la actividad antimalárica encontrada en cada parte de las plantas estudiadas a fresco (Fig. 3), se observa que en general el parámetro de débil activo fue el más frecuente. Sin embargo, el fruto maduro, las hojas tiernas y la raíz de algunas plantas presentaron una actividad muy importante (muy activas) y también otras plantas demostraron ser activas (30 a < 50 % de inhibición).

El análisis del material seco solo mostró dos plantas cuyas hojas maduras fueron muy activas y dos plantas cuyas flores fueron activas; el resto, presentaron una débil inhibición de la parasitemia (Tabla 3).

## DISCUSIÓN

En el análisis inicial de las plantas estudiadas, empleando la inhibición del parásito en los animales como parámetro, se demostró la actividad antimalárica en un número relativamente elevado de ellas (Tabla 1). Esto podría deberse a la selección inicial basada en estudios anteriores (Chinchilla et al. 2008) y a una revisión cuidadosa de la literatura. Aunque las especies encontradas positivas en otros países no son las mismas de Costa Rica (Tropicos 2010), las nuestras, que pertenecen a los mismos géneros, fueron escogidas por correlación, lo que nos dio buenos resultados.

TABLA 1

Actividad antimalárica de especies de plantas de la REBAMB. Para cada especie de la lista se cita un ejemplar testigo ubicado en el Herbario Escuela Autónoma De Ciencias Médicas, con la fecha de colecta, nombre y apellido del recolector y número de recolector, tal y como se estila en estos casos.

Antimalarial activity of species from REBAMB. For each species in the list, is cited a copy located in the herbarium of the Escuela Autónoma de Ciencias Médicas, with the collection date, name and surname of the collector and collector number, as is customary in such cases.

Familia	Especies	Actividad
Acanthaceae	<i>Aphelandra aurantiaca</i> (Scheidw.) Lindl.: Laura Martínez 18.	Débil activo
Acanthaceae	<i>Aphelandra tridentata</i> Hemsl.: Laura Martínez 19.	Activo
Araceae	<i>Xanthosoma undipes</i> (K. Koch & C.D. Bouché) K. Koch.: Laura Martínez 15.	Débil activo
Arecaceae	<i>Iriarte deltoidea</i> Ruiz & Pav.: Laura Martínez 16.	Activo
Asteraceae	<i>Neurolaena lobata</i> (L.) Cass.: Laura Martínez 23.	Muy activo
Fabaceae	<i>Lonchocarpus pentaphyllus</i> (Poir.) Kunth ex DC.: Laura Martínez 24.	Débil activo
Fabaceae	<i>Pterocarpus hayesii</i> Hemsl.: Laura Martínez 12.	Activo
Fabaceae	<i>Senna papillosa</i> (Britton & Rose) H.S. Irwin & Barneby.: Laura Martínez 33.	Activo
Lauraceae	<i>Cinnamomum chavarrianum</i> (Hammel) Kosterm.: Laura Martínez 28.	Débil activo
Lauraceae	<i>Nectandra membranacea</i> (Sw.) Griseb.: Laura Martínez 7.	Activo
Lauraceae	<i>Persea povedae</i> W.C. Burger.: Laura Martínez 14.	Muy activo
Malvaceae	<i>Hampea appendiculata</i> (Donn. Sm.) Standl.: Laura Martínez 1.	Muy activo
Meliaceae	<i>Guarea glabra</i> Vahl.: Laura Martínez 26.	Débil activo
Meliaceae	<i>Ruarea glabra</i> Triana & Planch.: Laura Martínez 4.	Débil activo
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.: Laura Martínez 6.	Débil activo
Papaveraceae	<i>Bocconia frutescens</i> L.: Laura Martínez 2.	Activo
Piperaceae	<i>Piper friedrichsthalii</i> C. DC.: Laura Martínez 13.	Activo
Ranunculaceae	<i>Clematis dioica</i> L.: Laura Martínez 11.	Débil activo
Rosaceae	<i>Prunus annularis</i> Koehne.: Laura Martínez 10.	Muy activo
Siparunaceae	<i>Siparuna thecaphora</i> (Poepp. & Endl.) A. DC.: Laura Martínez 38.	Débil activo
Solanaceae	<i>Solanum arboreum</i> Dunal.: Laura Martínez 22.	Débil activo
Solanaceae	<i>Witheringia solanacea</i> L'Hér.: Laura Martínez 30.	Débil activo
Ticodendraceae	<i>Ticodendron incognitum</i> Gómez-Laur. & L.D. Gómez.: Laura Martínez 8.	Activo
Tiliaceae	<i>Heliocarpus appendiculatus</i> Turcz.: Laura Martínez 3.	Débil activo
Urticaceae	<i>Myriocarpa longipes</i> Liebm.: Laura Martínez 9.	Débil activo

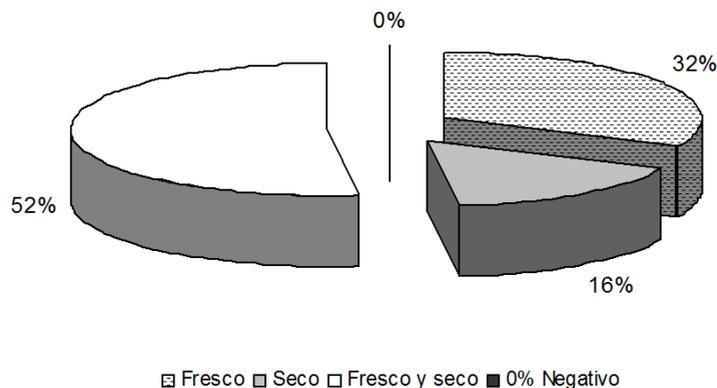


Fig. 1: Porcentaje de plantas con actividad antimalárica según tipo de muestra.

Plants (%) with antimalarial activity according to sample type.

TABLA 2

Distribución de  $CI_{50}$  ( $mg\ kg^{-1}$ ) según la parte de la planta: extractos frescos. C: corteza, F: flores, FI: fruto inmaduro, FM: fruto maduro, HT: hojas tiernas, HM: hojas maduras y R: raíz.

$CI_{50}$  distribution according to plant part: fresh extracts. C: bark, F: flowers, FI: unripe fruit, FM: ripe fruit, HT: young leaves, HM: mature leaves and R: root.

Especies	C	F	FI	FM	HT	HM	R
<i>A. tridentata</i>						31	49
<i>B. frutescens</i>	12	38			44		
<i>G. glabra</i>					116		
<i>H. appendiculata</i>			96	56			41
<i>H. appendiculatus</i>							87
<i>I. deltoidea</i>						60	14
<i>M. longipes</i>			4				
<i>N. membranacea</i>		40	74		124	294	21
<i>N. lobata</i>					79		
<i>P. povedae</i>					19		
<i>P. guajava</i>	154		83			135	
<i>P. hayesii</i>	172						
<i>S. thecaphora</i>	21		16	20			
<i>S. arboreum</i>				71			
<i>T. incognitum</i>	71				33		119
<i>W. solanacea</i>		45					

TABLA 3

Distribución de  $CI_{50}$  ( $mg\ kg^{-1}$ ) según la parte de la planta: extractos secos. C: corteza, F: flores, FI: fruto inmaduro, FM: fruto maduro, HT: hojas tiernas, HM: hojas maduras y R: raíz.

$CI_{50}$  distribution according to plant part: dry extracts. C: bark, F: flowers, FI: unripe fruit, FM: ripe fruit, HT: young leaves, HM: mature leaves and R: root.

Especies	C	F	FI	FM	HT	HM	R
<i>A. tridentata</i>	106						
<i>B. frutescens</i>		235					
<i>C. chavarrianum</i>	38	109					
<i>C. dioica</i>							90
<i>G. glabra</i>							37
<i>H. appendiculata</i>		41		398		20	18
<i>L. pentaphyllus</i>		167				164	
<i>M. longipes</i>				121			
<i>N. lobata</i>						49	
<i>P. povedae</i>				99			
<i>P. annularis</i>							113
<i>P. guajava</i>	122	106		70		137	
<i>P. hayesii</i>	36						
<i>S. papillosa</i>	42	108	75	213		129	
<i>W. solanacea</i>				369			

Aunque al principio se obtiene un porcentaje alto de muestras positivas (Fig. 1), cuando ya se establece un criterio más selectivo en cuanto a la potencia de tal actividad, el porcentaje de plantas promisorias (activas o muy activas) se reduce considerablemente. Esto se observa tanto para los extractos frescos (Tabla 2), como para los secos (Tabla 3), lo que era de esperar de acuerdo con lo reportado por otros autores para estudios similares con un número considerable de plantas (Krettli et al. 2001, Blair et al. 2005). Aunque en la mayoría de los estudios de este tipo usualmente solo se analiza alguna o algunas partes de la planta (Garavito et al. 2006, Kayembe et al. 2010), en este trabajo se estudiaron todas las partes con el objeto de realizar un análisis global más

completo de cada especie. Como se puede observar (Tablas 2 y 3, Figs. 2 y 3), en nuestro caso no todas las partes fueron positivas en las diferentes plantas, o no presentaron la misma fuerza en la actividad dentro de una misma planta, lo que nos indica la necesidad de que en estos estudios se analicen todas las estructuras.

El hecho de que fueran los extractos frescos los que mostraron una actividad antimalárica más evidente (muy activa o activas) (Fig. 4), al contrario de los extractos secos (Fig. 5), en que la mayoría de las muestras demostraron una débil actividad antimalárica, llama poderosamente la atención. Este hallazgo tiene algún sentido si tomamos en cuenta que en el campo, y en forma tradicional, las personas que tratan sus enfermedades con plantas lo hacen con extractos, infusiones del material fresco o inclusive ingiriendo directamente hojas, frutos, raíces, etc. (Blair & Madrigal 2005, Togola et al. 2005, Idowu et al. 2010).

En el continente americano la mayoría de los estudios en búsqueda de antimaláricos naturales se ha realizado en América del Sur. Así, son ampliamente conocidos los trabajos realizados en el Instituto Oswaldo Cruz en Brasil, en Venezuela, Colombia, Perú, etc. La Dra. Krettli y su grupo, por ejemplo, han contribuido en forma extraordinaria en este campo de la Medicina (Krettli et al. 2001). En Centroamérica y el Caribe existen algunos estudios importantes, dentro de los que se cita como ejemplo los de El Salvador (Kohler et al. 2002), Guatemala (Franssen et al. 1997), Cuba (Rodríguez-Pérez 2006).

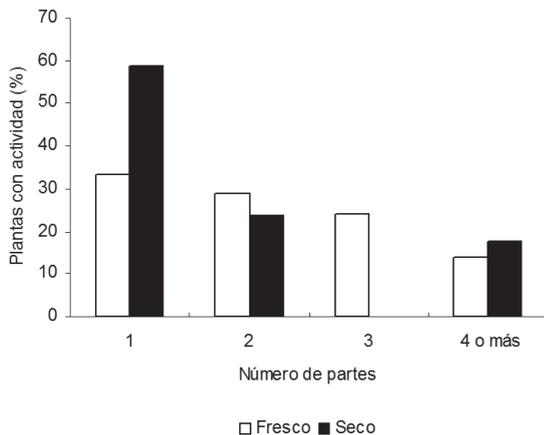


Fig. 2: Número de partes de plantas con actividad antimalárica.

Parts of plants with antimalarial activity.

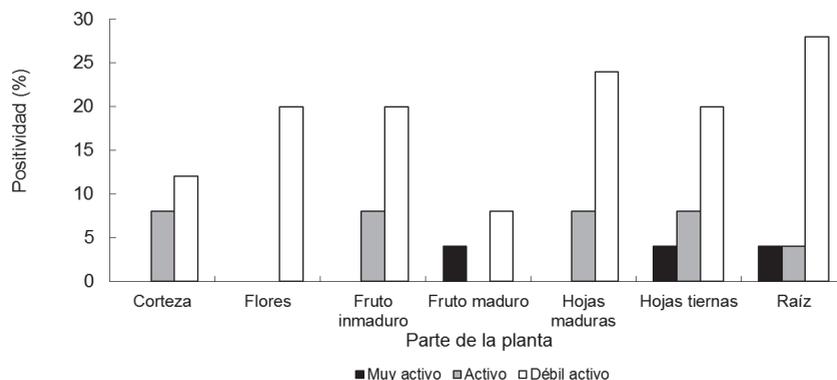


Fig. 3: Potencia de la actividad de los extractos frescos de las plantas.

Activity strength of plant fresh extracts.

Dada la limitación de recursos para realizar este tipo de estudios, en Costa Rica realmente se ha trabajado poco en este tema. Otro aspecto que tal vez ha influido, es el hecho de que en este país, la especie dominante en más del 95 % de los casos ha sido y sigue siendo el *P. vivax* (Vargas 2000) con presencia muy baja de *P. falciparum*. Por otro lado, debido a las campañas antipalúdicas de los años 1973-1983, en que se logró una considerable disminución de esta parasitosis en Costa Rica, se llegó a pensar en su erradicación casi total; este concepto hizo que se le restara importancia a la malaria, lo que indujo a disminuir la vigilancia epidemiológica dando como resultado una alza en los porcentajes de infección, que aunque no tan elevados como en los años 1991-2000, sí fueron importantes en los noventa y años siguientes (Vargas 2000, Trejos et al. 2010).

Además, el *P. vivax* es considerado tradicionalmente como una especie menos patógena, comparándola con el *P. falciparum*, ampliamente conocida por la severidad de los cuadros clínicos que causa, los cuales llevan a la muerte en un porcentaje elevado de las personas infectadas (Tramputz et al. 2003, Mackintosh et al. 2004). Sin embargo en este sentido es conveniente hacer notar que de acuerdo con los estudios recientes en un grupo de personas parasitadas con *P. vivax*, se llegó a determinar que esta especie

eventualmente puede causar problemas tan severos como los que se presentan en las infecciones con *P. falciparum* (Anstey et al. 2009).

Esta especie es precisamente la que emplean experimentalmente varios autores en la búsqueda o análisis de componentes antimaláricos, pero dadas las condiciones y medidas de seguridad que se requieren para trabajar con esta especie, todos nuestros trabajos anteriores y el presente se han llevado a cabo con una especie murina, el *P. berghei*. Esta especie no solo produce en ratones una infección cuyas manifestaciones patológicas son similares a las causadas por *P. falciparum* y representa un modelo científicamente reconocido, sino que es avalado por la OMS y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) (Ager et al. 1984, Deharo et al. 2000, Ramesar et al. 2008)

Algunos de los géneros de plantas escogidos para hacer este trabajo han sido estudiados por otros autores. Por ejemplo las especies *S. andina*, *S. pauciflora*, *S. tonduziana* and *S. aspera*, han presentado en otros países actividad antimalárica pero no se había estudiado anteriormente *S. thecaphora*, una de nuestras plantas positivas. En *H. appendiculata*, que ha sido encontrada en Honduras y Panamá, además de Costa Rica (Tropicos 2010), tampoco se han realizado estudios en este campo y finalmente, *T.*

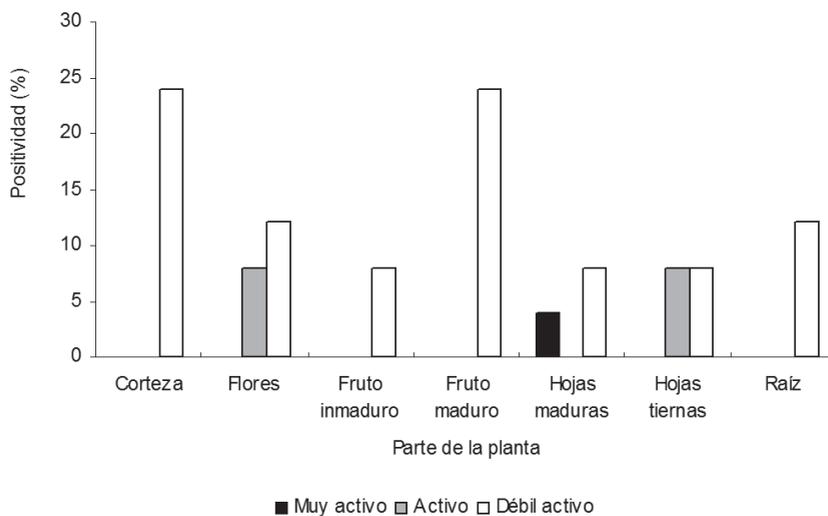


Fig. 4: Potencia de la actividad de los extractos secos de las plantas.

Activity strength of plant dry extracts.

*incognitum* es una planta que tampoco ha sido estudiada por componentes antimaláricos. Por lo tanto estos hallazgos agregan, al conocimiento extenso en esta materia (Kayser et al. 2003, Antony et al. 2005, Wright 2005, Kaur et al. 2009), otros recursos utilizables eventualmente en el tratamiento de la malaria, enfermedad que sigue en la mira de la OMS y la OPS especialmente en cuanto al tratamiento y prevención se refiere (WHO 2005, 2010).

AGRADECIMIENTOS: Este trabajo fue financiado en parte por Proyecto Forinves-18 del Consejo Nacional para Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica, el Departamento de Investigación de la Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED) y el Centro Regional de Occidente, Universidad de Costa Rica. Un agradecimiento muy especial a Laura Valerio encargada de la logística del proyecto y la organización y distribución del trabajo de los estudiantes que participaron en el proyecto. Agradecemos también a José Bolaños, Edwin Valenciano, encargados del mantenimiento y control de los animales de laboratorio y a Hugo Pérez por su atención en todos los servicios suministrados por la REBAMB.

#### LITERATURA CITADA

- AGER JR & WHG RICHARDS (1984) "Rodent malaria models" in antimalarial drugs I. Biological Background, experimental methods, and drug resistance. *Handbook of Experimental Pharmacology* 68: 225-264.
- ANSTEY GM, B RUSSELL, TW YEO & RN PRICE (2009) The pathophysiology of vivax malaria. *Trends in Parasitology* 25: 220-227.
- ANTHONY JP, L FYFE & H SMITH (2005) Plant active components-a resource for antiparasitic agents? *Trends in Parasitology* 21: 462-468.
- BARRANTES T (2004) Flora del sotobosque de la reserva biológica Alberto Manuel Brenes. Coordinación Investigación sede acreditada U.C.R.
- BATISTA R, A SILVA & A BRAGA DE OLIVERIA (2009) Plant-derived antimalarial agents: New leads and efficient phytomedicines. Part II. Non-Alkaloidal Natural Products. *Molecules* 4: 3037-3072.
- BAIRD JK (2004) Chloroquine resistance in *Plasmodium vivax*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48: 4075-4023.
- BLAIR S & B MADRIGAL (2005) Plantas antimaláricas de Tumaco costa pacífica colombiana. Editorial Universidad Antioquia, Colombia.
- BLOLAND PB (2001) Drug resistance in malaria. WHO/CDS/CSR/DRS.
- BOTSARIS A (2007) Plants used traditionally to treat malaria in Brazil: The archives of Flora Medicinal. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 3: 18-23.
- CASTRO O, BARRIOS M, CHINCHILLA M & OM GUERRERO (1996) Evaluación química y biológica del efecto de extractos de plantas contra *Plasmodium berghei*. *Revista de Biología Tropical* 44: 361-367.
- CHINCHILLA M, OM GUERRERO, G TAMAYO, A SITTENFELD, A JIMÉNEZ & I VALERIO (2008) Concentración natural de compuestos antimaláricos en artrópodos tropicales (in vitro). *Revista de Biología Tropical* 56: 473-485.
- CHINCHILLA M, OM GUERRERO, G ABARCA, M BARRIOS & O CASTRO (1998) An in vivo model to study the antimalarial capacity of plant extracts. *Revista de Biología Tropical* 46: 35-39.
- CHINCHILLA M, OM GUERRERO, G TAMAYO & A SITTENFELD (2001) Empleo de técnicas y materiales biológicos en la búsqueda de productos activos contra la malaria. *Información Tecnológica* 12: 187-192.
- CHINCHILLA M, M HERRERA, OM GUERRERO, A JIMÉNEZ, G TAMAYO, A SITTENFELD, V NIELSEN & P HURTADO (2003) Efecto de extractos de artrópodos sobre la multiplicación del *Toxoplasma gondii* dentro de macrófagos peritoneales de ratón. *Revista de Biología Tropical* 51: 317-320.
- DEHARO E, PH GAUTRET, V MUÑOZ & M SAUVAIN (2000) Técnicas de laboratorio para la selección de sustancias antimaláricas. Imprenta Pérez, La Paz, Bolivia.
- DÍAZ MC, GD BULUS & Y PICA (2004) Métodos estadísticos para el análisis de resultados de toxicidad. En: Castillo-Morales G (ed) *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas*. Bogotá, Colombia.
- FIDOCK DA, RT EASTMAN, SA WARD & SR MESHNICK (2008) Recent highlights in antimalarial drug resistance and chemotherapy research. *Trends in Parasitology* 24: 537-544.
- FRANSSSEN FFJ, LJJW SMEIJSTERS, I ERGER & BE MEDINILLA (1997) In vivo and in vitro antiplasmodial activities of some plants traditionally used in Guatemala against Malaria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 41: 1500-1503.
- GARAVITO G, J RINCÓN, L ARTEAGA, Y HATA, G BOURDY, A GIMÉNEZ, R PINZÓN & E DEHARO (2006) Antimalarial activity of some colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacol* 107: 460-462.
- GÓMEZ-LAURITO J & R ORTIZ (2004) Lista con anotaciones de las angiospermas de la Reserva Biológica Alberto Brenes (Microcuencas de los ríos San Lorenzo y San Lorencito), Costa Rica. *Lankesteriana* 4: 113-142.
- IDOWU OA, OT SONIRAL, O AJANA & DO AWORINDE (2010) Ethnobotanical Survey of antimalarial plants used in Ogun State, Southwest Nigeria. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 4: 55-60.
- JENETT-SIEMS K, T MOCKENHA, UP BIENZIE, M GUPTA & E EICH (1999) In vitro antiplasmodial activity of Central American medicinal plants. *Tropical Medicine and Internal Health* 4: 611-615.
- KAKKILAYA BS (2008) Malaria Site. URL: [http://www.malaria-site.com/malaria/history\\_treatment.htm](http://www.malaria-site.com/malaria/history_treatment.htm) (accedido Octubre 10, 2010).
- KAUR K, M JAIN, T KAUR & R JAIN (2009) Antimalarials from nature. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17: 3229-3256.
- KAYSER O, AF KIDERIEN & SL CROFT (2003)

- Natural products as antiparasitic drugs. *Parasitology Research* 90: S55-S62.
- KAYEMBE JS, KM TABA, K NTUMBA, MTC TSHIONGO & C KASADI (2010) In vitro antimalarial activity of 20 quinones isolated from four plants used by traditional healers in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Medicinal Plant Research* 41: 991-994.
- KOHLER I, K JENNETT-SIEMS, MA HERNÁNDEZ, R A, IBARRA WG BERENDSOHN, U BIENZLE & E ECKART (2002) In vitro antiplasmodial investigation of medicinal plants from El Salvador. *Zeitschrift für Naturforsch* 57: 277-281.
- KRETTLI AU, ANDRADE-NETO VF, BRANDÃO MG & WM FERRARI (2001) The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: A review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 96: 1033-1042.
- MACKINTOSH CL, JG BEESON & K MARSH (2004) Clinical features and pathogenesis of severe malaria. *Trends in Parasitology* 20: 1471-4822
- OLIVEIRA A, M DOLABELA, F BRAGA, R JÁCOME, FP VAROTTI & M PÓVOA (2009) Plant-derived antimalarial agents: New leads and efficient phythomedicines. Part I. Alkaloids. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 81: 715-740.
- OGBONNA DN, G TOJIBIYE, A SOKARI & A AGOMUOH (2008) Antimalarial activities of some selected traditional herbs from South Eastern Nigeria against *Plasmodium* species. *Research Journal of Parasitology* 3: 25-31.
- PILLAY P, VJ MAHARAJ & PJ SMITH (2008) Investigating South African plants as a source of new antimalarial drugs. *Journal of Ethnopharmacology* 119: 438-54.
- RAFATRO H, RB ROBIJAONA, AS RAZAFIMAHEFA, AM ROOAMAHENINA, EK RAMANANTOSOA et al. (2005) Screening of plant extracts for searching antiplasmodial activity. 11° Napreca Symposium Book of Proceeding Antananarivo: 136-144. Madagascar.
- RAMESAR J, C JENSE & A WATERS (2008) Methods in *Plasmodium berghei* Research 4: The *Plasmodium berghei*/ research model of malaria. URL: <http://www.lumc.nl/rep/cod/redirect/1040/research/malaria/modelll> (accedido Octubre 10, 2010).
- RAMAZANI A, S ZAKERI, S SARDARI, N KHODAKARIM & DN DINPARAS (2010) In vitro and in vivo anti-malarial activity of *Boerhavia elegans* and *Solanum surattense*. *Malaria Journal* 9: 124.
- RODRÍGUEZ-PÉREZ M, JM MARTÍNEZ, LR RIVERO, MH ÁLVAREZ, AFC VALDEZ, DA RODRÍGUEZ, RS LIZAMA & JA PAYROL (2006) Evaluación de la actividad antimalárica de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional cubana. *Revista de Ciências Básicas y Aplicadas* 27: 197-205.
- RASOANAIVO P, A PETITJEAN, S RATSIMAMANGA-URVERG & A RAKOTO-RATSIMAMANGA (1992) Medicinal plants used to treat malaria in Madagascar. *Journal of Ethnopharmacology* 37: 117-127.
- SÁNCHEZ R (2000) Reserva Biológica Alberto Manuel Brenes. Edit. Tomás Saravi. San José, Costa Rica.
- SITTENFELD A, G TAMAYO, V NIELSEN, A JIMÉNEZ, P HURTADO et al. (1999) Costa Rican international cooperative biodiversity group: using insects and other arthropods in biodiversity prospecting. *Pharmaceutical Biology* 37 Suppl: 55-68.
- SOH PN, & F BENOIT-VIDAL (2007) Are West African plants a source of future antimalarial drugs? *Journal of Ethnopharmacology* 114: 130-140.
- TOGOLA A, D DIALLO, S DEMBELE, H BARSETT & BS PAULSEN (2005) Ethnopharmacological study of the different uses of seven medicinal plants from Mali (África Occidental) in the regions Doila, Kolokani y Siby. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 1: 7.
- TRAMPUTZ A, JEREB M, MUSLOVIC I & PRABHU RM (2003) Severe Malaria. *Journal of Cardiotherapy Surgery* 7: 315-323.
- TREJOS ME, T SOLANO, R CÉSPEDES, RM VARGAS & R BEJARANO (2010) Boletín semanal de vigilancia de la salud. Semana epidemiológica # 3 (7 al 16 de enero 2010). Ministerio de Salud. Dirección vigilancia de la salud: 1-6.
- TROPICOS (2010) Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. URL: <http://www.tropicos.org>. (accedido Abril 5, 2010)
- VALADEAU C, A PABON, E DEHARO, J ALBÁN-CASTILLO, Y ESTÉVEZ et al. (2009) Medicinal plants from the Yanesha (Perú): Evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extract. *Journal of Ethnomedicine* 123: 413-422.
- VARGAS M (2001) Diagnóstico situacional de la malaria y el uso del DDT en Costa Rica. Edit. OPS/OMS, San José, Costa Rica.
- WELLS TNC, JN BURROWS & K BAIRD (2010) Targeting the hypnozoite reservoir of *Plasmodium vivax*: The hidden obstacle to malaria elimination. *Trends in Parasitology* 26: 145-151.
- WHO (2005) World malaria report 2005. World Health Organization, Geneva. URL <http://www.rbm.who.int/wmr2005> (accedido October, 2007).
- WHO (2010) Guidelines for the treatment of malaria. Second edition. World Health Organization, Geneva. URL: <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241547925/en/index.html> (accedido October 11, 2010).
- WRIGHT CW (2005) Plant derived antimalarial agents: New leads and challenges. *Phytochemistry Reviews* 4: 55-61.

Editor Asociado: Rosanna Ginocchio

Recibido el 25 de octubre de 2010; aceptado el 18 de enero de 2011

