

Prospección fitoquímica y actividad antiplasmódica del extracto hexánico de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott.

Phytochemical prospection and antiplasmodial activity of the hexane extract from *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott

Renée de Nazaré Oliveira da Silva,^I Érica Maximo de Sousa,^I Alejandro Ferraz Prado,^I Adolfo Henrique Muller,^{II} Cristine Bastos do Amarante,^{III} Marinete Marins Pova,^{IV} Eduardo Ferreira Mota,^V Maria Fâni Dolabela^{VI}

^I Licenciado en Farmácia. Centro Universitário do Estado do Pará. Belém, PA, Brasil.

^{II} Doctor. Profesor. Farmácia. Centro Universitário do Estado do Pará. Belém, PA, Brasil.

^{III} Máster. Investigadora. Museu Paraense Emílio Goeldi. Belém, PA, Brasil.

^{IV} Doctora. Investigadora. Seção de Parasitologia. Instituto Evandro Chagas. Ananindeua, PA, Brasil.

^V Máster. Programa de Pós Graduação de Biología dos Agentes Infecciosos e Parasitários, ICB, Universidade Federal do Pará. Belém, PA, Brasil.

^{VI} Doctora. Profesora. Programa de Pós Graduação de Biología dos Agentes Infecciosos e Parasitários. ICB, Universidade Federal do Pará. Belém, PA, Brasil.

RESUMEN

Introducción: los extractos de *M. linifera* presentaron alta toxicidad para *Artemia salina*, lo cual sugiere un alto potencial biológico para actividad antitumoral, antibacteriana, antifúngica y actividad contra el *Trypanosoma cruzi*.

Objetivo: evaluar el potencial antimalárico del extracto hexánico obtenido de hojas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott y conocer su perfil fitoquímico.

Métodos: la prospección fitoquímica se realizó por el método de precipitación y la actividad antiplasmódica fue evaluada *in vitro* utilizando el clon W2 de *Plasmodium falciparum*.

Resultados: la prospección fitoquímica sugirió solamente la presencia de esteroides. En relación con la actividad antiplasmódica, después de 24 h en la concentración de 100 µg/mL la inhibición del crecimiento parasitario fue de 50,5 % y en las demás no fue observada una inhibición significativa. En 48 h, en la concentración de 100 µg/mL, la inhibición del crecimiento fue de 34,7 %. Después

de 72 h las concentraciones de 100 y 50 µg/mL presentaron hemólisis, que imposibilitó la determinación porcentual parasitada.

Conclusiones: el extracto hexánico obtenido de las hojas de *M. linifera* tiene un bajo potencial antimalárico y mostró positivamente esteroides.

Palabras clave: *Montrichardia linifera*, *Plasmodium falciparum* y esteroides.

ABSTRACT

Introduction: *Montrichardia linifera* extracts showed high toxicity to *Artemia salina*, which indicated high biological potential for antitumoral, antibacterial, antifungal activities, and action against *Trypanosoma cruzi*.

Objective: to evaluate the antimalarial potential of the hexane extract from the *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott leaves and to discover its phytochemical profile.

Methods: the phytochemical prospection was conducted by the precipitation method whereas the antiplasmodial activity was evaluated *in vitro* using the W2 *Plasmodium falciparum* clone.

Results: the phytochemical prospection just suggested the presence of steroids. Regarding the antiplasmodial activity after 24 hours at 100 µg/mL concentration, the parasite growth inhibition was 50.5 % but at other concentration ranges, significant inhibition was not observed. At 48 hours, the growth inhibition at 100 µg/mL concentrations was 34.7 %. After 72 hours, hemolysis was observed at 100 µg/mL and 50 µg/mL concentrations, so the percentage determination of the parasites was not possible.

Conclusions: the hexane extract obtained from the *M. linifera* leaves presented with low antimalarial potential and proved to be positive for steroids.

Key words: *Montrichardia linifera*, *Plasmodium falciparum* and steroids.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, hoy día, la malaria es una enfermedad tratada negligentemente, que más causa problemas sociales y económicos en el mundo. El *Plasmodium falciparum*, responsable por la malaria más grave, afecta de modo severo la población mundial, al causar de 1 a 1,5 millones de muertes cada año, la mayoría niños de 5 años de edad.¹

La evidente necesidad de tratar la malaria conduce al descubrimiento de varios fármacos, como la quinina, cloroquina, artemisinina, entre otros. El uso indiscriminado de esos fármacos, en especial la cloroquina, llevó el surgimiento de cepas de *P. falciparum* resistentes a un fármaco o más, entonces es necesario buscar nuevos fármacos. En este contexto, las plantas pueden dar valiosa contribución, un ejemplo es la *Montrichardia linifera* que en estudios preliminares se observó alto potencial antimalárico.

M. linifera conocida popularmente en Brasil como "aninga", "aningaçu" y "aningaíba", presenta distribución cosmopolita, son más comunes en bosques

tropicales.² Los extractos hexánico y diclorometánico obtenidos de las hojas y el hexánico y etanólico obtenidos del tallo presentaron alta toxicidad para *Artemia salina*,^{3,4} lo que sugiere un alto potencial biológico, para actividad antitumoral, antibacteriana, antifúngica y actividad contra el *Trypanosoma cruzi*.⁵

En el presente estudio se realizó la prospección fitoquímica y evaluación de la actividad antiplasmódica del extracto hexánico obtenido de las hojas de *M. linifera*.

MÉTODOS

Recolección y preparación del material vegetal

La recolección de las hojas se hizo en el campus de la Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, las márgenes del río Guamá, 01°28'41,3" S y 48°27'29,0" W, en abril de 2007, fue realizada la identificación del material por la doctora Alba Lúcia Ferreira de Almeida Lins do Departamento de Botânica/ MPEG. Una muestra de la especie fue depositada en el herbario "João Murça Pires"/MPEG con el número 186542.

El material fue lavado en agua corriente, secado en una estufa con circulación de aire, a 40-45 °C y la trituraron en una batidora de faca. El extracto hexánico fue obtenido por percolación discontinua y concentración en evaporador rotatorio.

Prospección fitoquímica

Esos análisis darán el conocimiento de posibles grupos químicos presentes en el extracto etanólico. A través de reacciones químicas se pesquisó la presencia de alcaloides, antraquinonas, cumarinas, flavonoides, saponinas, triterpenos y esteroides.⁶

Actividad antiplasmódica

El cultivo fue realizado de acuerdo con *Trager y Jensen*.⁷ El cultivo del clon de *P. falciparum* W2 se mantuvo en estufa a 37 °C, en atmósfera de 3 a 5 % de CO₂, conseguida a través de la quema de vela, en desecador. Para el ensayo se utilizó la metodología descrita por *Rieckman* y otros,⁸ modificada por *Carvalho*.⁹ Cultivos sincronizados que contenían, sobre todo, trofozoitos (> 90 %), se diluyeron para 0,5 %, el hematocrito ajustado para 2,5 % y distribuido en placas con el extracto o la cloroquina. Después de 24 a 48 h se cambió el medio con la adición de una nueva porción del extracto o de la cloroquina. Después de 24, 48 y 72 h se confeccionaron los *frotis* sanguíneos, se determinó la parasitemia porcentual y se observó el porcentaje de esquizontes. Los resultados se expresaron basados en la media de 3 experimentos.

RESULTADOS

En la prospección fitoquímica del extracto hexánico obtenido de las hojas de *M. linifera* se observó presencia de esteroides. Este extracto inhibió en 50,5 % el crecimiento parasitario en la concentración de 100 µg/mL y 8,8 % en la concentración de 50 µg/mL, después de 24 h de exposición. En 48 h de exposición,

la inhibición fue de 34,7 % en la concentración de 100 µg/mL. Aumentando el tiempo de exposición para 72 h, se observó hemólisis en las concentraciones de 100 y 50 µg/mL, y en la concentración de 25 µg/mL la inhibición fue de 38,4 % (tabla).

Tabla. Evaluación de la actividad antiplasmódica (CI₅₀) del extracto obtenido de hojas de *Montrichardia linifera*

	Tiempo de exposición (h)		
	Inhibición del crecimiento parasitario ± DE		
	24	48	72
Extracto hexánico	100 µg/mL= 50,5%	100 µg/mL= 34,7% de inhibición	100 µg/mL= hemólisis
	50 µg/mL= 8,8%		50 µg/mL= hemólisis
			25 µg/mL= 38,4%
Quinina	0,015625 µg/mL= 87,5%	0,015625 µg/mL= 88,3 %	0,015625 µg/mL= 60,3%

También se pesquisó la interferencia en la esquizogonia del parásito después de 24 y 72 h de exposición la quinina y el extracto hexánico. En relación con la quinina se observó la inhibición de la esquizogonia en todos los tiempos analizados, mas esta inhibición no fue observada en los ensayos utilizando el extracto hexánico.

DISCUSIÓN

En un estudio anterior, utilizando el clon de *Plasmodium falciparum* multirresistente (Dd2) se observó que el extracto hexánico en la concentración de 6,25 µg/mL inhibió en más de 80 % el crecimiento del parásito,³ resultado diferente encontrado en el presente estudio, en el cual las concentraciones de 100 y 50 µg/mL, principalmente después de 72 h de exposición, sugieren un efecto citotóxico. Esta hemólisis, además, corrobora con el resultado de la prospección fitoquímica, donde uno de los probables metabolitos, saponina y esteroide, están presentes en el extracto.

Otro factor que alcanza tener influencia en los resultados diferentes puede estar relacionado con las diferencias genéticas de los clones utilizados. El clon Dd2, cuya resistencia a cloroquina es conocida, tiene en sus membranas el gen Pfmdr1 (*P. falciparum multi-drug resistance 1*),¹⁰ entre otros. La resistencia del clon W2 a cloroquina está relacionada al gene cg2 (kb de la región 36 cromosoma 7).¹¹

En síntesis, el extracto hexánico obtenido de las hojas de *M. linifera* tiene un bajo potencial antimalárico y mostró presencia de esteroides y triterpenos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. The World Health Report 2002: reducing risks, promoting healthy life. Geneva: WHO; 2002.
2. Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF. Plant Systematics-a phylogenetic approach. Sunderland: Sinauer Associates; 2002. p. 576.

3. Silva LM, Oliveira MC, Prado AF, Silva RNO, Póvoa MM, Müller AH, et al. Anais XXI Congresso Brasileiro de Parasitologia e II Encontro de Parasitologia do Mercosul, 21. [CD-ROM/b]. Sociedade Brasileira de Parasitologia, Foz do Iguaçu; 2009
4. Prado AF, Silva LM, Oliveira MC, Silva RNO, Dolabela MF, Müller RCS, Müller AH, Amarante CB. Anais da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 32. [CD-ROM/a]. Sociedade Brasileira de Química, Fortaleza; 2009
5. Dolabela MF. Triagem *in vitro* para atividade antitumoral e anti *Trypanossoma cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. Dissertação (Mestrado em farmacologia). Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFMG, Belo Horizonte; 1997. p. 130.
6. Matos FJA. Plantas Medicinalis: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2º ed. Fortaleza: Imprensa Universitária; 2000. p. 344.
7. Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture. Science. 1976;193:673-5.
8. Rieckman KH, Sax LJ, Campbell GH, Mrena JF. Drug sensitivity of *Plasmodium falciparum*. An *in vitro* microtechnique. Lancet. 1978;6:22-3.
9. Carvalho LH. Quimioterapia experimental com extratos brutos de plantas quimicamente definidos (Mestrado). [Dissertação]. Belo Horizonte: Departamento de Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais; 1990.
10. Cravo MP, Rosário VE. Aspectos de genética molecular da resistência aos fármacos antimaláricos. Boletim Biotecnologia. 2002;73:2-8.
11. Viana GMR, Machado RLD, Calvosa VSP, Póvoa MM. Mutations in the *pfm*dr1, *cg2* and *pfcr*t genes in *Plasmodium falciparum* samples from endemic malaria areas in Rondonia and Pará states, Brazilian Amazon region. Caderno Saúde Pública; 2006;22:2703-11.

Recibido: 30 de agosto de 2010.

Aprobado: 30 de diciembre de 2010.

Maria Fâni Dolabela. Rua Augusto Corrêa, 1 CEP: 66075-110, Belém, PA, Brasil.
Telef.: 55(91) 3201.7754. Correo electrónico: fani@ufpa.br