

UNA VISION A LA TERAPIA ANTIMALARICA TRADICIONAL Y ACTUAL DESDE EL DESCUBRIMIENTO HASTA SU POSIBLE DESARROLLO

RESUMEN

La malaria es una de las enfermedades para la cual, no existe hoy día el fármaco óptimo. La rápida propagación de la resistencia hacia los fármacos corrientes, motiva el estudio por la búsqueda de nuevas moléculas activas. La investigación etnobotánica se constituye en gran ayuda para encontrar alternativas más eficaces. Los remedios tradicionales siempre han sido una fuente de importantes agentes antimaláricos y continúan suministrando tratamientos efectivos, no solo cuando los farmacéuticos no están disponibles sino también cuando la enfermedad es altamente resistente a los medicamentos comúnmente prescritos. Con el ánimo de mostrar algunas bases para el desarrollo de nuevos antimaláricos, presento una recopilación comparativa de estudios recientes en compuestos naturales con actividad antiplasmodio, y terapias convencionales. Además un acercamiento al desarrollo de nuevos agentes antimaláricos.

PALABRAS CLAVES: *malaria, compuestos antiplasmodio, Plasmodium falciparum, Plasmodium berghei.*

ABSTRACT

Malaria is one of the diseases for which even today not many suitable drugs are available. The rapid spread of resistance toward current drugs encourages the study for new active molecules. Ethnobotanical research can be of help to find new leads. Traditional remedies have always been a source of important antimalarial drugs and continue to provide novel and effective treatments, both where pharmaceuticals are not available and also where the disease is highly resistant to commonly prescribed drugs. In this revision provides a comparative compilation of recent studies on natural compounds with antiplasmodial activity, and conventional therapy and an approximation for the development of new antimalarial agents.

KEYWORDS: *malaria, antiplasmodial compounds, Plasmodium falciparum, Plasmodium berghei*

1. INTRODUCCIÓN

La malaria es una enfermedad de países subdesarrollados, como consecuencia de varios factores: disponibilidad limitada de cuidados médicos y carencia de herramientas de diagnóstico en muchas áreas endémicas. Un estimado reciente de la incidencia global de la malaria refiere a cantidades ubicadas entre los 300 a 500 millones de casos clínicos reportados anualmente, de los cuales 1 a 3 millones de casos son fatales [1].

Se estima que más del 40% de la población mundial vive en áreas donde la malaria es endémica, las cuales se ubican principalmente en los trópicos y regiones subtropicales. La distribución global, como la endemidad, depende del tipo de mosquito, la especie de parásito y el clima [2].

Se han realizado varios esfuerzos organizados para controlar la transmisión de la enfermedad [3], las mayores iniciativas han sido dos: dirigidas a la eliminación tanto del parásito, como del agente transmisor; adicionalmente, intentos para desarrollar vacunas antimaláricas deben adicionarse a este esfuerzo

[4]. A pesar de los esfuerzos por reducir el impacto de la enfermedad, el número de casos de malaria está en continuo aumento [1,5] esto, debido a la resistencia del mosquito a los insecticidas y más importante aún, al rápido desarrollo de resistencia del parásito a los fármacos disponibles [6]. Sin embargo, la culminación del proyecto “Genoma del *Plasmodium falciparum* y *Anopheles gambiae*,” ofrece nuevas esperanzas para el control de la malaria [7].

La importancia de las plantas medicinales, ha sido apoyada frecuentemente por diferentes organizaciones internacionales como la Asamblea Mundial de la Salud [8] y la Organización Mundial de la Salud [9], quienes con el proyecto “Salud y Medicina Tradicional” han dado mucho valor a los remedios fitoquímicos. Teniendo en cuenta que mas del 80% de la población mundial usa plantas como su fuente primaria de agentes medicinales, no es sorprendente encontrar que en muchos países del mundo exista un sistema bien establecido de medicina tradicional, en donde los remedios están recopilados (Base de Datos Napralet, Base de Datos Etnobotánica y

RICARDO GAITÁN IBARRA

Departamento de Farmacia –
Facultad de Ciencias Químicas y
Farmacéuticas
Universidad de Cartagena-Campus
de Zaragocilla
Cartagena Colombia
rigaitan2003@yahoo.es

Fitoquímica del Dr. Duke, Tramil, etc.), por lo tanto, las plantas continúan siendo una fuente mayoritaria de productos naturales biológicamente activos, que pueden servir como entidades comercialmente significativas, o suministrar estructuras que sirvan de blanco para el desarrollo de derivados modificados, que posean toxicidad reducida y mejorada actividad.

Entre las enfermedades tratadas tradicionalmente con plantas medicinales, la malaria es una de las que merece especial atención, debido a que es una de las enfermedades tropicales más importantes, ya que ocasiona más muertes a personas, que cualquier otra enfermedad transmisible, con la excepción de la tuberculosis y el SIDA [10]. Aunque en principio se puede prevenir y curar, la mayoría de la población en riesgo, no puede pagar el alto costo que significa un tratamiento con medicamentos modernos; los remedios herbarios tradicionales son usados por las comunidades étnicas en el mundo en desarrollo.

A pesar de los avances en diseño de fármacos asistidos por computadoras, biología molecular, terapia génica, fármacos antisentido, etc; existe actualmente una gran necesidad por nuevos fármacos que permitan contrarrestar principalmente a patógenos resistente a las terapias actuales, hecho que constituye uno de los principales problemas de la malaria. Además de la necesidad por fármacos cada vez más seguros, es evidente que muchas terapias podrían resultar más eficaces si se contara con este tipo de sustancias, para ello la manipulación estructural de los compuestos que han presentado una buena actividad, pero estrecho margen de seguridad, sería el camino indicado.

Una descripción del proceso de manipulación estructural lo constituye el desarrollo de los derivados del producto natural extraído de *Artemisia annua*.

2. FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

El descubrimiento de los fármacos antimaláricos para combatir la enfermedad ha sido largo y no muy exitoso y los mecanismos de acción de muchos ellos no es totalmente conocido. Existe un mecanismo muy utilizado, para clasificar a estos fármacos según su actividad, en diferentes etapas del ciclo de vida del parásito.

2.1. Profilaxis causal

Un profiláctico causal es un agente que tiene un efecto letal en el parásito, en la etapa pre-eritrocítica y por lo tanto evita los síntomas de la enfermedad. Ejemplo de estos agentes es la primaquina, primetamina, proguanil dapsona y doxiclina. El término profilaxis causal verdadera, hace alusión al exterminio del parásito en la fase de esporozoitos, antes de que ellos infecten el hepatocito, ningún fármaco con estas características está disponible hoy día, aunque una profilaxis causal verdadera puede ser hecha con las vacunas.

2.2. Tratamientos supresores

Los tratamientos supresores significan supresión de la etapa eritrocítica manteniendo al paciente libre de síntomas si el tratamiento es temprano. Los fármacos utilizados para este propósito incluyen cloroquina y mefloquina. Esta clase de fármacos, simultáneamente con los de profilaxis causal, pertenecen a las terapias quimioprolácticas, utilizadas cuando se viaja a áreas donde la malaria es endémica.

2.3. Cura clínica

Los agentes pertenecientes a esta categoría son llamados también esquizontocidas sanguíneos, si interrumpen los esquizogonios eritrocíticos y terminan el ataque clínico. Este es el grupo más grande e incluye a las quinolinas metabólicas. (quinina y mefloquina), las 4-aminoquinolinas (cloroquinas), los fenantrenos (halofantrina), los antifolatos (pirimetamina, proguanil dapsona y sulfadoxina), el grupo de las artemisininas (dihidroartemisinina, artesunato y artemeter) y algunos antibióticos (tetraciclina y doxiciclina).

2.4. Cura radical

La cura radical se refiere no sólo a la erradicación de los parásitos en fase eritrocítica, sino también en fase preeritrocítica, como los hipnozoitos. Sólo la primaquina tiene esta acción

2.5. Prevención de la Transmisión

Estos agente evitan la transmisión a través del mosquito destruyendo los gametocitos (primaquina, proguanil, artemisininas y pirimetamina)

Otras formas de agrupar a estos fármacos es según su estructura química: I) *Grupo de las Quinolinas metanoles*: Esta clase de agentes, originarios de los alcaloides extraídos del tallo de la cinchona, están representados por la quinina y mefloquina. Durante centenares de años la quinina fue el único tratamiento efectivo utilizado contra la malaria, hoy con la aparición de cepas resistentes, su importancia ha regresado utilizándose en casos de malaria severa. La mefloquina es un fármaco relativamente barato, generalmente utilizado como profiláctico por los viajeros. El mecanismo de acción de este grupo, ha sido objeto de mucho estudio, pero aún no ha sido completamente entendido, la hipótesis más aceptada es la posible interferencia con la detoxificación de hemo a hemozoina [1]. II) *4-aminoquinolinas*: La cloroquina es la principal 4-aminoquinolina utilizada, en sus inicios no fue recomendada por se demasiado tóxica para los humanos, pero fue reconsiderada durante la segunda guerra mundial. Hasta hace una década la cloroquina fue el fármaco de primera elección en muchos lugares del mundo. Hoy, con la dispersión de la resistencia a estos fármacos, se ha visto limitado su uso. Varias hipótesis han sido propuestas para explicar su mecanismo de acción, al igual que las quinolinas metabólicas, el

mecanismo más probable es por interferencia con la formación de hemozoina, debido al enlazamiento hemo/hematina, lo que causa muerte en el parásito por envenenamiento con este complejo [11]. III) *8-aminoquinolinas*: La primaquina, derivado del azul de metileno [12], es el único fármaco en el mercado que puede efectuar una cura radical, eliminando los hipnozoitos. Otra alternativa es la tafenoquina [13], está bajo estudio en fase clínica [14], su mecanismo de acción es desconocido, pero parece haber un efecto en las mitocondrias del parásito. IV) *Fenantrenos*: Esta clase de fármacos fue descubierta durante la Segunda Guerra Mundial, sin embargo, debido a la eficiencia de la cloroquina, la halofantrina no fue mercadada sino hasta el 1988. Efectos cardíacos adversos y el alto precio, han limitado su uso. Tiene un efecto esquizotípico sanguíneo, aunque su mecanismo de acción aún se desconoce [14]. V) *Artemisininas, lactonas sesquiterpénicas*: Estos compuestos están relacionados con la Artemisinina, un sesquiterpeno aislado de la hierba *Artemisia annua*, la cual ha sido utilizada desde hace siglos en China para el tratamiento de la malaria [15] Además de las artemisininas naturales, el uso de derivados hemisintéticos se ha incrementado considerablemente en los últimos años [16]. La acción antimalárica está mediada por la formación de radicales libres, e involucra la formación de una ligadura covalente entre la artemisinina y membranas parasitarias, proteínas y hemo [16].

3. RESISTENCIA A FARMACOS

Hasta la fecha ha aparecido resistencia a todos los fármacos antimaláricos, con excepción de la artemisinina [17]. A pesar que aún no se ha encontrado, se cree que la resistencia a las artemisininas se desarrollará en un futuro cercano, como ha sido observado en *Plasmodium yoelii* en muridos [18].

Entre las especies parasitarias en el humano, la resistencia ha sido reportada inicialmente para *Plasmodium falciparum* y *vivax*, estas dos especies son responsables de más del 95% de todos los casos de malaria en el mundo, adicionalmente las cepas multiresistentes están apareciendo a nivel mundial [12].

Los mecanismos moleculares de resistencia dependen de la clase química y del mecanismo de acción del fármaco. Generalmente la resistencia aparece producto de mutaciones, o mecanismos que afectan la concentración del fármaco en el sitio de acción [17]. La resistencia a cloroquina se piensa que tiene causas multigénicas, lo que trae como resultado, un acceso limitado al complejo hemo/hematina, pero los detalles aún no han sido totalmente elucidados [17,18].

Según se ha observado, la resistencia a cualquier nueva droga es esperada. Las estrategias para prolongar el tiempo de vida útil son las terapias combinadas y el uso de fármacos tradicionales con alguna eficacia [19]. Varias combinaciones han sido aprobadas para uso clínico y otras se encuentran en desarrollo [16].

4. NUEVAS TENDENCIAS EN EL DESARROLLO DE FARMACOS ANTIMALARICOS.

Los enfoques utilizados en el desarrollo de fármacos antimaláricos han sido dos. El más utilizado es el desarrollo de análogos químicamente relacionados con antimaláricos ya existentes [20], por ejemplo, derivados trioxolanos estructuralmente menos complicados y más accesibles, relacionados con la artemisinina, han avanzado a fase clínica [21].

La otra alternativa es la identificación de nuevos blancos y el diseño de moléculas que actúen sobre ellos [20].

Los datos relacionados con la secuenciación del genoma de varias especies de plasmodio, se espera que sean de gran utilidad en este proceso

5. FÁRMACOS ANTIMALARICOS UTILIZADOS EN LA ACTUALIDAD

Aunque la malaria, diagnosticada a tiempo y adecuadamente tratada es curable, un limitado número de fármacos para su tratamiento está disponible hoy día [22].

La quinina, uno de los cuatro alcaloides principales encontrados en la corteza del árbol cinchona y utilizada por más de tres siglos, es aún el fármaco de escogencia en muchas partes del mundo, para el tratamiento de la malaria complicada y severa. Los efectos colaterales moderados son comunes, conocidos como cinchonismo (tinnitus, pérdida de la audición, mareo, náuseas, inquietud y visión borrosa). La hipoglicemia es el efecto colateral más serio y frecuente, aunque este fármaco es relativamente seguro durante el embarazo.

La Mefloquina; es un derivado estructuralmente relacionado con la quinina, introducido en la terapia en 1971. Es efectivo frente a todas las especies de malaria, incluyendo *P. Falciparum* multiresistente, pero ya han sido reportadas en varias partes del trópico [23,24] poblaciones de parásitos naturalmente resistentes. Los efectos tóxicos incluyen náuseas, molestias abdominales, vértigo, insomnio y malestar. Psicosis aguda y una encefalopatía transitoria con convulsiones son los efectos colaterales más serios, pero son generalmente cortos.

La cloroquina es ampliamente utilizada en áreas donde no ha aparecido una resistencia notable a la cloroquina; a pesar de la resistencia del parásito, es altamente efectiva frente a todas las especies de parásitos de la malaria, presenta baja toxicidad, bajo costo y alta tolerancia.

La Artemisinina, extraída de un remedio herbal chino, *Artemisi annua* y sus derivados (artesunato y artemeter), han presentad una alta eficacia en pruebas clínicas en adultos y niños con malaria severa y han sido bien tolerados. Los derivados de artemisinina, no inducen hipoglicemia en embarazadas, aunque hay aun poca información en su uso.

Combinaciones de Sulfadoxina-Pirimetamina, no deben ser suministradas durante el primer trimestre del embarazo. Las reacciones severas son raras cuando las contraindicaciones al uso de esta combinación son respetadas y utilizadas como tratamiento de dosis única en la forma prescrita, Malarona TM, es una nueva

combinación de fármacos, Proguanil y atovaquona, que tiene un efecto sinérgico [25].

Esta combinación ha sido sometida a largas jornadas de ensayos clínicos y se ha encontrado efectiva en el 95% de cepas resistentes de *P. falciparum*, ya se encuentra disponible en Australia como profiláctico, pero es un preparado bastante costoso.

6. ESTRATEGIAS ANTIMALÁRICAS HERBARIAS

Una estrategia de la OMS para el control global de la malaria, es fortalecer la capacidad de la investigación local, a fin de promover la evaluación de la situación de la malaria en los países endémicos. Particularmente, la investigación fundamentada en métodos antimaláricos tradicionales (RITAM) [26], soportados en remedios herbarios. El propósito de RITAM es facilitar el intercambio y la colaboración entre las investigaciones fitoquímicas en antimaláricos, con el ánimo de desarrollar una estrategia coordinada que garantice de una forma mas efectiva el uso de métodos antimaláricos tradicionales basados en la evidencia.

Actualmente los dos fármacos más efectivos contra la malaria son: la quinina y la artemisinina, ambos originarios de plantas; es probable que otras plantas contengan aún sustancias antimaláricas sin descubrir.

Muchas investigaciones han dirigido sus esfuerzos al aislamiento y purificación de antimaláricos de plantas. El screening de la biodiversidad local también ha sido prometedor, sin embargo, casi ninguna investigación ha alcanzado la eficacia clínica que tienen los remedios herbarios, al ser utilizados como tratamientos tradicionales.

7. EL DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS FÁRMACOS

Existen cuatro enfoques para seleccionar plantas que puedan tener nuevos agentes biológicos: el azar, la taxonomía, la fitoquímica y la etnofarmacología. Con el enfoque al azar, todas las especies disponibles son recolectadas, sin buscar conocimiento previo, ni experiencia. En el estudio taxonómico, las plantas de una familia o género dado, son consideradas de interés y localizadas en lugares diversos. En el farmacológico, se da crédito al uso tradicional de la planta y según esta información, el material vegetal es recolectado y evaluado, en todos los casos, esta evaluación se realiza a través de una serie de bioensayos; los extractos activos, son sometidos a fraccionamiento biodirigido, a fin de aislar el principio activo.

En la alternativa fitoquímica, tipos particulares de compuestos, por ejemplo: alcaloides indólicos, son buscados por su interés biológico y las plantas que probablemente tienen compuestos relacionados, son seleccionadas para estudio.

Muchos artículos de investigación de nuevos fármacos antimaláricos a partir de plantas, pueden encontrarse en la literatura, el enfoque etnofarmacológico es prevalente en este clase de investigación. En realidad, muchos

artículos dirigen la investigación a los extractos de plantas con actividad antimalárica, usadas por la población de países endémicos [27]. Sin embargo, el descubrimiento de compuestos activos de estos estudios, raramente ocurre; frecuentemente el screening farmacológico de extractos naturales implica muchos problemas, su complejidad química hace que un screening de alto rendimiento sea difícil y los resultados poco significantes. Compuestos como lípidos y taninos, pueden ejercer efectos de falsos-positivos en el ensayo farmacológico, por lo tanto, el análisis químico preliminar y la separación de compuestos, es un paso muy importante.

Algunos compuestos con actividad antimalárica pertenecientes a diferentes clases de metabolitos secundarios, se describen a continuación:

7.1. Quinonas

Un gran número de naftoquinonas naturales y sintéticas han mostrado actividad antiplasmodio. Entre las naftoquinonas aisladas de plantas superiores, la plumbagina, (Droseraceae), posee la mas fuerte actividad antimalárica frente a *Plasmodium falciparum* [28]; su CI_{50} 0.27 M, es interesante si la comparamos con agentes antimaláricos convencionales como la cloroquina (0.09 M) y pirimetamina (11.29 M). Con el fin de obtener datos concernientes con factores estructurales que afecten la actividad antiplasmodio de las naftoquinonas, los autores ensayaron algunos compuestos hemisintéticos, encontrando que la estructura quinona es fundamental para la actividad, mientras que la presencia de un heteroátomo como oxígeno o cloro en la posición tres del núcleo, causaba un debilitamiento, o pérdida de la actividad [29], a través de estudios posteriores en la enzima NADH deshidrogenasa del complejo respiratorio I. Fue reportado que esta enzima requiere de NADH y ubiquinona para una buena catálisis. Adicionalmente la plumbagina (análoga de las ubiquinonas) mostró un fuerte efecto inhibitorio frente a las enzimas purificadas. Este resultado podría explicar la actividad *in vitro* de la plumbagina.

Algunas furanonaftoquinonas aisladas de Bignoniaceae, usadas tradicionalmente en el Amazonas Colombiano y Brasileiro, presentaron una significativa inhibición de la etapa eritrocítica de *P. falciparum in vitro* (CI_{50} 0.67 M), mientras que la cloroquina fue activa a CI_{50} 0.11 M y frente a *P. berghei* CI_{50} 0.16 M, mientras que para la cloroquina se reportó CI_{50} 0.05 M, sin embargo, son necesarios estudios *in vivo* que evalúen su potencial toxicidad en mamíferos.

7.2. Terpenos

Después del descubrimiento del endoperóxido sesquiterpelactona, artemisinina, principio activo de *Artemisia annua* [30], muchas otras sesquiterpenlactonas han sido evaluadas como agentes antimaláricos. En las especies Asteraceae, nuevas sesquiterpenlactonas del tipo germacranólido fueron mostradas como activas frente a *Plasmodium falciparum in vitro*. El compuesto

neurolenina A y B, obtenido de *Neurolaena lobata* [31], mostró una actividad interesante (CI_{50} 0.92 M y 0.62 M, respectivamente, si los comparamos con agentes antimaláricos de referencia como artemisinina (CI_{50} 0.14 M) y quinina (CI_{50} 0.19 M). Algunos estudios estructurales sugieren que una función ceto y un grupo hidroxilo en el C-8, incrementa la actividad antiplasmodio. Los autores concluyeron que el efecto de las neuroleninas, no es debido a su toxicidad general, causada por las propiedades alquilantes del grupo metileno exocíclico, fusionado al anillo de lactona, sino que además es dependiente de un mecanismo de acción más específico. Estos resultados pueden explicar el uso tradicional de las decocciones de *Neurolaena lobata* en América Central. Aunque la dilactona 16,17-dihidrobraccalixolido de *Vermonia brachycalyx* [32], una planta Keniana utilizada para el tratamiento de la malaria, mostró una fuerte actividad antiplasmodio (CI_{50} entre 5.9 a 3.2 M, en diferentes cepas de *Plasmodium falciparum*, también inhibe fuertemente la proliferación de linfocitos humanos a las mismas concentraciones, quiere decir que suprime el mecanismo inmune del organismo si se administra a humanos.

De las raíces de *Nardostachys chinensis* (Valerianaceae) [33] fueron aislados dos compuestos sesquiterpenoidales nardoperoxido e isonardoperoxido del tipo guaiana, la actividad antimalárica frente a *P. falciparum* presentó una CI_{50} de 1.5 y 0.6 M respectivamente. Estudios de citotoxicidad frente a células FM3A y KB mostraron que la selectividad (citotoxicidad/actividad antimalárica) de estos compuestos era comparable a la de quinina. Estos compuestos pueden considerarse como un nuevo tipo de fármacos antimaláricos promisorios. Recientes estudios sobre correlaciones estructura actividad biológica de triterpenoides tipo lupano [34] sugieren que cambios estructurales en la posición C-17, alteran radicalmente la actividad, lo cual soporta la carencia de actividad de la betulina, simultáneamente con la moderada actividad del ácido botulínico frente a cepas de *P. falciparum* resistentes y sensibles a cloroquina (CI_{50} 19.6 g/mL and 25.9 g/mL respectivamente; chloroquine CI_{50} 0.15 g/mL and 0.01 g/mL) [35]. El lupeol mostró un 45% de inhibición frente a cepas de *P. falciparum* resistentes a cloroquine cuando fue probado a 25 g/mL [36], pero fue inactivo *in vivo* frente a *P. berghei* a 15 mg/Kg. Cada modificación del esqueleto triterpenoidal modificó la potencia debido a cambios en su solubilidad, lo que alteró la interacción con el sitio de acción, o modificó las velocidades con que se llevó a cabo la alteración enzimática, sin embargo, es correcto recordar que *in vitro*, los ensayos antiplasmódicos están basados en un sistema unicelular y el sitio de acción de estos compuestos no está identificado, los efectos de estos tres factores no pueden ser valorados con la información disponible [35].

Los primeros estudios sobre actividad antimalárica de extractos de Simaroubaceae datan de antes de 1947, siguiendo estas observaciones, diferentes autores afirman que un número de cuasinoides (triterpenos modificados)

representados por bruceina A, B, D y brusatol, tienen actividad antimalárica *in vitro* frente a *P. falciparum* [37]. Estos compuestos presentaron una actividad significativa pero también exhibieron citotoxicidad general con baja selectividad. Los estudios de relación estructura-actividad de los cuasinoides han sugerido que una cetona insaturada en el anillo A y un puente oximetilénico en el anillo C, son generalmente necesarios, para la actividad antimalárica [38]. En la literatura reciente no hay muchos reportes sobre la identificación de nuevos cuasinoides de la familia Simaroubaceae, los resultados más interesantes, están dirigidos a los compuestos sintéticos 3,15-di-O-acetilbruceolido [39]. Este compuesto presentó una potente actividad *in vitro* frente a *P. falciparum*, equivalente a la de cloroquina [40] y también una potente actividad *in vivo* frente a tumores mamarios en ratones.

La familia Meliaceae, estrechamente relacionada con las Simaroubaceae, tiene principios amargos conocidos como limonoides, estos son triterpenoides polioxigenados biosintéticamente conectados con los cuasinoides. Algunas especies pertenecientes a estas familias, se utilizan ampliamente como antimaláricos o antipiréticos en medicina tradicional [41]. Una serie de limonoides como nimbinina, nimbolido, dihidrogedunina y azdirachtina, se conocen como moléculas poseedoras de actividad antimalárica [42].

Estudios más recientes [43] sobre relación estructura-actividad de algunos derivados geduninos, proponen la parte cetona insaturada en el anillo A y las función acetato en C-7 del anillo B, como importantes para la actividad antimalárica. También reportan que una combinación cloroquina y el limonoide gedunina presenta un efecto aditivo.

7.3. Alcaloides

Durante muchos años el alcaloide quinina ha sido utilizado como el fármaco antimalárico más importante, aunque muchos otros compuestos han sido desarrollados sintéticamente, utilizando la molécula de quinina como referencia, ningún otro alcaloide similar, ha sido encontrado en la naturaleza para ser utilizado para el tratamiento de la malaria.

De *Hernandia voyronii* (Hernandiaceae), una planta utilizada tradicionalmente en Madagascar como coadyuvante de la cloroquina en el tratamiento de la malaria [44], aislaron una serie de alcaloides benciltetrahydroisoquinolinas (hervelinas, reticulita y laudanosina), en la búsqueda de los efectos biológicos de estos compuestos, los autores encontraron una moderada actividad antiplasmodio *in vitro*, pero ellos mostraron una interesante acción potenciadora de la cloroquina, según los autores, la parte tetrahydroisoquinolina y la metilación del grupo hidroxilo en C-12' podría ser responsable, al menos parcialmente, de la actividad de las series hervalina

En dos familias de lianas tropicales, (Ancistrocladaceae

y Dioncophyllaceae), conocidas en la medicina tropical de países Africanos y Asiáticos para el tratamiento de la malaria, están presentes alcaloides naftilisoquinolina [45]. Experimentos *in vivo* encontraron que el porcentaje de parasitemia, fue superior a los obtenidos con los fármacos antimaláricos de referencia, dioncofilina C en particular, debido a sus propiedades farmacocinéticas y biodisponibilidad en sangre y baja toxicidad, lo catalogan como un candidato promisorio para futuros desarrollos en la fase preclínica y clínica.

Entre los alcaloides aporfina, la (-)-roemrefidina, aislado de *Sparattanthelium amazonum* [46], actúa con un mecanismo diferente de acción en el nivel de maduración del parásito, no teniendo efecto alguno en la reinvasión eritrocítica y presentó también una interesante actividad *in vivo* frente a *P. berghei*. (DE₅₀ 5.98 mg/Kg, 4 días, DE₅₀ de cloroquina fue 0.98 mg/Kg/ 4 días. La dioncofilina C en particular, debido a sus propiedades farmacocinéticas, disponibilidad en el torrente sanguíneo y baja toxicidad, tiene que ser catalogada como candidato promisorio para futuros desarrollos en fase preclínica y clínica.

Los azaporfinoides hadrantina A, sampangina y 3-metoxisampargina, fueron encontrados como agentes antimaláricos, constituyentes de *Duguetia hadrantha* (Annonaceae) [47]. Debido a que estos alcaloides fueron más activos frente al clon W2 de *P. falciparum*, resistente a cloroquina (CI₅₀ 68 a 120 ng/mL ; cloroquina CI₅₀ 140 ng/mL), con ausencia de citotoxicidad hacia diferentes líneas celulares, esto garantiza investigaciones adicionales como potenciales blancos antimaláricos.

La criptolepina es un alcaloide indolquinolina, extraído de las raíces [48] y hojas [49] de *Cryptolepis sanguinolenta* (Asclepiadaceae). Esta planta es ampliamente utilizada en el tratamiento de la malaria en Ghana. En este compuesto, aislado por primera vez en 1929, se determinó su actividad antiplasmodio *in vitro* e *in vivo* en 1995. Se encontró que la actividad *in vitro* fue dos veces más fuerte que la de cloroquina (CI₅₀ 0.134 μ M y CI₅₀ 0.230 μ M para cloroquina) pero fue inactivo en el modelo *in vivo* de *P. berghei* en ratones. Sin embargo, se encontró un significativo efecto quimiosupresor frente a *P. berghei yohii*

Los alcaloides indólicos icajina, isoretulina y strichnobilina de *Strychnos spp.* [50], carecen de actividad significativa *in vitro*, no obstante, ellos revierten la resistencia a cloroquina en dos cepas diferentes de *P. falciparum* a concentraciones de 2.5 a 25 μ g/mL. La icajina presentó también un efecto sinérgico con mefloquina, cuando se ensayó en la cepa F32 mefloquinaresistente de *P. falciparum*, ninguna relación estructura actividad pudo ser establecida para los tres compuestos; los alcaloides activos no tienen sustitución en el anillo indólico.

La Icajina afecta ambos tipos de resistencia a concentraciones no tóxicas para las células humanas (línea celular de cáncer humano HCT-116), podría ser utilizada para comprender el mecanismo de

multiresistencia a cloroquina y mefloquina del *P. falciparum*.

Por el contrario vocamina, un alcaloide bis-indólico aislado de especies *Voacanga* [51] y luego de otras especies de Apocynaceae como *Peschiera fuchsiaeifolia* [52], presentó actividad antiplasmodio *in vitro* frente a cepas sensibles (CI₅₀ 238 ng/mL) y resistentes a cloroquina W2 (CI₅₀ 290 ng/mL) y también *in vivo* con actividad menos pronunciada que la cloroquina antimalárica de referencia (CI₅₀ 5.2 ng/mL para D6, y 76.6 ng/mL para W2).

7.4. Péptidos

Otros reinos han reportado compuestos antimaláricos, por ejemplo, el ácido hirsutólico A un nuevo tetrapéptido que posee un resto de ácido antranílico, en el C-terminal, fue aislado de un caldo de fermentación del hongo entomopatogénico *Hirsutella sp* BCC1528, exhibió actividad frente a *P. falciparum* K1 con un valor de CI₅₀ 8.0 μ M, y no fue citotóxico en células Vero a concentraciones 95 μ M [53].

8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La malaria es una de las enfermedades para la cual no existen muchos fármacos disponibles en la terapia moderna y hay una rápida dispersión de la resistencia del parásito a nivel mundial, por lo tanto, la investigación de nuevos agentes de origen natural, utilizando principalmente métodos etnofarmacológicos, es particularmente importante, sin descartar las oportunidades que significa la explotación en fuentes marinas. En realidad, el estudio de los productos naturales ha sido y continúa siendo una muy buena alternativa para el descubrimiento de nuevos fármacos.

El principal papel de las investigaciones etnofarmacológicas, es evaluar y validar el uso tradicional de las plantas medicinales en los países en desarrollo. Esta información puede ser utilizada para identificar preparaciones etnomédicas eficaces y como fuente para el desarrollo de nuevas moléculas. El aislamiento de nuevas moléculas activas, es el paso básico para comprender el mecanismo de acción y emprender estudios toxicológicos y pruebas clínicas confiables. Muchos extractos han sido probados por su actividad antiplasmodio, pero sólo un número limitado de compuestos, pertenecientes a diferentes clases moleculares se han podido aislar e identificar, algunos de ellos no son particularmente activos, pero pueden ser interesantes debido a que podrían incrementar la actividad de la cloroquina o restaurar la sensibilidad a este fármaco en cepas resistentes de plasmodio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] BREMAN, J.G. The Eras of the Hippotamus Manifestation, Determinants, and estimates of the Malaria Burden. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 64 (1,2)S, 1-11, 2001.

- [2] SACHS, Malaney P. The Economics and Social Burden of Malaria. *Nature*. 415, 680-685, 2002.
- [3] ALELIO, Martin S. Bybjerg, I.C. Breman, J.G. Are Multilateral Malaria Research. And Control Programs the Most Successful ? Lesson from the Past 100 Years in Africa. *Am. J. Trop. Medicine Hyg.* 71, 268-278, 2004.
- [4] RICHIE, T.L., Saul, S. Progress and Challenges for Malaria Vaccines. *Nature*, 415, 694-701, 2002.
- [5] SNOW, R.W., Trafe, J.F., Marsh, K. The Past Present and future of Childhood Malaria Mortality in Africa. *Trends Parasitol.* 17, 593-597, 2001.
- [6] GREENWOOD, B., Mutabingwa, T. Malaria in 2002. *Nature (London, United Kingdom)* 415, 670-672, 2002
- [7] HOFFMAN, S.L., Subramanian, G.M., Collins, Frank,H., Venter, J.C. Plasmodium Human and Anopheles Genomics and malaria. *Nature*, 415, 702-709, 2002.
- [8] WHA 1991b. WHO Policy System Eighty-Seventh Session EB87.R24 Traditional Medicine and Modern Health Care. Geneva, 1991. January 14–25.
- [9] WHO 1996. “Traditional Medicine ” Fact Sheet No. 134, September 1996.
- [10] WHO 2001a. “The World Health Report 2001”, pp.144-145, 150-151, 2001.
- [11] VIPPAGUNTA, S.R., Dorn, A., Ridley, R.G., Vennestrom, J.L. Characterization of Chloroquine-hematin μ -Oxo Dimer Binding by isothermal Titration Calorimetry. *Biochim. Biophys. Acta* 1475, 133-140, 2000.
- [12] GREENWOOD, D. The Quinine Connection. *J. Antimicrob. Chemother.* 30, 417-427, 1992.
- [13] WALSH, D.S., Camila, C., Sasiprapha, T., Sangkharomya, S., and et.al. Efficacy of Monthly tafenoquine for Prophylaxis of *Plasmodium vivax* and Multidrug-resistant *P. falciparum* Malaria. *J. infect. Dis.* 190, 1456-1463, 2004.
- [14] BELL, A. Recent Developments in the Chemotherapy of Malaria. *Drugs*. 3, 310-317, 2000.
- [15] KLAYMAN, D.L., Qinghaosu (Artemisinin): An Antimalarial Drug from China. *Science* 228, 1049-1055, 1985.
- [16] WIESNER, J., Ortmann, R., Jomaa, H., Schiltzer, M. New Antimalarial Drugs. *Angew. Chem. Int. Ed.* 42, 5274-5293, 2003.
- [17] WHITE, Nicholas, J. Antimalarial Drugs Resistance. *J. Clin. Invest.* 113, 1084-1092, 2004.
- [18] ZHANG, H., Paguio, M., Roepe, P.D. The Antimalarial Drug Resistance Protein P. falciparum Chloroquine Resistance Transporter Binds Chloroquine. *Biochemistry*, 43, 8290-8296, 2004.
- [19] KREMSNER, P.G., Krishna, S. Antimalarial Combinations. *Lancet*, 364,, 285-294, 2004.
- [20] WOSTER, P.M. New Therapies for Malaria. *Ann. Rep. Med. Chem.* 38, 203-211, 2003.
- [21] VENNESTROM, J.L., Arbe-Barnes, S., Brun, R., Chaman, S.A., Chiv, F.C.K., Chollet,J., Dong, Y., et. al. Identification of a fan Antimalarial Synthetic Trioxalane Drug development Candidate. *Nature*, 900-904, 430, 2004.
- [22] WHO. *Management of Severe Malaria: a Practical Handbook* 2nd ed. WHO, Geneva. 2000.
- [23] SIMPSON, J. A., Watkins, E. R., Price, R. N., Aarons, L., Kyle, D. E., and White, N. J. Mefloquine pharmacokinetic-pharmacodynamic models: implications for dosing and resistance. *Antimicrob. Agents Ch.* 44:3414–3424, 2000.
- [24] CALVOSA, V. S. P., Adagu, I. S., and Pova, M. *Plasmodium falciparum*: emerging mefloquine resistance *in vitro* in Para State, North Brazil. *T. Roy. Soc.Trop. Med. H.* 95:330–331, 2001.
- [25] LOOAREESUWAN, S., Chulay, J. D., Canfield, C. J., and Hutchinson, D. B. A. Malarone® (atovaquone and proguanil hydrochloride): a review of its clinical development for treatment of malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 60:533–541, 1999.
- [26] TDR 2000. TDR/PRD/MAL/00.1. Conference Report on the First International Meeting of the Research Initiative on Traditional Antimalarial Methods (RITAM). Held at Tumaini University of the Health Sciences, Moshi, Tanzania, December, 1999, 8–11.
- [27] DEHARO, E., Bourdy, G., Quenevo, C., Munoz, V., Ruiz, G, and Sauvain, M. 2001. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians. *J. Ethnopharmacol.* 77:91–98, 2001.
- [28] LIKHITWITAYAWUID, K., Kaewamatawong, R., Ruangrunsi, N., and Krungkrai, J.. Antimalarial naphthoquinones from *Nepenthes thorelii*. *Planta Med.* 64:237–241. 1998.
- [29] KRUNGKRAI, J., Kanchanarithsak, R., Krungkrai, S.R., and Rochanakij, S.. Mitochondrial NADH dehydrogenase from *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium berghei*. *Exp. Parasitol.* 100:54–61, 2002
- [30] TRIGG, P.I., In: *Economic and Medicinal Plant. Research.*, Wagner, H., Hikino, H., and Farnsworth, N. R., Eds., Academic Press, London. Vol.3, pp. 20–56, 1989.
- [31] FRANCOIS, G., Passreiter, C. M., Woerdenbag, H. J., and Van Looveren, M. Antiplasmodial activities and cytotoxic effects of aqueous extracts and sesquiterpene actones from *Neurolaena lobata*. *Planta Med.* 62:126–129, 1996.
- [32] OKETCH-RABAH, H. A., Lemmich, E., Dossaji, S. F., Theander T.G. Olsen, C. E., Cornett, C., Kharazmi, A., and Brøgger Christensen S. Two new antiprotozoal 5-methylcoumarins from *Vernonia brachycalyx*. *J. Nat. Prod.* 60:458–461, 1997.
- [33] TAKAYA, Y., Kurumada, K., Takeuji, Y., Kim, H. S., Shibata, Y., Ikemoto, N., Wataya, Y., and Oshima, Y.. Novel antimalarial guaiane-type

- sesquiterpenoids from *Nardostachys chinensis* roots. *Tetrahedron Lett.* 39:1361–1364, 1998.
- [34] BRINGMANN, G., Koppler, D., Wiesen, B., François, G., Sankara Narayanan, A. S., Almeida, M. R., Schneider, H., and Zimmermann, U. Ancistroheynine A, the first 7,8'-coupled naphthylisoquinoline alkaloid from *Ancistrocladus heyneanus*. *Phytochemistry* 43:1405–1410, 1996.
- [35] STEELE, J. C. P., Warhurst, D. C., Kirby, G. C., and Simmonds, M. S. J. *In vitro* and *in vivo* evaluation of betulinic acid as an antimalarial. *Phytother. Res.* 13:115–119, 1999.
- [36] DE ALMEIDA Alves, T. M., Nagem, T. G., de Carvalho, L. H., Krettli, A. U., and Zani, C. L. 1997. Antiplasmodial triterpene from *Vernonia brasiliensis*. *Planta Med.* 63:554–555.
- [37] ANDERSON, M. M., O'Neill, M. J., Phillipson, J. D., and Warhurst, D. C. *In vitro* cytotoxicity of a series of quassinoids from *Brucea javanica* fruits against KB cells. *Planta Med.* 57:62–64, 1991.
- [38] FUKAMIYA, M. O. and Lee, K. H. 1990. In: *Studies in Natural Products Chemistry*. Vol. 7, pp. 369–404. Rahman, A., Ed., Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- [39] KIM, H., Shibata, Y., Ko, N., Ikemoto, N., Ishizuka, Y., Murakami, N., Sugimoto, M., Kobayashi, and M., Wataya, Y. Potent *in vivo* antimalarial activity of 3,15-di-O acetylbruceolide against *Plasmodium berghei* infection in mice. *Parasitol. Int.* 48:271–274, 2000.
- [40] MURAKAMI, N., Umezome, T., Mahmud, T., Sugimoto, M., Kobayashi, M., Wataya, Y., and Kim, H. S. Antimalarial activities of acylated bruceolide derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 8: 459–462, 1988.
- [41] WEENEN, H., Nkunya, M. H. H., Bray, D. H., Mwasumbi, L. B., Kinabo, L. S., and Kilimali, V. A. E. B. Antimalarial compounds of Tanzanian medicinal plants. *Planta Med.* 56:368–370, 1990.
- [42] BRAY, D. H., Connolly, J. D., O'Neill, M. J., Phillipson, J. D., and Warhurst, D. C. Plants as sources of antimalarial drugs. VI. Activity of some Meliaceae plants and their constituent limonoids. *Phytother. Res.* 4:29–35, 1990.
- [43] BICKII, J., Njifutie, N., Foyere, J. A., Basco, L. K., and Ringwald, P. *In vitro* antimalarial activity of limonoids from *Khaya grandifoliola* C.D.C. (Meliaceae). *J. Ethnopharmacol.* 69:27–33, 2000.
- [44] RASOANAIVO, P., Ratsimamanga-Urveg, S., Rafatro, H., Ramanitrahasimbola, D., and et. al. Alkaloids of *Hernandia voyronii*: chloroquine-potentiating activity and structure elucidation of herveline D. *Planta Med.* 64:58–62, 1998.
- [45] FRANÇOIS, G., Bringmann, G., Schneider, H., Timperman, G., and Aké Assi, L. Activities of extracts and naphthylisoquinoline alkaloid from *Triphyophyllum peltatum*, *Ancistrocladus abbreviatus* and *Ancistrocladus barteri* against *Plasmodium berghei* (Anka strain) *in vitro*. *J. Ethnopharmacol.* 46:115–120, 1995.
- [46] MUÑOZ, V., Sauvain, M., Mollinedo, P., Callapa, J., Rojas, I., Gimenez, A., Valentin, A., and Mallié, M. Antimalarial activity and cytotoxicity of (–)- roemrefidine isolated from the stem bark of *Sparattanthelium amazonum*. *Planta Med.* 65:448–449, 1999.
- [47] MUHAMMAD, I., Dunbar, C. D., Takamatsu, S., Walker, L. A., and Clark, A. M. Antimalarial, citotoxic, and antifungal alkaloids from *Duguetia hadrantha*. *J. Nat. Prod.* 64:559–562, 2001.
- [48] KIRBY, G. C., O'Neill, M. J., Phillipson, J. D., and Warhurst, D. C. *In vitro* studies on the mode of quassinoids with activity against chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum*. *Biochem. Pharm.* 38:4367–4374, 1989.
- [49] PAULO, A., Gomes, E. T., Steele, J., Warhurst, D. C., and Houghton, P. J. Antiplasmodial activity of *Cryptolepis sanguinolenta* alkaloids from leaves and roots. *Planta Med.* 66:30–34., 2000.
- [50] FRÉDÉRICH, M., Hayette, M. P., Tits, M., De Mol, P., Angenot, L. Reversal of chloroquine and mefloquine resistance in *Plasmodium falciparum* by the two monoindole alkaloids, icajine and isoretuline. *Planta Med.* 67:523–527, 2001.
- [51] JANOT, M. M., and Goutarel, R. Alcaloïdes des *Voacanga*: voacangine et vobtusine. *C. R. Seances Acad. Sci.* 240:1719–1721, 1955
- [52] FEDERICI, E., Palazzino, G., Nicoletti, M., and Galeffi, C. Antiplasmodial activity of the alkaloids of *Peschiera fuchsiaefolia*. *Planta Med.* 66:93–95, 2000.
- [53] JIRAPORN Thongtan, Janya Saenboonrueng, Pranee Rachtawee, and Masahiko Isaka. An Antimalarial Tetr peptide from the Entomopathogenic Fungus *Hirsutella* sp. BCC 1528. *J. Nat. Prod.*, 69, 713-714, 2006.