

Actividad antiplasmodial y citotóxica de extractos etanólicos de especies de género *Piper*

[Antiplasmodial and cytotoxic activity of ethanol extracts of species of the genus *Piper*]

Ana María MESA VANEGAS¹, Jhon Fredy TORO SUAZA¹, Felipe CARDONA NARANJO¹ & Silvia BLAIR TRUJILLO^{1*}

¹Grupo de Investigación Malaria. Sede de Investigación Universitaria (SIU). Carrera 62 52-59. Torre 1. Lab. 610 SIU. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. A.A 1226. Medellín, Colombia
Contactos / Contacts: Silvia BLAIR TRUJILLO - E-mail address: malaria@arhuaco.udea.edu.co

Abstract

Plasmodium resistance to antimalarial drugs has expanded and intensified, making urgent new and effective antimalarials. The aim of this study was to evaluate the antiplasmodial and cytotoxic activity of *Piper aduncum* L., *Piper auritum* Kunth, *Piper jericense* Trel. & Yunck, *Piper obrutum* Trel. & Yunck, *Piper marginatum* Jacq collected in Antioquia, Colombia. The results of antiplasmodial activity (IC₅₀) ranged between 26.5 and 50 µg/mL and cytotoxicity (CC₅₀) between 8.67 and 100 µg /mL. We conclude that moderate activity antiplasmodial and was low cytotoxic activity for extracts of the genus *Piper* species evaluated.

Keywords: *Piper*, antiplasmodial activity, *Plasmodium falciparum*, cytotoxicity

Resumen

La resistencia de *Plasmodium* a los medicamentos antimaláricos se ha expandido e intensificado, lo que hace urgente nuevos y efectivos antimaláricos. El objetivo de este trabajo fue la evaluación de la actividad antiplasmodial y citotóxica de *Piper aduncum* L., *Piper auritum* Kunth, *Piper jericense* Trel. & Yunck., *Piper obrutum* Trel. & Yunck., *Piper marginatum* Jacq. Colectadas en Antioquia, Colombia. Los resultados de actividad antiplasmodial (IC₅₀) oscilaron entre 26,5 y 50 µg/mL y de citotoxicidad (CC₅₀) entre 8,67 y 100 µg/mL. Se concluye que se obtuvo moderada actividad antiplasmodial y baja actividad citotóxica para los extractos de las especies evaluadas de género *Piper*.

Palabras Claves: *Piper*, actividad antiplasmodial, *Plasmodium falciparum*, citotoxicidad.

Recibido | Received: 5 de Diciembre de 2011.

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 17 de Enero de 2012.

Publicado en línea | Published online: 30 de Marzo de 2012.

Declaración de intereses | Declaration of interests: Los autores agradecen el apoyo financiero brindado por el Ministerio de Agricultura de Colombia proyecto (N° 009-2007-V7552-38-07), a la Universidad de Antioquia por el Programa de Sostenibilidad 2011.

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: Ana M Mesa, Jhon F Toro, Felipe Cardona, Silvia Blair. 2012. Actividad antiplasmodial y citotóxica de extractos etanólicos de especies de género *Piper*. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 11(2): 154 – 162.

INTRODUCCIÓN

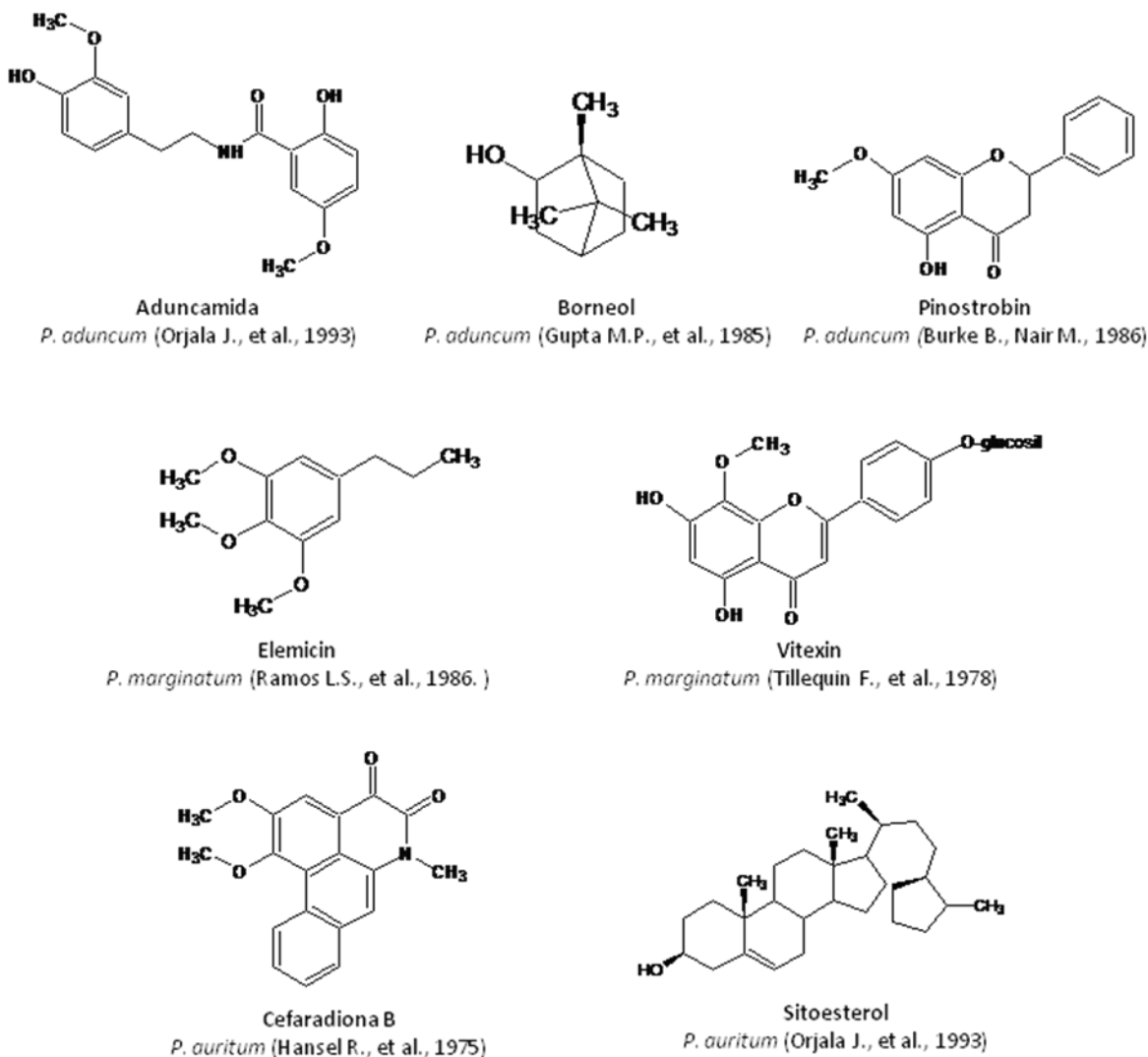
La malaria en el mundo es un grave problema de salud pública por la elevada carga de enfermedad que genera en el 40% de la población. Anualmente se presentan entre 300 a 500 millones de casos de malaria por año y mueren más de un millón de niños menores de 5 años (WHO, 2010a). La resistencia de *Plasmodium* a los medicamentos antimaláricos se ha expandido e intensificado en los últimos 15 años y la disminución de la eficacia de estos medicamentos ha sido documentada en muchos países donde la enfermedad es endémica, especialmente en Asia y África (WHO, 2010b). En estos países, muchas plantas constituyen la alternativa inmediata y principal de la atención básica en salud para tratar enfermedades endémicas, entre estas la malaria (Willcox, 2004). Gran parte de los medicamentos antimaláricos más utilizados para tratar la malaria tienen sus orígenes en plantas y han sido usadas a través de los tiempos por la medicina tradicional; primero fue *Chinchona sp.* (Rubiaceae) y luego *Artemisia annua* (Asteraceae); plantas de las cuales se extrajeron sus componentes activos y a partir de éstos se sintetizaron análogos, los cuales son utilizados actualmente para el tratamiento de la malaria (Vipan et al., 2009). En la actualidad muchas investigaciones han sido orientadas hacia la exploración de las potencialidades de las plantas en los países en vía de desarrollo.

El género *Piper* pertenece a la familia Piperaceae, se distribuye en todo el mundo con aproximadamente 2300 especies. Este género tiene una gran importancia comercial y económica, para la industria de condimentos, farmacéutica, insecticida y se ha reportado un amplio uso tradicional en la alimentación y en el tratamiento de diversas enfermedades (Albiero et al., 2005). Entre las especies más conocidas está, *Piper nigrum*, de la cual se obtiene la pimienta, *Piper methysticum*, también conocida como “Kava-Kava” cuya bebida es usada en ceremonias en las culturas nativas del Océano Pacífico como Polinesia, Vanuatu, Melanesia y algunas partes de Micronesia y Australia (Lentz, 1993). En la medicina tradicional el género *Piper* tiene un gran uso para tratar enfermedades como la malaria, anemia, cólera, diabetes, asma, bronquitis, neumonía, gripe, reumatismo y artritis (D’Angelo et al., 1997). Químicamente los constituyentes más comunes de este género son ácidos benzoicos prenilados, propenilfenoles, lignanos, neolignanos, terpenos, flavonoides, kawalactonas, epóxidos y alcaloides

como la isobutilamina, piperidina y pirrolidina entre otros (Parmar et al., 1997; Lago et al., 2009). La actividad antiplasmodial *in vitro* se ha reportado para especies de género *Piper*; entre estas extractos de *Piper capense* L.f. (Piperaceae) con moderada actividad en cepa (W2) cloroquino resistente de *Plasmodium falciparum* (Kaou et al., 2008). También se han reportado estudios de la actividad antimalárica *in vivo* de extractos alcohólicos de *Piper friedrichsthalii* C. DC, demostrando ser activos en ratones *Swiss* infectados con *Plasmodium berghei* (Carmona et al., 2011); igualmente el extracto metanólico de las hojas de *Piper betle* evaluado en ratones infectados con *P. berghei* (NK65) en un rango de concentraciones de (50-400 mg / kg), mostraron actividad esquizonticida en los modelos de evaluación para antimaláricos (Al-aldhroey et al., 2010).

El presente trabajo tiene como objetivo valorar la actividad antiplasmodial y citotóxica de los extractos etanólicos de diferentes especies de *Piper* colectadas en San Luis - Antioquia (Colombia): *P. aduncum*, *P. auritum* Kunth, *P. marginatum* Jacq., *P. jericense* Trel. & Yunck y *P. obrutum* Trel. & Yunck. En algunas de estas plantas se ha reportado estudios de aislamiento y caracterización de metabolitos como en *Piper aduncum* donde se ha reportado diversidad de metabolitos como la aduncamina, borneol y pinostrobin; en *P. marginatum* se ha caracterizado la elemicina y vitexina; en *P. auritum* se ha reportado compuestos como la cefaradiona B y el sitosterol (Véase Figura 1). En cuanto a la actividad antiplasmodial existen dos reportes de la especie *Piper aduncum*, el primero evalúa la actividad antiplasmodial del extracto etanólico con una concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) de 10 µg/mL en cepa (FCR3) cloroquino resistente de *P. falciparum* (Valadeau et al., 2009) y el segundo reporta moderada actividad antiplasmodial de un ácido benzoico prenilado con una IC₅₀=3,2 µg/mL (Flores et al., 2009). Las demás especies *P. auritum* Kunth, *P. marginatum* Jacq., *P. jericense* Trel. & Yunck y *P. obrutum* Trel. & Yunck. no presentan ningún reporte en la literatura en cuanto a estudios de actividad antiplasmodial en las Bases de datos consultadas: SciFinder Scholar, ScienceDirect, PubMed, SciELO (10 de Enero de 2012). Los resultados se discuten en este documento con el fin realizar posteriores estudios fitoquímicos biodirigidos y desarrollar estudios que nos permitan encontrar plantillas estructurales y evaluar su actividad como potenciales antimaláricos.

Figura 1



Compuestos aislados de las especies *P. aduncum*, *P. auritum* y *P. marginatum*.

MATERIALES Y METODOS

Colección del material vegetal

Cinco plantas de género *Piper* (Piperaceae) fueron colectadas en San Luis - Puerto Triunfo, Antioquia, Colombia. La identificación de estas especies fue realizada por el botánico Felipe Cardona de la Universidad de Antioquia, especímenes de herbario fueron procesados y depositados en el herbario Universidad de Antioquia (HUA), y determinados como: *P. aduncum*, *P. auritum* Kunth, *P. marginatum*

Jacq., *P. jericóense* Trel. & Yunck y *P. obrutum* Trel. & Yunck (Véase número Voucher en Tabla 2).

Preparación de extractos etanólicos

El material vegetal por separado hojas y tallos se secaron a temperatura ambiente durante 10 días y posteriormente se molieron con un tamaño de partícula de 5mm. Se llevó a un proceso de percolación hasta agotamiento (5 días/3 veces), utilizando etanol destilado como solvente. Posteriormente se filtró y se concentró el extracto con un rotavaporador. Los

porcentajes de extracción se calcularon según la Ecuación 1.

Ecuación 1

$$\% \text{ de Extracción} = \frac{\text{Peso Extracto}}{\text{Peso Material Vegetal}} \times 100$$

Se realizó cromatografía de capa delgada (CCD) soportada con Sílica-gel 60 GF254 Merck® en diferentes sistemas de elusión y se revelaron en lámpara UV (258 nm) y con el reactivo Dragendorff para determinar la presencia de alcaloides en los extractos. Posterior se realizó una marcha fitoquímica para determinar la presencia de núcleos químicos como: terpenos y/o esteroides, alcaloides, flavonoides y propenilfenoles (Hostettmann, 2008).

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LOS EXTRACTOS

Ensayos de actividad antiplasmodial

Los ensayos de actividad antiplasmodial *in vitro* se realizaron en la cepa (NF-54) cloroquino sensible (Ponnudurai *et al.*, 1981). La cepa de *P. falciparum* fue mantenida en cultivos continuos en el laboratorio del Grupo Malaria de la Universidad de Antioquia. Estas cepas fueron cultivadas y mantenidas según el método de Trager and Jensen (1976); usando una suspensión de eritrocitos humanos tipo A+ al 5%, en medio de cultivo RPMI-1640 (Sigma R6504) disuelto en agua estéril con 25 mM de HEPES, 5,0% de NaHCO₃, suero humano fresco tipo A+ al 10% (inactivado a 56 °C por 30 minutos); incubado en una atmósfera de 5% de O₂, 5% de CO₂ y 90% de N₂. Se realizó cambio de medio diariamente y se adicionaron glóbulos rojos frescos dos veces por semana.

Los ensayos se realizaron en placas de 96 pozos de fondo plano marca Falcon®. Se preparó una suspensión de glóbulos rojos parasitados con un hematocrito del 2,5% y una parasitemia del 1%. El cultivo con los tratamientos y el control positivo cloroquina (CQ), se incubaron a 37 °C durante 48 horas en atmósfera de 5% CO₂, 5% O₂ y 90 % de N₂. Posteriormente, se transfirió el contenido de cada pozo a platos Greiner Pro one y los parásitos fueron marcados con una solución de SYBR® Green I 2X en buffer de lisis. Los platos se incubaron a temperatura ambiente durante una hora en oscuridad y las unidades relativas de fluorescencia (RFU) fueron leídas en un espectrofluorómetro a una longitud de onda de excitación 485 nm y de emisión 538 nm. Los tratamientos a partir de cada extracto crudo se

prepararon a una solución madre de 10 mg/mL en DMSO puro y se llevaron a ultrasonido para facilitar la disolución. A partir de esta solución, se tomaron 50 µL y se ajustaron hasta 1000 µL con medio RPMI-1640 completo, obteniendo una concentración final de 0,5 mg/mL. La concentración de DMSO en la primera dilución fue de 1% que se ha demostrado no ser tóxica para el parásito. Se evaluaron 7 concentraciones de cada extracto en un rango entre 100 - 1,56 µg/mL, cada concentración se evaluó por duplicado en el plato y se realizaron tres ensayos independientes. El control CQ se evaluó en un rango entre 150 - 4,7 nM. Los datos de tres ensayos, se analizaron con el programa GraphPad Prism 5 para hallar la concentración inhibitoria 50 en µg/mL (IC₅₀) mediante un modelo de regresión logística no lineal. Para clasificar la actividad antiplasmodial de un extracto, el Grupo Malaria de la Universidad de Antioquia estableció un consenso para los extractos evaluados: altamente activo < 5 µg/mL, promisorios 6 - 15 µg/mL, moderada actividad 16 - 30 µg/mL, baja actividad 31 - 50 µg/mL y no active > 50 µg/mL.

Ensayos de citotoxicidad

Para evaluar la actividad citotóxica de los extractos se utilizó el método del bromuro 3-(4,5dimetiliazol-2il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT) según Mosmann, 1983; (Mosmann *et al.*, 1983; Bautista *et al.*, 2002), el cual revela daños celulares a nivel mitocondrial. Las células U-937 son promonocitos de linfoma histiocítico de humano y fueron mantenidas en cultivos continuos en el Laboratorio del Grupo Malaria. Estas células se cultivaron a 37° C y 5% de CO₂ en medio RPMI suplementado con 10% de Suero Bovino Fetal (SBF) inactivado. Los cambios de medio se realizaron cada 48 horas o de acuerdo a cambios de pH del medio, con centrifugación por 10 minutos a 1000 rpm, reemplazando con medio nuevo (Moore *et al.*, 1967).

En cámara de Neubauer se contaron las células U-937 y se sembraron en una placa de 96 pozos de fondo plano 200,000 células/mL en medio RPMI 1640 con 10% SBF. Se incubaron a 37° C con 5% CO₂ durante 72 horas en presencia de cada una de las siete concentraciones de cada extracto evaluadas en un rango entre 100 - 1,56 µg/mL, cada concentración se evaluó por duplicado en el plato y se realizaron tres ensayos independientes. Posteriormente, se midió la actividad de la deshidrogenasa mitocondrial, adicionando 20 µL/pozo de MTT a una concentración de 5 mg/mL e incubando durante 3 horas a 37° C y 5%

CO₂. Para disolver los cristales formados, se adicionaron 100 µL/pozo de una solución al 50% de isopropanol y 10% de SDS y se leyó la absorbancia a 595 nm en un lector de ELISA (BioRad). Los datos obtenidos de tres ensayos independientes se analizaron con el programa GraphPad Prism 5 para hallar la concentración tóxica en µg/mL (CC₅₀) mediante un modelo de regresión logística no lineal (Reed *et al.*, 2002). Para clasificar la citotoxicidad del extracto, el Grupo de Malaria de la Universidad de Antioquia estableció un consenso para las muestras evaluadas: altamente tóxico < 10 µg/mL, citotóxico 10 - 40 µg/mL, moderadamente citotóxicos 41 - 100 µg/mL y no citotóxicos > 100 µg/mL. Adicionalmente, se calculó el índice de selectividad (IS), el cual indica

selectividad hacia el parásito y corresponde a la relación entre la actividad citotóxica CC₅₀ y actividad antiplasmodial IC₅₀, valores de IS superior a 2 se consideraron extractos promisorios.

RESULTADOS

Los resultados de la marcha fitoquímica indican presencia de flavonoides en los extractos etanólicos de todas las especies, presencia de compuestos fenólicos para *P. aduncum*, *P. auritum* y *P. obrutum*, y presencia de terpenos y/o esteroides en todas las especies. En cuanto a la presencia de alcaloides se presentó poca cantidad en todas las especies excepto para la especie *P. marginatum*, en la cual se observó una moderada presencia de estos metabolitos (Véase Tabla 1).

Tabla 1
Marcha fitoquímica para los extractos etanólicos de las hojas de especies del género *Piper*.

Prueba cualitativa	Prueba específica	Especies vegetales (Hojas)				
		<i>Piper aduncum</i> L	<i>Piper auritum</i> Kunth	<i>Piper jericense</i> Trel. & Yunck	<i>Piper marginatum</i> Jacq.	<i>Piper obrutum</i> Trel. & Yunck
Flavonoides	Shinoda	+	+	+	+	+
	Zn/HCl	+	+	+	+	+
Compuestos fenólicos	FeCl ₃ al 10% acuoso	++	++	+	+	++
Terpenos y/o esteroides	Liebermann-Burchard	++	++	++	++	++
Alcaloides	Dragendorff	+	+	+	++	+
		+: Poco	++ : Moderado	+++ : Abundante	- : Ausente	

Los números Voucher y los rendimientos de la extracción provenientes de las diferentes especies de *Piper* se presentan en la Tabla 2. Los porcentajes de material extractable mostraron mejores rendimientos para el extracto etanólico de las hojas de *P. aduncum* con 3,845%. Ninguna asociación se encontró entre los rendimientos de extracción y las pruebas biológicas que se realizaron. Para todos los 10 extractos etanólicos se encontró una adecuada relación dosis respuesta en ambos ensayos y el control positivo cloroquina presentó un valor promedio de IC₅₀ = 23,91 ± 2,78 nM. Los resultados de actividad antiplasmodial

y actividad citotóxica de los extractos de las especies de *Piper* se presentan en la Tabla 2 y se clasificaron según el potencial antiplasmodial establecido por nosotros en el Grupo Malaria de la Universidad de Antioquia. En cuanto a la actividad antiplasmodial de los extractos obtenidos a partir de las especies de este género, 4 extractos fueron no activos, 4 extractos moderadamente activos y solo 2 presentaron moderada actividad. Ningún extracto se clasificó como altamente activo o promisorio. Respecto a la actividad citotóxica, 1 extracto fue altamente citotóxico, 5 extractos fueron citotóxicos y 2 moderadamente citotóxicos.

Tabla 2
Citotoxicidad y actividad antiplasmodial de los extractos etanólicos de *Piper*

Especie	Voucher	% rendimiento	IC ₅₀ (µg/mL)	CC ₅₀ (µg/mL)	IS***
			X ± SD*	X ± SD	
			Cepa de <i>P. falciparum</i> NF-54**	Línea Celular U-937	
Hojas <i>P. marginatum Jacq</i>	Cardona 1884	2,692	>50	41,31 ± 0,53	ND
Tallos <i>P. marginatum Jacq</i>	Cardona 1884	2,389	31,75 ± 3,04	25,99 ± 2,69	1,19
Hojas <i>P. obrutum Trel. & Yunck</i>	Cardona 1880	3,840	32,1 ± 1,06	95,19 ± 5,13	0,34
Tallos <i>P. obrutum Trel. & Yunck</i>	Cardona 1880	0,897	36,25 ± 4,31	43,12 ± 6,76	0,84
Hojas <i>P. jericense Trel. & Yunck</i>	Cardona 1879	1,610	27,94 ± 3,91	28,89 ± 5,26	0,97
Tallos <i>P. jericense Trel. & Yunck</i>	Cardona 1879	1,047	38,70 ± 6,36	22,53 ± 1,61	1,71
Hojas <i>P. auritum Kunth</i>	Cardona 1882	1,102	>50	30,05 ± 0,89	ND
Tallos <i>P. auritum Kunth</i>	Cardona 1882	ND	>50	8,67 ± 0,23	ND
Hojas <i>P. aduncum</i>	Cardona 1881	3,845	26,5 ± 3,46	40,60 ± 1,05	0,65
Tallos <i>P. aduncum</i>	Cardona 1881	1,460	>50	57,88 ± 6,43	ND

* X (Media) ± SD (Desviación estándar)

** Control positivo Cloroquina IC₅₀ = 23,91 ± 2,78 nM

*** Índice de Selectividad (IS) = CC₅₀ (µg/mL) / IC₅₀ (µg/mL)

NE: No evaluado

ND=No determinado

DISCUSION

Para las especies de género *Piper*, se ha demostrado la actividad contra *Plasmodium* en las especies de *P. cápense* L.f. (Piperaceae) con moderada actividad en cepa (W2) cloroquino resistente con una IC₅₀ = 7,0 µg/mL (Kaou et al., 2008), de *P. hostmannianum* con una IC₅₀ = 8,0 µg/mL (Portet et al., 2007), de *P. umbellatum* con un 70% de inhibición a 40 µg/mL y de *P. sarmentosum* con una IC₅₀ = 0,05 µg/mL (Rahman et al., 1999). También se ha demostrado la actividad antimalárica *in vivo* del extracto metanólico de las hojas de *Piper betle* evaluada en ratones infectados con *Plasmodium berghei* (NK65) en un rango de concentraciones de (50-400 mg / kg) (Al-aldhroey et al., 2010). Para las especies estudiadas en este manuscrito, las hojas de *P. marginatum* no presentaron actividad antiplasmodial IC₅₀ >50 µg/mL y presentaron una moderada citotoxicidad CC₅₀ = 41,31 µg/mL, para el extracto de tallos de la misma, se presentó baja actividad antiplasmodial con IC₅₀ = 31,75 µg/mL y resulto ser citotóxico con CC₅₀ = 25,99 µg/mL. Reportes de esta especie informan que las hojas son usadas en la medicina tradicional para el

tratamiento de mordidas de serpientes, enfermedades del hígado y la vesícula. Un estudio etnobotánico de la especie *P. marginatum* empleada como una combinación con la planta *Quassia amara*, reporta su uso como remedio para el tratamiento de la malaria en la Guyana Francesa, sin embargo no se informa sobre estudios experimentales *in vitro* e *in vivo* con esta especie (Vigneron et al., 2005). Estudios químicos de la misma, han demostrado la presencia de aceites esenciales y compuestos tipo propenilfenoles, terpenos, flavonas y flavanonas (Reigada et al., 2007). También se han analizado diferentes actividades biológicas como analgésica, antibacterial, antiinflamatoria (Autran et al., 2009) y en este reporte se presenta su actividad antiplasmodial. Para las hojas y tallos de *P. obrutum* se presentó baja actividad antiplasmodial y moderada citotoxicidad lo que indica la inespecificidad de su acción parasiticida. Esta especie no presenta reportes de composición química, ni de actividad biológica según las Bases de datos SciFinder Scholar, ScienceDirect, PubMed, SciELO consultadas el 10 de Enero de 2012. *P. jericense* tanto hojas como tallos son citotóxicos y su actividad antiplasmodial es

baja, los índices de selectividad indican que no hay una especificidad hacia el parásito con la actividad antiplasmodial presentada. De esta especie solo se presenta un reporte de actividad biológica, en el cual se encuentra un porcentaje de inhibición > 50 % para actividad antimicrobiana a una concentración de 128 µg/mL (Salazar et al., 2007). La especie *P. auritum* tampoco presentó actividad antiplasmodial, sin embargo el extracto de los tallos *P. auritum* presentó la más alta actividad citotóxica con una CC₅₀ de 8,67 µg/mL, indicando la presencia de compuestos de interés farmacológico en la búsqueda de anticancerígenos. Las hojas de esta especie se usan en forma tópica, para diversas afecciones como: dolor de cabeza y dolor abdominal, en decocción (vía oral) se usa para tratar la fiebre, para hemorragias por heridas se emplean las hojas y la raíz. Los compuestos aislados e identificados de *P. auritum* son de tipo alcaloide, amida, propenilfenoles, terpenos, esteroides y flavonas y entre las actividades biológicas se encuentran reportes de actividad antibacteriana y antifúngica (Parmar et al., 1997). El extracto de hojas de la especie *P. aduncum* presentó la mejor actividad antiplasmodial con una IC₅₀ = 26,5 µg/mL y una moderada citotoxicidad, sin embargo no tuvo un buen índice de selectividad < 1. Este resultado de actividad antiplasmodial obtenido en una cepa sensible NF-54 de *P. falciparum* se complementa con el reporte de Valadeau et al., 2009 donde se informa una IC₅₀=10 µg/mL en cepa cloroquino resistente FCB2 de *Plasmodium falciparum*. De esta planta se ha informado las hojas empleadas en infusión, decocción, y tintura para el tratamiento de úlceras simples del estómago, también se utiliza para el tratamiento de problemas estomacales, la apatía intestinal y cólicos ventosos. Para el tratamiento de heridas externas y hemorragias externas se usa una solución de tintura en la zona afectada y luego se aplica encima hojas secas pulverizadas (Gupta, 1995). Químicamente se han aislado e identificado compuestos de tipo alcaloide, amida, propenilfenoles, terpenos, esteroides, chalconas, dihidrochalconas y flavanonas (Parmar et al., 1997). Para esta especie se encuentran reportes de usos en la medicina tradicional en diferentes regiones, también para diferentes actividades biológicas como antifúngicos, antibacteriales y antiespasmódicos, entre las cuales se encuentra la actividad antiplasmodial de un ácido benzoico prenilado denominado ácido 3-[(2E,6E,10E)-11-carboxi-3,7,15-trimetil-2,6,10,14-hexadecatetraenil]-4,5-dihidroxibenzoico con una actividad sobre la cepa sensible a la cloroquina F32 de *Plasmodium falciparum* con una IC₅₀ = 32,2 µg/mL

(Flores et al., 2009) posiblemente a este compuesto se le atribuya la actividad presentada en el extracto de etanólico de las hojas.

CONCLUSIONES

De manera general se puede concluir que se obtuvo moderada actividad antiplasmodial y baja actividad citotóxica para los extractos de las especies evaluadas de género *Piper*. Dada la concentración inhibitoria 50 y la baja citotoxicidad para el extracto etanólico de las hojas de la especie *P. aduncum* con una actividad antiplasmodial de IC₅₀ = 26,5 µg/mL, se ameritan estudios fitoquímicos biodirigidos hacia validar su acción antimalarica y la caracterización de sus componentes químicos, en especial en la búsqueda de ácidos benzoicos prenilados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero brindado por el Ministerio de Agricultura de Colombia proyecto (N° 009-2007-V7552-38-07), a la Universidad de Antioquia por el Programa de Sostenibilidad 2011. A la microbióloga Claudia Barbosa por los ensayos de actividad antiplasmodial y citotóxica.

REFERENCIAS

- Al-Adhroey A, Nor Z, Al-Mekhlafi H, Amran A, Mahmud R. 2010. Antimalarial activity of methanolic leaf extract of *Piper betle* L. **Molecules** 16: 107 - 118.
- Albiero A, Souza L, Mourao K, Almeida O, Lopes W. 2005. Morfo-anatomia do caule e da folha de *Piper gaudichaudianum* Kuntze (Piperaceae). **Acta Farm Bonaerense** 24: 550 - 554.
- Autran E, Neves I, da Silva C, Santos G, da Camara C, Navarro D. 2009. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Biores Technol** 100: 2284 - 2288.
- Bautista C, Acosta E, Toledo I. 2002. Evaluación del bioensayo del MTT Para determinar la proliferación in vitro de linfocitos de bovino frescos y congelados. **Vet Mex** 31: 1 - 8.
- Burke B, Nair M. 1986. Phenylpropene, benzoic acid and flavonoid derivatives from the fruits of Jamaican *Piper* species. **Phytochemistry** 25: 1427 - 1430.
- Carmona M, Valerio I, Sánchez R, Mora V, Bagnarello V, Martínez L, González A, Vanegas J. 2011. Evaluación *in vivo* de la actividad antimalarica de 25 plantas

- provenientes de una Reserva de Conservación Biológica de Costa Rica. **Rev Chil Hist Nat** 84: 115 - 123.
- D'Angelo L, Zavier H, Torres L, Lapa A, Souccar C. 1997. Pharmacology of *Piper marginatum* Jacq. a folk medicinal plant used as an analgesic, antiinflammatory and hemostatic. **Phytomedicine** 4: 33 - 40.
- Flores N, Jimenez I, Gimenez A, Ruiz G, Gutierrez D, Bourdy G, Bazzocchi I. 2009. Antiparitic activity of prenylated benzoic acid derivatives from *Piper* species. **Phytochemistry** 70: 621 - 627.
- Gupta M. 1995. **270 Plantas Medicinales Iberoamericanas**. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, (CYTED) - Convenio Andrés Bello (SECAB). Santafé de Bogotá, DC, Colombia.
- Gupta MP, Arias T, Williams N, Bos R, Tattje D. 1985. Safrole, the main component of the essential oil from *Piper auritum* of Panamá. **J Nat Prod** 48: 330 - 335.
- Hansel R, Leuschke A, Gomez-Pompa A. 1975. Aparphenc-type alkaloides from *Piper auritum*. **Lerydia** 38: 529 - 535.
- Hostettmann K, Gupta MP, Marston A, Queiroz EF. 2008. **Manual de estrategias para el aislamiento de productos naturales bioactivos**. Programa iberoamericano de Ciencia y Tecnología. CYTED; Convenio Andrés Bello, Bogota, Colombia.
- Kaou A, Mahiou-Leddé V, Hutter S, Ainouddine S, Hassani S, Yahaya I, Azas N, Ollivier E. 2008. Antimalarial activity of crude extracts from nine African medicinal plants. **J Ethnopharmacol** 116: 74 - 83.
- Kaou A, Mahiou-Leddé V, Hutter S, Ainouddine S, Hassani S, Yahaya I, Azas N, Ollivier E. 2008. Antimalarial activity of crude extracts from nine African medicinal plants. **J Ethnopharmacol** 116: 74 - 83.
- Lago J, Chen A, Young M, Guimarães E, Oliveira A, Kato M. 2009. Prenylated benzoic acid derivatives from *Piper aduncum* L. and *P. hostmannianum* C. DC. (Piperaceae). **Phytochem Lett** 2: 96 - 98.
- Lentz D. 1993. Medicinal and Other Economic Plants of the Paya of Honduras. **Econ Bot** 47: 358 - 370.
- Moore G, Gerner R, Franklin H. 1967. Culture of normal human leukocytes. **JAMA** 199: 519 - 524.
- Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods** 65: 55 - 63.
- Orjala J, Wright A, Rali T, Sticher O. 1993. Aduncamide, a cytotoxic and antibacterial beta-phenylethylamine-derived amide from *Piper aduncum*. **Nat Prod Lett** 2: 231 - 236.
- Parmar V, Jain S, Bisht K, Jain R, Taneja P, Jha A, Tyagi O, Prasad A, Wengel J, Olsen C, Boll P. 1997. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry** 46: 597 - 673.
- Ponnudurai T, Leeuwenberg A, and Meuwissen J. 1981. Chloroquine sensitivity of isolates of *Plasmodium falciparum* adapted to *in vitro* culture. **Trop Geogr Med** 33: 50 - 54.
- Portet B, Fabre N, Roumy V, Gornitzka H, Bourdy G, Chevalley S, Sauvain M, Valentin A, Moulis C. 2007. Activity-guided isolation of antiplasmodial dihydrochalcones and flavanones from *Piper hostmannianum* var. *berbicense*. **Phytochemistry** 68: 1312 - 1320.
- Rahman N, Furuta T, Kkojima S, Takane K, Mohd M. 1999. Antimalarial activity of extracts of Malaysian medicinal plants. **J Ethnopharmacol** 64: 249 - 254.
- Ramos LS, Da Silva M, Luz A, Zoghbi M, Maia J. 1986. Essential oil of *Piper marginatum*. **J Nat Prod** 49: 712 - 713.
- Reed G, Lynn F, Meade B. 2002. Use of coefficient of variation in assessing variability of quantitative assays. **Clin Diagn Lab Immunol** 9: 1235 - 1239.
- Reigada J, Tcacenco C, Andrade L, Kato M, Porto A, Lago J. 2007. Chemical constituents from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae) antifungal activities and kinetic resolution of (RS)-marginatumol by *Candida antarctica* lipase (Novozym 435). **Tetrahedron: Asymmetry** 18: 1054 - 1058.
- Salazar E, Benavides J, Sepulveda L, Quiñones W, Torres F, Cardona D, Archbold R, Guzman J. D., Cuca L. E., Franzblau S., Echeverri F. 2007. Actividad antimicrobacteriana de algunas plantas de la flora Colombiana. **Scientia et Technica** 33: 133 - 136.
- Tillequin F, Paris M, Jacquemin H, Paris RR. 1978. Flavonoides de *Piper marginatum*. **Planta Medica** 33: 46 - 52.
- Trager W, Jensen J. 1976. Human malaria parasites in continuous culture. **Science** 193: 673 - 675.

- Valadeau C, Pabon A, Deharo E, Albán-Castillo J, Estevez Y, Lores FA, Rojas R, Gamboa D, Sauvain M, Castillo D, Bourdy G. 2009. Medicinal plants from the Yanasha (Peru): evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. **J Ethnopharmacol** 123: 413 - 422.
- Vipan K, Mahajan A, Chibale K. 2009. Synthetic medicinal chemistry of selected antimalarial natural products. **Bioorg Med Chem** 17: 2236 - 2275.
- Vignerón M, Depariss X, Deharo E, Bourdya G. 2005. Antimalarial remedies in French Guiana: A knowledge attitudes and practices study. **J Ethnopharmacol** 98: 45 - 54.
- WHO (World Health Organization). 2010a. **World Malaria Report 2010**.
- WHO (World Health Organization). 2010b. **Global report on antimalarial efficacy and drug resistance: 2000-2010**.
- Willcox M, Bodeker G. 2004. Tradicional herbal medicines for malaria: Clinical review. **Br Med J** 329: 1156 - 1159.