

EVALUACIÓN TRIPANOCIDA DE EXTRACTO DE HOJAS DE *ZANTHOXYLUM CHIOPERONE* DE CULTIVO CONTROLADO, CON 12 MESES DE EDAD.

Trypanocidal evaluation of leaf extract of *Zanthoxylum chiloperone* controlled cultivation, with 12 months of age.

Galeano, Ricardo¹ Vera de Bilbao, Ninfa¹ Ferreira, María Elena¹ Martínez, Miguel² Yaluff, Gloria² Serna, Elva¹ Torres, Susana¹ Schinini, Alicia¹ Fournet, Alain³ Cebrian-Torrejon, Gerardo⁴

¹Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, (IICS-UNA)

²Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, (FaCEN-UNA)

³Institut de Recherche pour le Developpement, (IRD-Francia)

⁴Universidad de Paris Sud, (UPSUD)

Correo: ricar.gal.08@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Las especies de género *Zanthoxylum* (Rutaceae) son fuente de búsqueda de posibles fitofármacos de acuerdo al empleo etnomédico y según reseñas de estudios farmacológicos encontrados en la literatura científica. En el Laboratorio del Departamento de Medicina Tropical del IICS-UNA en colaboración con la Universidad de Paris Sud (UPSUD) y el Institut de Recherche pour le Developpement (IRD-Francia) se han realizado ensayos de actividad biológica, a partir de extractos y moléculas aisladas de la corteza de especies silvestres de *Zanthoxylum chiloperone*. Los dos componentes activos aislados de esa especie se identificaron como cantin-6-ona y 5- metoxi-cantin-6-ona. En los extractos y moléculas aisladas se ha demostrado actividad leishmanicida, tripanocida y antifúngica. Se realizaron en trabajos anteriores ensayos de actividad biológica (tripanocida) a partir de extractos de las hojas de dicha especie silvestre, donde se identificó como molécula activa mayoritaria el alcaloide 5-metoxicantin-6-ona. En el presente trabajo se plantea la producción sustentable del *Z. chiloperone* mediante estandarización de técnica de cultivo controlado y análisis de productos activos con actividad antichagásica a los 12,18 y 24 meses de siembra. Ahora presentamos resultados preliminares de las hojas cultivadas de 12 meses de edad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Producción de plantines: Corresponde a un diseño experimental donde se realizó la multiplicación vegetativa y germinativa del *Zanthoxylum chiloperone* bajo condiciones controladas. Se trabajó con semillas de una planta silvestre del Distrito Caacupé. La técnica de cultivo que se utilizó es la descrita por Jesús Cordero *et al*, 2003. Actualmente se cuenta con un total de 50 plantas en terreno definitivo. Se evaluarán también las hojas a los 18 y 24 meses de su siembra. Se procedió a la preparación del extracto vegetal con las hojas cosechadas a los 12 meses y se iniciaron los ensayos *in vitro*.

CITOTOXICIDAD DE MACROFAGOS

Se realizó el ensayo de citotoxicidad en macrófagos para lo cual se utilizaron ratones Albinos machos sanos con 12 horas de ayuno; donde se utilizó macroplaca de titulación de 24 pocillos con laminillas de forma redondeada, incubando los macrófagos con las distintas concentraciones del extracto. Tanto las diluciones y los controles se realizaron por triplicado, se determinó la frecuencia de macrófagos vivos y muertos con el conteo en microscopio invertido y se compararon con las células de control. De acuerdo al método de exclusión del trypan blue.

ENSAYO IN VITRO CON PARÁSITOS DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Para los ensayos realizados de porcentaje de lisis para *T. cruzi*, se utilizaron parásitos sanguíneos (forma tripomastigote de la cepa CL) ,en microplacas de 96 pocillos, en los cuales se coloca la sangre de ratón conteniendo los parásitos a una concentración aproximada de 10⁶ parásitos/ml con distintas concentraciones del extracto, se evaluó la actividad después de las 24hs de incubación. Las placas se observaron al microscopio y se realizó el conteo de parásitos vivos en 50 campos.

RESULTADOS.

Tabla 1. Porcentaje ± DS de lisis de macrófagos peritoneales de ratón.

Conc. Extracto veg 100 µg/mL	Conc. Extracto veg 50 µg/mL	Conc. Extracto veg 25 µg/mL	Control Pos.*	Control Neg.*
Vivos* : 97± 1	V*: 100	V*:100	V*: 0	V*: 100
Muertos*3 ± 1	M*: 0	M*: 0	M*:100	M*: 0

Control Neg*:Macrof+RPMI Control Pos*:Macrof+DMSO

Tabla 2. Ensayo *in vitro* con *Trypanosoma cruzi*.

Concentraciones testadas	Porcentaje de lisis de parásitos
250 µg/ml	63%
100 µg/ml	54%
50 µg/ml	27%
25 µg/ml	0%

CONCLUSIONES

Con respecto a la citotoxicidad del extracto de hoja de *Z. Chiloperone* de 12 meses de edad, en la Tabla 1, se observa que la IC50 se encuentra superior a 100 µg y que el extracto estudiado a estas concentraciones no es citotóxico . En la Tabla 2, se observa que el porcentaje de lisis de parásitos a 250 ug/ml es de 63 % , menor que lo encontrado en estudios anteriores con especies vegetales silvestres. Siendo el porcentaje de lisis esperado igual o superior a 80%.

REFERENCIAS

- Ferreira M.E,Nakayama H,Rojas de Arias A.,Schinini A,Vera de Bilbao N, Serna E, Layotte D,Soriano-Agatón F,Poupon E,Hocquemiller R, Fournet A. "EFFECTS OF CANTHIN-6-ONA ONE ALKALOIDS FROM *Zanthoxylum chiloperone* ON *Trypanosoma cruzi* INFECTED MICE" Journal of Ethno-Pharmacology. 258-263. 109, 2007.
- Cordero J., Boshier D. Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. Centro Agronómico Tropical de Investigación Enseñanza Bib. Orton IICA/ CATIE p. 1079, 2003.
- Maria Elena Ferreira , Gerardo Cebrián-Torrejón , Alba Segovia Corrales , Ninfa Vera de Bilbao , Miriam Rolón , Celeste Vega Gomez , Karine Leblanc , Gloria Yaluff , Alicia Schinini , Susana Torres , Elva Serna, Antonieta Rojas de Arias, Erwan Poupon, Alain Fournet "Zanthoxylum chiloperone leaves extract:First sustainable Chagas disease treatment " Journal of Ethnopharmacology 986-93 .133, 2011.

"Este proyecto es financiado por el CONACYT a través del Programa PROCENCIA con recursos del Fondo para la Excelencia e investigación – FEEL del FONACIDE"