

288

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Fraccionamiento fitoquímico bioguiado de la corteza de
Simarouba glauca



Informe de tesis

Presentado por

SONIA VERÓNICA HERNÁNDEZ FOLGAR

Para optar el título de

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Guatemala, enero de 1998

06
TL1860)
C.4

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

DECANO: LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR

SECRETARIO: LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA

VOCAL I: LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ

VOCAL II: LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN

VOCAL III: LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE

VOCAL IV: BR. HERBERT RAUL AREVALO ALVARADO

VOCAL V: BR. MANOLA ANLEU FORTUNY

ACTO QUE DEDICO

A DIOS:

Por tu infinita bondad y misericordia. Por ser mi luz eterna .

A JESÚS:

Por ser mi mejor y gran amigo y por su infinita bondad.

A LA VIRGEN MARÍA: Por ser nuestra madre misericordiosa e intercesora ante JESÚS.

ACTO QUE DEDICO

A MIS PADRES: Lic. Ricardo Hernández Bobadilla .

Sonia Folgar de Hernández , le doy gracias a Dios
porque tu eres mi mamá, gracias por tu gran apoyo y
enseñanzas en el transcurso de mi vida.

A MIS HERMANOS: Fernando Estuardo (+)y Brenda Priscila por ser mis
sinceros amigos en todo momento.
Dr. Ricardo Hernández Folgar.

AGRADECIMIENTO

A mi asesora : Licda. Beatriz Medinilla Aldana, por su valiosa guía, por sus amplios conocimientos y por su apoyo que hicieron posible la realización de este trabajo de tesis.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Al Departamento de Análisis Aplicado por proporcionarme material y equipo de laboratorio.

ÍNDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2.INTRODUCCIÓN.....	3
3.ANTECEDENTES.....	5
4.JUSTIFICACIÓN.....	16
5.OBJETIVOS.....	17
6.HIPOTESIS.....	18
7.MATERIALES Y METODOS.....	19
8.RESULTADOS.....	25
9.DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	28
10.CONCLUSIONES.....	30
11.RECOMENDACIONES.....	31
12.REFERENCIA.....	32
13.ANEXOS.....	36

1.RESUMEN

La malaria es aún hoy la enfermedad parasítica más importante a nivel mundial. La resistencia del principal agente causante, *Plasmodium falciparum*, al tratamiento con los medicamentos clásicos, sobre todo cloroquina, así como la resistencia del mosquito a los insecticidas han agravado la situación (6).

Es por ello que el objetivo de este estudio fue encontrar la fracción que contenga el o los principios activos, de la corteza de la planta *Simarouba glauca* (aceituno, jocote de mico), según la conclusión de Medinilla.B en su informe de investigación denominado "Fraccionamiento fitoquímico bioguiado de algunas plantas comunmente usadas en Guatemala contra la malaria" cuya conclusión afirma que para dicha planta existe correlación entre acción antiplasmódica *in vitro* (contra *Plasmodium berghei*) y citotoxicidad *in vivo* (contra *Artemia salina*), para dicha planta.

Para dicho fraccionamiento, se procedió a dejar el material pulverizado de la planta en maceración exhaustiva mediante eter de petroleo, cloroformo, cloroformo:metanol (9:1) y finalmente metanol, los solventes utilizados para dicho fraccionamiento fueron eliminados mediante evaporador rotatorio.

Para la evaluación *in vivo* de las fracciones obtenidas por el procedimiento anteriormente mencionado, se utilizó el método en microplaca diseñado por Solis.P y colaboradores (27), para ensayar citotoxicidad en los nauplios de *A. salina*.

Los resultados obtenidos de las diferentes fracciones demostraron que la fracción de cloroformo fue la mas citotóxica obteniéndose una

(concentración letal media)= CL_{50} =488 μ g/ml, seguida de la fracción cloroformo:metanol (9:1) CL_{50} =503 μ g/ml, no así las fracciones de eter de petróleo CL_{50} = >1000 μ g/ml y metanol CL_{50} = >1000 μ g/ml; los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa de computadora Finney (D.O.S).

Respecto a la caracterización fitoquímica por cromatografía en capa fina se eligieron aquellas fracciones que mostraron acción citotóxica en *A. salina* encontrándose , que la corteza de *Simarouba glauca* contiene principios amargos.

Es así que con el presente trabajo de tesis se pretende contribuir en la investigación de *Simarouba glauca* por su efecto antimalárico, y así proporcionar a la población en un plazo de tiempo razonable medicamentos efectivos para la malaria, a un bajo costo, accesibles, seguros y efectivo

2.INTRODUCCIÓN

La malaria, enfermedad causada por parásitos del género *Plasmodium*, es aún hoy la enfermedad parasítica, más importante a nivel mundial. afecta alrededor de 200 a 300 millones de personas en 102 países (1), la causa de aproximadamente 1.5 a 3 millones de muertes al año, sobre todo en niños (2). Las razones por las cuales la malaria aún representa un serio problema, son principalmente el desarrollo de resistencia del *P. falciparum* y *P. vivax* a las drogas antimaláricas, así como la adquirida por los mosquitos del género *Anopheles* a los insecticidas (1).

La resistencia del principal agente causante, *Plasmodium falciparum*, a los medicamentos comúnmente empleados para el tratamiento, sobre todo la cloroquina, es probablemente el problema más importante por el cual no se ha logrado un efectivo control. Las migraciones poblacionales también han contribuido a que dicha resistencia se extienda a otras regiones (3). A pesar de los recientes avances de la tecnología genética, y los estudios realizados por el científico colombiano Patorroyo, respecto a una vacuna activa contra la malaria, apenas se tiene un éxito parcial en cuanto a la protección contra la enfermedad (4,5). Es así como el criterio que prevalece a nivel internacional es que aún habrá necesidad de utilizar agentes quimioterápicos durante varios años (3).

Por lo anterior, surge el interés por investigar plantas usadas en medicina tradicional, para el tratamiento de la malaria y así desarrollar nuevas drogas quimioterápicas, que actúen mediante diferentes mecanismos y que no estén sujetas a resistencia cruzada entre ellas.

La presente investigación fue desarrollada, con el propósito de efectuar el fraccionamiento fitoquímico bio guiado, de la corteza de *Simarouba glauca*, se utilizó para ello la evaluación de la acción citotóxica *in vivo*, y así tener un parametro en cuanto los posibles riesgos que implique su utilización. Por otro lado, al considerar las conclusiones del trabajo de investigación de Medinilla, (6), existe correlación entre el efecto antiplasmódico y citotóxico, cuando se trabaja con especies de la Simaroubaceae, tal como *S. glauca*. De manera que, la ventaja de haber utilizado la actividad citotóxica como bioensayo, consiste en que permite guiar el fraccionamiento, sin necesidad de utilizar el ensayo *in vitro* contra *Plasmodium*, que resulta ser mucho más complicado y costoso.

3. ANTECEDENTES

3.1 EPIDEMIOLOGIA DE LA MALARIA EN EL MUNDO

Los intentos a gran escala con el objeto de erradicar la malaria de la mayor parte del mundo fueron iniciados en la década de 1950, pero fracasaron debido principalmente al desarrollo de resistencia de los mosquitos del género *Anopheles* a los insecticidas, así como la resistencia de los principales agentes causantes, *P. falciparum* y *P. vivax* a las drogas antimaláricas. Aunque más de 30 países fueron liberados de la malaria y en otros se logró disminuir en forma marcada su incidencia y prevalencia, la mayoría de las áreas tropicales en donde la enfermedad es endémica muestra un aumento de la malaria (7). Esto hace que el paludismo sea la infección más importante del mundo, ya que en muchas ciudades aumenta. Según lo indica el director general de la Organización Mundial de la Salud, anualmente muere entre 1.5 a 3 millones de personas a consecuencia de la malaria (2). Este problema de salud es principalmente más prevalente y devastador en Africa, a pesar de muchas investigaciones y esfuerzos por controlarla por las últimas dos décadas, al extremo que en muchas partes de Africa los individuos deben tomar 200mg de proguanil diariamente, juntamente con cloroquina a dosis de 5mg/Kg de peso por semana, como profilaxis (8). La tendencia en años recientes se dirige al aumento de la participación de la comunidad (9), así como a la descentralización y diversificación de servicios de salud (10). Aunque el involucramiento de la comunidad no es garantía del control de la

malaria, es necesario que el hombre comprenda el impacto de esta enfermedad sobre la salud de niños y mujeres embarazadas, así como las medidas de prevención que deben aplicarse a lo largo del año, aún cuando no sean visibles los mosquitos (9).

3.2 EPIDEMIOLOGIA DE LA MALARIA EN GUATEMALA

La malaria representa un serio problema de salud en Guatemala. Cubre aproximadamente un 74 % de su territorio (3), manteniéndose la incidencia malárica en niveles elevados durante los últimos años. Así se tiene, por ejemplo, que en el año de 1992 hubo 57,560 casos registrados. De ellos, la mayor proporción corresponde a los departamentos del Petén, Alta Verapaz, Quiché e Izabal (11).

El control de la enfermedad se realiza a través de los clásicos métodos quimioterápicos, y se combaten los mosquitos mediante el uso de insecticidas organofosforados y piretroides dentro de las viviendas, cada tres meses. También se utilizan productos biológicos tales como *Bacillus turingiensis*, aunque en pequeña escala, contra las larvas del mosquitos (3).

Durante los primeros años de la campaña desarrollada por las autoridades guatemaltecas (1966-1974), las medidas adoptadas permitieron obtener una significativa reducción en la prevalencia de malaria. Sin embargo, desde 1975 se manifiesta un aumento en la morbilidad, a causa del uso indiscriminado de insecticidas, lo que ha inducido resistencia de los

mosquitos a muchos de ellos. Así mismo, la discontinuidad en las medidas aplicadas, y problemas de tipo administrativo agravan la situación (3).

3.3 TIPOS DE PALUDISMO

La malaria humana es provocada por cuatro especies de protozoarios intracelulares obligados del género *Plasmodium* ; estos parásitos se reproducen en forma asexual en el hombre, pero lo hacen sexualmente en los mosquitos hembras (género *Anopheles*). Cada especie posee características morfológicas diferentes, y la enfermedad causada por cada una de estas especies también es característica (7).

El paludismo es causado especialmente por cuatro especies de plasmodios (12).

3.3.1 *Plasmodium falciparum*, productor de la forma terciana de la enfermedad (12). Esta especie es la más letal de las cuatro responsables de malaria humana (13). Se caracteriza por producir accesos irregulares, cada 36 a 48 horas, y aún a veces con fiebre continua, de curso maligno y aún fatal, por invasión parasitaria del cerebro (12). La demora del tratamiento después de la demostración de los parásitos en la sangre puede llevar a un estado irreversible de shock y la muerte puede producirse incluso después de que la sangre periférica no tenga parásitos. Si se trata temprano, la infección responde generalmente con rapidez a la administración de drogas efectivas y no habría

recaídas, pero si el tratamiento es inadecuado, puede resurgir por parásitos que persisten en la sangre (7).

3.3.2 *Plasmodium vivax*, productor de la forma terciana benigna.

Produce ataques clínicos febriles más leves que los de *P. falciparum*, cada 48 horas. Tiene bajo índice de mortalidad en adultos no tratados, y constituye el paludismo más frecuente (7,12). La infección se caracteriza por recaídas que se producen durante dos años por lo menos después de la infección primaria (7).

3.3.3 *Plasmodium malariae*, causante de la forma cuartana. Induce malaria con ataques febriles cada 72 horas, que constituye una forma menos común y de menor importancia práctica (12).

3.3.4 *Plasmodium ovale*, que provoca una forma terciana muy benigna, muy rara y de poca importancia (12).

3.4 CICLOS PARASITARIOS

Los parásitos del paludismo o plasmodios atraviesan dos ciclos en su existencia:

3.4.1 La fase sexual extrínseca, anofelina o esporogonia, que se produce en el organismo de mosquitos del género *Anopheles* (12).

3.4.2 Fase asexual intrínseca, humana o esquizogonia, que es la que produce el paludismo, el hombre es hospedero intermediario del parásito (12).

3.4.2.1 La infección inicia cuando una hembra del mosquito *Anopheles* parasitada, inocula esporozoitos; luego son llevados por la circulación, y los mismos penetran en las células parenquimatosas (13), donde se multiplican y desarrollan para formar esquizontes tisulares, que constituyen el estadio preeritrocítico o exoeritrocítico, representa la fase tisular primaria de la enfermedad la que corresponde al período de incubación asintomático (12,13), que dura alrededor de 7 días para el paludismo vivax, 15 días para el paludismo cuartano (12), y 6.5 días para el paludismo falciparum (13).

3.4.2.2 Los esquizontes tisulares maduran, sufren una ruptura y cada uno de ellos libera millares de merozoitos; estos merozoitos ingresan en la circulación, invaden los eritrocitos, e inician el estadio eritrocítico, o ciclo sanguíneo de la infección, originando los síntomas de la enfermedad (7, 12,13). En las infecciones por *P. falciparum* y *P. malariae*, los esquizontes tisulares estallan en forma más o menos simultánea y no dejan formas parasitarias en el hígado. Pero en las infecciones por *P. vivax* y *P. ovale* algunos

parásitos tisulares permanecen latentes (formas latentes o hipnozoitos) y son capaces de proliferar y producir recurrencias o recaídas meses o años más tarde (7). Los merozoitos se transforman en trofozoitos (forma anular), que al madurar forman los esquizontes hemáticos (división del núcleo), que llenan el eritrocito parasitado, dividiéndose en corpúsculos. Los merozoitos eritrocíticos, que se liberan al estallar el eritrocito, van a parasitar a otros, repitiéndose el proceso denominado esquizogonia eritrocítica. Al destruirse los eritrocitos (hemólisis) liberan a la circulación merozoitos, metabolitos producidos por el parásito, así como productos de la desintegración de los mismos hematíes, en fin proteínas extrañas que dan origen al ataque palúdico febril (acción de pirógenos) caracterizado por períodos de escalofrío, calor (40 °C a 41°C) y sudor típicos (12).

3.4.2.3 Una vez que el proceso de esquizogonia eritrocítica se repite varias veces, los parásitos asexuales o merozoitos se diferencian dentro de los eritrocitos en su forma sexual o gametocitos. Estos no originan síntomas, pero sirven para transmitir la enfermedad a través del mosquito (12).

3.4.2.4 Cuando el mosquito hembra pica a un individuo palúdico e ingiere su sangre, lleva al estómago de aquél las

formas asexuales, que son destruidas, y las formas sexuales o gametocitos, que resisten, teniendo lugar la fecundación; la célula resultante o cigote atraviesa la pared gástrica en forma de ooquinetos para formar el ooquiste, del que se liberan, una vez roto, los esporozoitos que alcanzan las glándulas salivales del mosquito, listo para transmitir la enfermedad al ser humano. A todo este proceso de reproducción sexual se denomina esporogonia (12).

3.5 PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS CONTRA LA MALARIA

La resistencia de los mosquitos a los insecticidas comunes, así como la adquirida por las especies de *Plasmodium* a los modernos agentes quimioterápicos en Asia, África, Sur y Centroamérica han permitido que la malaria sea actualmente la enfermedad tropical más común a nivel mundial (6). A mediados de la década de los ochenta, Manuel Patarroyo, científico colombiano del Instituto de Inmunología en Bogotá, publicó sus resultados concernientes al éxito parcial de protección de la malaria en Colombia y Venezuela con una vacuna activa SPf66, producida por péptidos sintéticos(4,5). Su trabajo fue conocido por los críticos, quienes opinaron que sus estudios carecían de grupos control apropiados, así como la conducción en un área donde la malaria es comparablemente leve (16). Esto hizo que surgiera dudas en cuanto a su efectividad en otros lugares del mundo, principalmente en África, en donde la malaria es el problema de salud

pública mas prevalente y devastador (8). La Organización Mundial de la Salud (OMS) está considerando estudios de ocho vacunas candidatas que podrian comenzar a usarse en seres humanos dentro de los próximos cuatro años. David Kaslow del Instituto Nacional de Salud en Washington está ensayando con la vacuna "altruística" para prevenir que se formen parásitos en el intestino del mosquito (14). Mientras tanto, Patarroyo mejora la vacuna SPf66 con la agregación de nuevos péptidos, incluyendo una proteína superficial que permita bloquear la entrada del parásito a los eritrocitos (14).

A pesar de los avances alcanzados para el desarrollo de vacunas potenciales, hay consenso internacional en cuanto a que todavía se necesitará utilizar en el futuro agentes quimioterápicos para tratar la enfermedad. En consecuencia, es necesario contar con nuevas drogas antimaláricas, con nuevas formas de acción, y debido a esto, la utilización e investigación de las plantas medicinales es muy importante en la actualidad (6).

En los años cincuentas, cuando parecía haberse alcanzado la erradicación de la malaria, debido a la introducción de drogas antimaláricas tales como la cloroquina, primaquina y pirimetamina (14), tanto *P. falciparum* como *P. vivax* comenzaron a adquirir resistencia, originalmente en Tailandia y en Columbia (Africa), entre 1959 y 1960. Más recientemente se ha propagado en una forma más leve a Asia, Sudamérica y el este de India Central. Esta situación se ve además complicada por el desarrollo de resistencia de *P. falciparum* a la pirimetamina y a la sulfadoxina, una combinación de drogas que en la actualidad es considerada como la alternativa más apropiada a la cloroquina para la profilaxis de la malaria por

P. falciparum. La profilaxis y el tratamiento de las infecciones causadas por estas cepas resistentes a múltiples drogas exigen un retorno al empleo de agentes esquizotónicas más antiguos y efectivos, aunque más tóxicos, como es el caso de la quinina (7), aislada de la corteza de especies de *Cinchona* (6).

A pesar del amplio uso de las plantas contra la malaria, solo existe un estudio extenso al respecto, que se realizó hace aproximadamente cincuenta años. En dicho estudio se evaluó plantas provenientes de 123 familias con antecedentes de acción antimalárica o febrífugas (6). De las diferentes familias estudiadas, dos de ellas produjeron una serie de extractos activos: la Simaroubaceae y Amarillydaceae (6).

Luego, en el año de 1967, se inició en la China la evaluación de la acción antimalárica de *Artemisia annua*.

Se usó extractos acuosos, pero no se obtuvieron buenos resultados. Fue hasta 1971 que se utilizó eter dietílico para la preparación de los extractos obteniéndose buenos resultados en ratones y simios infectados con *Plasmodium* (6,15). Luego de los estudios relacionados con la artemisinina, se impulsó la investigación de nuevos agentes antimaláricos derivados de plantas (6). Debido a que en Guatemala no se había realizado ningún estudio en cuanto a la efectividad de las plantas que comúnmente son utilizadas para el tratamiento del paludismo, en el año de 1991 Medinilla, inició la evaluación de la actividad farmacológica y toxicológica de algunas plantas guatemaltecas, entre ellas la corteza de *Simarouba glauca*. En dicho estudio se empleó como modelo *in vivo* ratones infectados con *Plasmodium berghei*, encontrándose que el extracto acuoso liofilizado de la corteza de *S. glauca* fue capaz de inducir un 64% de supresión de la parasitemia, a dosis de 750mg/Kg de peso, al séptimo día post-infección. No se detectaron efectos tóxicos aparentes

luego de la administración de 3g/Kg de peso por vía oral, diariamente durante ocho días (3). En 1994, se continuó evaluando la acción farmacológica *in vivo* de los extractos metanólicos de algunas plantas, encontrándose que el extracto de *S. glauca*, a 750mg/Kg indujo un 69% de supresión de la parasitemia, lo cual confirma que esta planta posee valor potencial como agente antimalárico. Asimismo se efectuó el tamizaje fitoquímico de la corteza de *S. glauca*, que posee principios amargos y flavonoides (1).

Posteriormente se realizó el fraccionamiento fitoquímico bio guiado de varias plantas, utilizando como ensayos biológicos la evaluación de acción antiplasmódica *in vitro*, así como citotóxica *in vivo*. Para ello se efectuó el fraccionamiento líquido-líquido con etanol al 70% y diclorometano. Las fracciones obtenidas fueron concentradas, y su acción antiplasmódica se evaluó *in vitro*, contra *P. falciparum*, utilizando la cepa NF-54 sensible a la cloroquina, y la cepa K₁, multi-resistente. De manera paralela se evaluó la citotoxicidad de las fracciones, contra *Artemia salina* (camarón salino). De todas las plantas estudiadas, la fracción diclorometánica de la corteza de *S. glauca* mostró la mayor acción antiplasmódica, ya que redujo en mayor porcentaje la parasitemia, a una concentración de 4µg/ml (6). De todas las fracciones diclorometánicas evaluadas únicamente la de *S. glauca* indujo efecto citotóxico, obteniéndose una concentración letal media de 46.4 ppm, aún menor que el valor correspondiente al control positivo, *Solanum nigrescens* (126 ppm). En base a lo anterior se concluyó que el ensayo con *A. salina* permite guiar el fraccionamiento fitoquímico de *S. glauca* (6). La caracterización fitoquímica diclorometánica que mostró acción antiplasmódica permitió confirmar la presencia de principios amargos y un gran número de flavonoides en dicha fracción (6).

3.6 ENSAYO IN VIVO EN MICROPLACA PARA EVALUAR CITOTOXICIDAD CON ARTEMIA SALINA (CAMARON SALINO)

Las larvas de camarón salino (nauplios) se utilizan para evaluar sustancias tóxicas, así como extractos de plantas para facilitar el aislamiento de compuestos biológicamente activos (6). Un nuevo ensayo en microplacas diseñado por Solís y colaboradores para evaluar citotoxicidad con *A. salina* mostró resultados comparables al método de tubo de ensayo publicado previamente, y así eliminar la desventaja de tener que utilizar cantidades relativamente grandes de material (20 mg de extracto crudo y 4mg de compuesto puro), así como el hecho de que la preparación de diluciones consumen mucho tiempo, y limita el número de muestras que puede ensayarse por experimento (27). Dicho ensayo requiere solo pequeñas cantidades de compuesto (0.6mg), y facilita el ensayo de gran número de muestras y diluciones (27).

La familia Simaroubaceae se caracteriza por poseer como constituyentes a los cuasinoides, compuestos con potente actividad *in vitro* contra *P. falciparum*, y que a la vez inhibe la síntesis proteica, tanto en células de mamíferos como en el parásito de malaria, y son tóxicos para el camarón salino. La cuasina, que carece de actividad citotóxica o antiplasmódica, no muestra toxicidad al utilizar este modelo. Dicho resultado surge que para este grupo de compuestos el test de camarón salino es útil para el tamizaje de extractos vegetales y fraccionamiento de cuasinoides citotóxicos, obviándose así la necesidad de efectuar el difícil y costoso ensayo antiplasmódico en cada paso del proceso de aislamiento (6).

4.JUSTIFICACION

Guatemala ofrece condiciones apropiadas para la transmisión de la malaria en 80,350 Km² , de su territorio, lo que corresponde al 74% del total (6). Aunque durante el período de 1966 a 1974 , la incidencia de la enfermedad declinó significativamente, existe un aumento en la morbilidad desde 1975, la cual se mantiene hasta hoy (1,6), debido a la resistencia del *P.falciparum* y *P.vivax* a las drogas quimioterápicas clásicas, así como la resistencia del mosquito a los insecticidas comunes. Esto hace necesaria la investigación de plantas usadas en medicina tradicional para el tratamiento de la malaria, y así desarrollar nuevas drogas que actúen mediante mecanismos diferentes a los de las ya existentes , y que no estén sujetas a resistencia cruzada entre ellas. Si se considera la importancia de los resultados reportados por Medinilla (1,3,6) sobre *Simarouba glauca* , es necesario continuar con las siguientes etapas del fraccionamiento fitoquímico bioguiado. Puesto que existe correlación entre acción antiplasmódica *in vitro* y citotóxica *in vivo* , sobre *Artemia salina* (6), se utilizó como bioensayo la evaluación de citotoxicidad para guiar el fraccionamiento, ya que de esta forma se invierte menos tiempo en la preparación de diluciones de las muestras a ensayar se requiere de cantidades pequeñas de extracto (27) y a la vez se reduce el costo del experimento, lo que facilita encontrar la fracción con mayor acción antiplasmódica. Todo ésto contribuirá a que en el futuro se conozca el o los principios activos en la corteza de *S. glauca*.

5.OBJETIVOS

5.1 General:

Efectuar el fraccionamiento fitoquímico, bioguiado, de la corteza de *Simarouba glauca*, mediante el ensayo *in vivo* contra *Artemia salina* (camarón salino), con el objeto de encontrar la fracción en donde se encuentre el o los componentes responsables del potencial efecto antimalárico.

5.2 Específicos:

5.2.1 Determinar el o los solventes apropiados, que mediante maceración exhaustiva, permitan una mejor disolución y extracción de los componentes activos, que contiene la corteza de *S. glauca*.

5.2.2 Evaluar la citotoxicidad de las fracciones obtenidas, de manera que pueda establecerse la que posee mayor actividad contra *Artemia salina*.

5.2.3 Estandarizar un método por cromatografía en capa fina eficaz y reproducible, para la caracterización fitoquímica de los componentes presentes en las fracciones con actividad citotóxica.

6.HIPOTESIS

6.1 El fraccionamiento fitoquímico, bioguiado, de la corteza de *S. glauca*, mediante solventes de diferentes polaridades, permitirá obtener por lo menos una fracción en la que pueda demostrarse acción citotóxica.

6.2 Es posible caracterizar, por medio de cromatografía en capa fina, el o los componentes químicos presentes en las fracciones con acción citotóxica.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo de trabajo:

- Corteza de *Simarouba glauca*
- Huevos de camarón salino (nauplios).

7.2 Medios:

7.2.1 Recursos Humanos:

Autora: Br. Sonia Verónica Hernández Folgar.
Asesora: Licda. Beatriz Medinilla Aldana.

7.2.2 Recursos Materiales:

- Cristalería de uso común en el laboratorio.
- Hornos para desecación de la corteza. Marca Lindberg blue. Modelo A478
- Molino para pulverizar material vegetal. Marca Wiley. Modelo No.3
- Balanza semianalítica y analítica.
- Evaporador rotatorio Bugüi.
- Campana para extracción de gases.
- Desecadora.
- Cámara cromatográfica y asperjadores.
- Cromatoplacas de sílica gel 60 GF-254.
- Secadora de cabello, para secado de cromatoplacas.
- Cámara con lámpara de luz ultravioleta $\lambda = 254$ nm para observación de cromatoplacas. Modelo ENF-240

- Huevos de camarón salino (nauplios), donados por el Departamento de Citohistología de la Facultad de C.C.Q.Q y Farmacia.
- Microplacas para ensayo de citotoxicidad.
- Pecera para reproducción de camarón salino.
- Estereóscopo para el conteo de nauplios.
- Computadora para analizar los datos.
- Solventes utilizados para las diferentes maceraciones: éter de petróleo, cloroformo, metanol.
- Reactivos y solventes para caracterización fitoquímica: acetona, ácido acético, ácido fórmico, cloroformo, metanol, butanol, anisaldehído-ácido sulfúrico (grado reactivo).
- Dimetilsulfóxido -DMSO-
- Sal comercial para peceras.

7.3 Procedimiento:

- 7.3.1** Recolección del material vegetal bajo estudio, durante el mes de febrero, en el municipio de Amatitlán (frente a DIGESEPE).
- 7.3.2** Dsecación del material vegetal mediante calor artificial, a una temperatura de 40-42 °C.
- 7.3.3** Molienda de la corteza.
- 7.3.4** Fraccionamiento fitoquímico: se extrajo el material vegetal mediante maceración exhaustiva con éter de petróleo, luego este solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio, el material vegetal se extrajo nuevamente y de la misma forma con cloroformo, cloroformo-metanol (9:1), y finalmente metanol. Los

diferentes extractos se mantuvieron en refrigeración, dentro de una desecadora.

7.3.5 Diseño Experimental:

Evaluación de citotoxicidad en *Artemia salina*: Este bioensayo es un método *in vivo* que permite evaluar citotoxicidad en la larva del camarón salino, que es altamente sensible a un gran número de sustancias químicas y extractos de plantas. La toxicidad se expresa como concentración letal media (CL₅₀) (6).

Procedimiento: (27)

7.3.5.1 Se preparó agua de mar (3.8 gramos de sal comercial para peceras en 100 ml. de agua destilada). Esta agua puede utilizarse por un período máximo de dos semanas. Seguidamente se reoxigenó el agua de mar por 1 hora. Luego se dividió una pecera por medio de una placa de vidrio, la cual no debe alcanzar el fondo de ésta. Se pesó 80mg. de huevos de *Artemia salina* y se colocó dentro de la sección A de la pecera, luego se cubrió ésta sección con papel aluminio. Se dejó a temperatura ° ambiente, con luz artificial, por 48 horas. las crías salieron de los nauplios después de 24 horas, y nadaron libres, emigrando hacia el compartimiento descubierto (sección B).

7.3.5.2 Después de 48 horas, de la incubación de los nauplios, se recogieron para el bioensayo.

7.3.5.3 Se disolvió el extracto a ensayar en agua de mar, a una concentración final de 2mg/ml. Los extractos insolubles en agua de mar se disolvieron en DMSO (concentración final 0.5%), y luego agua de mar.

A partir de esta solución se prepararon diluciones de 1000, 500, 250, 125, 62.5 y 31.25 $\mu\text{g/ml}$.

7.3.5.4 El examen de citotoxicidad se realizó en duplicado, en microplacas. En un pozo de una placa de microtitulación se agregó 100 microlitros de cada dilución de extracto, en triplicado, así como 100 microlitros de agua de mar y 100 microlitros de nauplios en agua de mar (10-15 nauplios). Como control negativo se añadió en tres pozos 100 microlitros de agua de mar con DMSO y 100 microlitros de nauplios y se mezcló suavemente. Como control positivo se añadió en tres pozos 100 microlitros de agua de mar, 100 microlitros de nauplios y 100 microlitros de etanol al 95%. Se incubó a temperatura ambiente, con luz artificial, por 24 horas.

7.3.5.5 Seguidamente se realizó el conteo de nauplios muertos en cada pozo, observándose a través de estereoscopio. Luego se agregó metanol a cada pozo para matar a los nauplios,

PROPIEDAD DEL INSTITUTO VETERINARIO Y ZOOLOGICO DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

finalmente luego de 15 minutos se realizó el conteo del total de ellos (27).

7.3.5.6 Interpretación:

El resultado se evaluó mediante cálculo de la concentración , letal media o sea aquella a la cual ocurre la muerte del 50% de los nauplios. Para efectuar dicho cálculo se analizaron los datos con el programa de computadora Finney (DOS). Los extractos de las diluciones que no mostraron toxicidad a una concentración de 1mg/ml se consideraron como no tóxicos.

7.3.6 La caracterización fitoquímica se realizó mediante cromatografía en capa fina, de los extractos que mostraron acción citotóxica. Para ello se prepararon diferentes mezclas de solventes para determinar la mejor fase móvil que lograra separar la mayor cantidad de los componentes que contiene la corteza de *Simarouba glauca*. Las fases móviles preparadas fueron:

- ◆ n-Butanol:Ácido acético:Agua (60:15:25)
- ◆ Cloroformo: Acetona:Acido fórmico (70:10.5:8.5)
- ◆ Cloroformo:Metanol:Agua (70:30:3)
- ◆ Cloroformo:metanol:Agua (80:18:2)

◆ Cloroformo:Metanol (99:1)

◆ Cloroformo:Metanol (98:2)

◆ Cloroformo

◆ Cloroformo:Metanol (9:1)

◆ Cloroformo:metanol (95:5)

◆ Acetona:Cloroformo (30:40)

Los resultados de las mejores cromatogramas
obtenidos se presentan mediante fotografías a color.

8. RESULTADOS

Para realizar el proceso de fraccionamiento por medio de maceración exhaustiva del material vegetal pulverizado de la corteza de *Simarouba glauca*, se partió de un peso original de 1315.1 gramos obteniendo así, un peso de cada fracción de : 9.1 , 18.1, 57.3 y 36.1 gramos utilizando como solventes para las mencionadas fracciones éter de petróleo, cloroformo, cloroformo:metanol (9:1) y metanol respectivamente

8.1 Evaluación de acción citotóxica *in vivo* contra *Artemia salina* (camarón salino).

Valores de concentración letal media de las diferentes fracciones de la corteza de *Simarouba glauca*, se usaron para dicha extracción solventes con gradiente de polaridad creciente.

En la tabla No. 1 se observa que de las fracciones evaluadas, únicamente las de cloroformo y de cloroformo:metanol (9:1) indujeron efecto citotóxico, ya que los valores de concentración letal media son menores a 1000 $\mu\text{g/ml}$ (27)

TABLA No.1
Ensayo *in vivo* con *A. salina*

FRACCIONES	CL ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Eter de petróleo	>1000
Cloroformo	488
Cloroformo:Metanol (9:1)	503
Metanol	>1000

Concentración letal media (CL₅₀) en base al programa de computación Finney.

8.2 Caracterización Fitoquímica de las fracciones de *Simarouba glauca* con acción citotóxica.

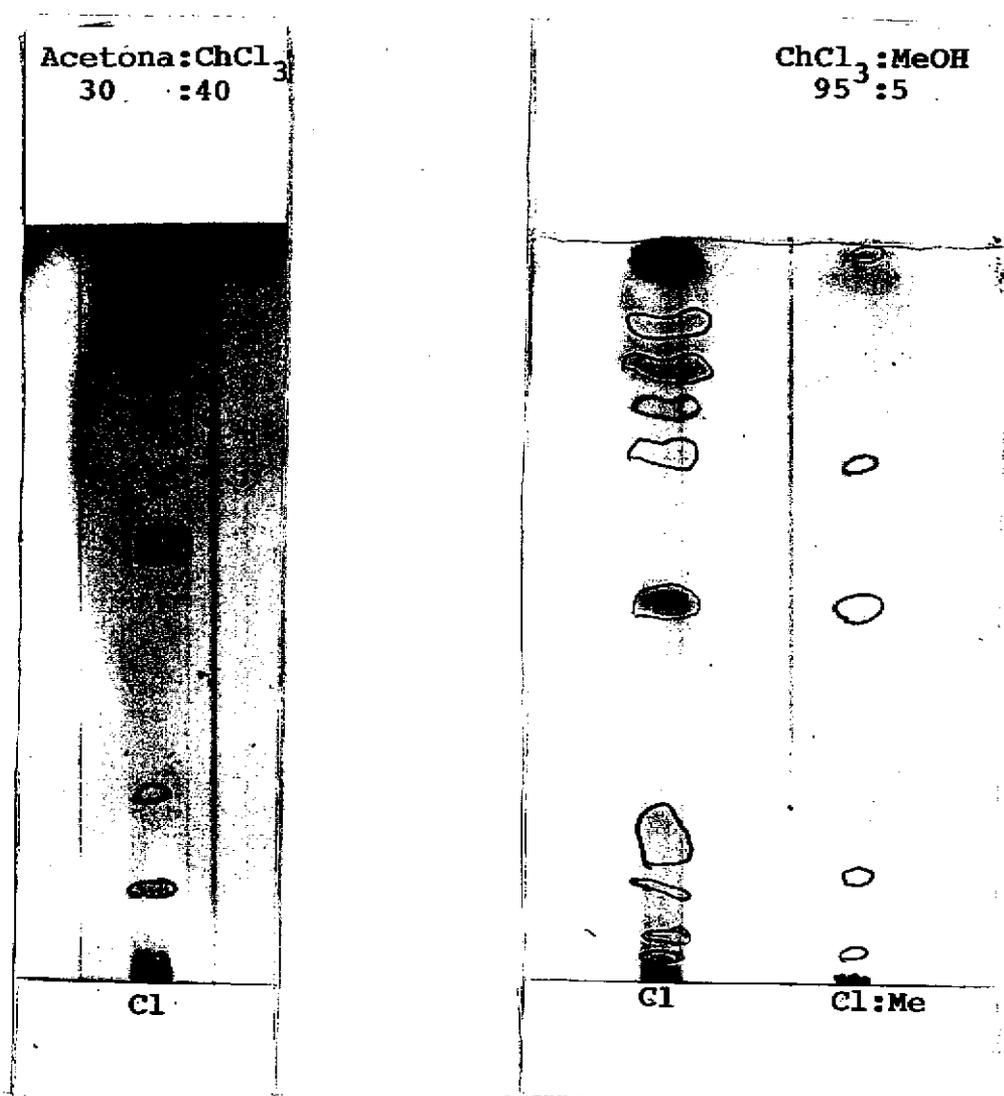


Figura 1

Cl = Fracción Clorofórmica.
 Cl:Me = Fracción Cloroformo:metanol (9:1)
 Fase móvil: Acetona: Cloroformo (30:40)
 Fase estacionaria: Silica gel 60 F 254
 Revelador: anisaldehído-acido sulfúrico

Figura 2

Cl = Fracción Clorofórmica.
 Cl:Me = Fracción Cloroformo: metanol (9:1)
 Fase móvil: Cloroformo: Metanol (95:5)
 Fase estacionaria: Silica gel 60 F 254
 Revelador: anisaldehído-acido sulfúrico

Se evaluó mediante cromatografía en capa fina, los componentes fitoquímicos contenidos en las fracciones clorofórmica y cloroformo:metanol (9:1), que mostraron citotoxicidad.

Los cromatogramas muestran bandas de color azul y azul-verdoso luego de la adición del reactivo anisaldehído-ácido sulfúrico.

La mezcla acetona:cloroformo (30:40) permitió separar seis componentes, de la fracción clorofórmica, cuyos valores de Rf son: 0.03, 0.04, 0.12, 0.25, 0.57, 0.78 (ver fig. 1). La mezcla cloroformo:metanol (95:5) permitió aislar nueve componentes en esta misma fracción (valores de Rf: 0.04, 0.06, 0.13, 0.19, 0.51, 0.72, 0.77, 0.83 y 0.89) y cinco componentes en la fracción cloroformo:metanol (9:1) (valores de Rf: 0.04, 0.14, 0.51, 0.69, 0.98).

9.DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La tabla 1 resume los resultados del ensayo de citotoxicidad contra *Artemia salina*. De las cuatro fracciones obtenidas de la corteza de *Simarouba glauca*, mediante el método de maceración exhaustiva, las que indujeron acción citotóxica fueron la de cloroformo ($CL_{50} = 488 \mu\text{g/ml}$) y cloroformo:metanol (9:1) ($CL_{50} = 503 \mu\text{g/ml}$). La fracción de éter de petróleo, comúnmente empleada para separar componentes lipofílicos, así como la metanólica, carecen de dicha acción (concentración letal media mayor a $1000 \mu\text{g/ml}$). Esto permite deducir que el o los componentes activos de la planta son relativamente poco polares.

El análisis cromatográfico en capa fina permitió caracterizar los componentes fitoquímicos presentes en las fracciones con acción citotóxica, se demostró que luego de la adición del revelador anisaldehído-ácido sulfúrico, aparecen bandas azules y azul-verdosas, características de principios amargos (28), los cuales son grupos de sustancias que se distinguen por su sabor extremadamente amargo y su estructura terpenoide. Son bastante solubles en cloroformo y éter etílico, y de gran importancia por su variada acción biológica (29). Existen informes en cuanto a que *Simarouba glauca* contiene en la semilla principios amargos de tipo cuasinoide: glaucarrubina y glaucarrubinona (24,25). Esta última inhibe de manera significativa el crecimiento de *P. falciparum in vitro* ($*IC_{50} = 6 \mu\text{g/ml}$) (30). Es interesante comparar este resultado con el recientemente publicado por Franssen et al (31) quienes indican que la corteza de esta planta indujo acción antiplasmódica aún mayor ($IC_{50} = 0.195 \mu\text{g/ml}$). Si se considera

*Concentración inhibitoria media

que ya se ha encontrado cuasinoides antimaláricos en la semilla de esta especie, es muy probable que la corteza también posea este tipo de compuestos.

De todas las fases móviles que se utilizaron para la caracterización fitoquímica de la fracción clorofórmica, las de clorofomo:metanol (95:5) y acetona:cloroformo (30:40) permitieron separar mejor los componentes, la primera de ellas fue la que manifestó mejor resolución, atribuyéndose dicho resultado a una mejor afinidad entre las estructuras moleculares de los componentes que constituyen la fracción clorofórmica y la fase móvil. El mismo comportamiento se observó para la fracción cloroformo:metanol (9:1).

Los valores de R_f de la fracción clorofórmica (figura 2) fueron: 0.04, 0.06, 0.13, 0.19, 0.51, 0.72, 0.77, 0.83 y 0.89; mientras que los de la fracción cloroformo:metanol 9:1 fueron: 0.04, 0.14, 0.51, 0.69 y 0.98. La figura 2 ilustra claramente que la fracción clorofórmica contiene mayor cantidad de componentes (nueve), en comparación con la fracción cloroformo:metanol (9:1) que contiene únicamente cinco, atribuyéndose dicho comportamiento a la mayor afinidad que existe entre los componentes presentes en la primera fracción y la fase móvil utilizada, dando como resultado una mejor resolución. Al comparar los valores de R_f puede observarse que por lo menos cuatro de los compuestos presentes en la última fracción se encuentran también en la fracción clorofórmica.

Con base a esto podría afirmarse que la fracción cloroformo:metanol (9:1) contiene cantidades menores de algunos de los compuestos que no fueron extraídos por el cloroformo. Lo anterior se puede confirmar, al comparar los valores de concentración letal media de la fracción clorofórmica ($CL_{50} = 488 \mu\text{g/ml}$) y de la fracción cloroformo:metanol ($CL_{50} = 503 \mu\text{g/ml}$).

10. CONCLUSIONES

Con base al fraccionamiento fitoquímico bioguiado, utilizando solventes con gradiente de polaridad creciente puede afirmarse lo siguiente:

- ⇒ Tal como ya se ha publicado con anterioridad (31), la corteza de *Simarouba glauca* posee acción citotóxica contra *Artemia salina*; las fracciones de cloroformo y cloroformo:metanol (9:1) obtenidas mediante maceración exhaustiva, son las que contienen el o los componentes responsables de dicha acción. De estas fracciones la que posee mayor acción citotóxica es la clorofórmica ($CL_{50} = 488 \mu\text{g/ml}$), seguida de la fracción cloroformo:metanol (9:1) ($CL_{50} = 503 \mu\text{g/ml}$). El análisis de cromatografía en capa fina permitió comprobar que el cloroformo es el solvente más adecuado para extraer los componentes activos, ya que la mezcla de éste con metanol, en proporción 95:5 los extrajo en mucho menor proporción.
- ⇒ La caracterización fitoquímica de ambas fracciones, permitió establecer que la corteza de *Simarouba glauca* posee principios amargos. Por otro lado, las fases móviles apropiadas para caracterizar mediante cromatografía en capa fina, los componentes fitoquímicos de las fracciones con acción citotóxica (clorofórmica y cloroformo:metanol 9:1) fue la mezcla de cloroformo:metanol (95:5), seguida de la mezcla acetona:cloroformo (30:40).
- ⇒ Existe más de una fracción con acción citotóxica, por lo que se acepta la hipótesis planteada. De igual forma para la hipótesis formulada en la caracterización fitoquímica, ya que se confirmó que la corteza de *Simarouba glauca* posee principios amargos (1).

11.RECOMENDACIONES

- 11.1 Evaluar la acción antiplasmódica *in vitro* de las fracciones obtenidas ,
contra cepas de *Plasmodium falciparum* sensibles a cloroquina y
multiresistentes, con el propósito de confirmar los resultados obtenidos.

- 11.2 Continuar con el fraccionamiento fitoquímico de la corteza de
S. glauca, con el objeto de que en el futuro se pueda dilucidar la
estructura química del o los componentes antimaláricos presentes en
ella.

12. REFERENCIAS

1. Medinilla B.; Echeverría Y. Tamizaje fitoquímico y evaluación farmacológica *in vivo* de extractos alcohólicos de plantas comúnmente utilizadas en Guatemala contra la malaria. Informe final de investigación DIGI. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala 1995. PP:2-10.
2. Anonymous. "Herbal remedy winning the malaria war." Asiaweek 1994;18:12
3. Medinilla B. Evaluación Farmacológica y Toxicológica *in vivo* de algunas plantas comúnmente empleadas en Guatemala contra la malaria. Informe final de investigación DIGI. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala 1992. PP:2-16.
4. Patarroyo, M; Romero, P; Torres, M et al. "Induction of protective immunity against experimental infection with malaria using synthetic peptides." Nature. 1987;328:629-632.
5. Patarroyo M; Amador, R; Clavijo, P. et al. "A synthetic vaccine protects humans against challenge with asexual blood stages of *Plasmodium Falciparum* malaria". Nature. 1988;332:158-161.
6. Medinilla, B & Hernandez Y. Fraccionamiento fitoquímico bioguiado de algunas plantas comúnmente usadas en Guatemala contra la malaria. Informe final de investigación DIGI. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala 1996. PP:13-14, 22-23, 31.
7. Goodman A. & Gilman L. *Las bases Farmacológicas de la terapéutica*. 7 ed. Buenos Aires: Editorial Médica panamericana 1986. PP:984-987.

8. Bhatt. M. "Treatment and prevention of *Plasmodium falciparum* malaria". African J. Of Med. Practice. 1994;1(1):7-9
9. Whinch. P. "Active community involvement in malaria control". PVO child survival technical report. 1994;4(1):5-6
10. Pellegrini, A. "Bases for the formulation of policies on science and technology in health in Latin America". Boletin de la Oficina Sanitaria Panamericana. 1994;116(2):165-176.
11. Anderson, C. Evaluación de la toxicidad subaguda de *Neurolaena lobata* (tres puntas) y *Simarouba glauca* (aceituno). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, (tesis de graduación. Químico Farmacéutico) 1996. PP:3,7-8.
12. Litter, M. Farmacología. 7 ed. Buenos Aires:Ateneo. Buenos Aires, 1986. PP:1650-1651.
13. Karnasuta, C. "Complete development of the liver stages of *Plasmodium falciparum* in a human hepatoma cell line". Am. J. Trop. Hyg. 1995;53(6):607-611.
14. Brown, P. "Guarded welcome for malaria vaccine". New scientist. 1994;5:14-15.
15. Lee, I; Sohly, H; Croom, E. et.al. "Microbial metabolism studies of the antimalarial sesquiterpene artemisinin". J. Nat. Prod. 1989;52(2):337-341.
16. Hasson M. "Efficacy of oral and intravenous artesunate in male tanzanian adults with *Plasmodium falciparum* malaria and in vitro susceptibility to artemisinin cloroquine and mefloquine". Am. J. Trop. Med. Hyg. 1995;53(6):639-645.
17. Standley P. & Steyermark J. Flora of Guatemala. Vol 24, Part V. Fieldiana Botany. Chicago Natural History Museum 1946. PP:433-434.

18. Standley, P. *Flora of the Lancentilla Valley Honduras*. Vol 10. Chicago: Publication 283 1931. PP: 237-238.
19. Standley, P. *Flora of Yucatán*. Vol III. Chicago:1930. PP:312.
20. Aguilar, J. *Relaciones de unos aspectos de la flora útil de Guatemala*. 2 ed. Guatemala: Amigos del bosque 1966. PP:108.
21. Morton, J. *Atlas of medicinal Plants of middle America, Bahamas to Yucatán*. U.S.A.: C.C. Thomas 1981. PP:392.
22. Melgar, M. *Plantas Alimenticias y Medicinales de las Zonas Semiáridas de Guatemala*. Instituto de Nutrición para Centroamerica y Panamá (INCAP), Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala. 1988. PP:77-79.
23. Medinilla, B. *Evaluación Farmacológica y Toxicológica de plantas comúnmente empleadas en Guatemala contra la malaria*. I Congreso Nacional del colegio de Farmacéuticos y Químicos de Guatemala. (Libro de Resúmenes). 1994.
24. Monseur, X. & Motte, J. "Quantitative high performance liquid chromatographic analysis of the bitter quassinoid compounds from *Simarouba glauca* seeds". J. Chromatogr. 1983;264(3):464-473.
25. Moron, J. & Polonsky. "The triterpene origin of bitter constituents of the Simaroubaceae". Tetrahedron Lett. 1968;4:385-390.
26. Armour, R. "Investigation on *Simarouba glauca* in El Salvador". Econ. Botany. 1959;13:13-66.
27. Solis, P; Wright, C; Anderson, M; Gupta et al. "A microwell cytotoxicity assay using *Artemia Salina* (brine shrimp)". Planta. Med. 1993;59(3):250-252.

28. Wagner H. Bladt S. Zgainski EM. Plant drug analysis: Athin layer chromatography atlas. The Scott A. trad. Alemania: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1984. pp 126.299.

29. Medinilla, B. Manual de laboratorio de fitoquímica. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala 1993. pp.15,26.

30. Mahabir P. Gupta. Plantas Medicinales Iberoamericanas. Programa iberoamericano para el desarrollo, Subprograma de Química Farmacéutica. Santafé de Bogota, Colombia 1995. 1era edición.

31. Franssen ; Smeijsters; Berger and Medinilla . "In vivo and In vitro Antiplasmodial Activities of some Plants Traditionally Used in Guatemala against Malaria". Antimicrob. Agents Chemother. 1997;41(7).

ANEXOS

1. Descripción de la planta *Simarouba glauca*.
2. Clasificación botánica de *Simarouba glauca*
3. Dibujo de la planta evaluada.
4. Ciclo parasitario del Plasmodium en el ser humano.

1. Simarouba glauca D.C (Simarouba versicolor St. Hil)

1.1 Nombres comunes:

Aceituno, árbol del paraíso, corteza amarga, chapascuapul, frene, gusano, jocote de mico, juan primero, jucumico, mantecón, negrito, olivo, pasa, palo blanco, simaruba glauca, simaruba xpazakil, tacual chapul, zapatero; perteneciente a la familia de las Simaroubaceae (17,18,19,20,21,22).

1.2 Descripción:

Simarouba glauca es un árbol pequeño o de mediano tamaño, a veces de 15 metros de alto. Su tronco mide 30cms o más de diámetro; las hojas son alargadas, con foliolos de 10 a 20, coriáceas o a veces ovalado-oblongas, lisas, de 5 a 10 cm de largo, alternas u opuestas, redondeadas en el ápice, agudas y desiguales en la base, verdes en la parte superior y pálidas en el envés, los márgenes a menudo enrollados hacia atrás. Las flores son amarillo-verdosas, con 4 a 6 pétalos oblongos u ovalados de 4 a 6 mm de largo; el cáliz mide de 3 a 3.5 mm de ancho (3,17,21,22). Los frutos son ovalados, muy parecidos a una oliva, por ello el nombre local de "aceituno" (17), cambian de color verde a rojo, y finalmente a púrpura-negro.

Miden de 1.5 a 2.5 cms. de largo, con jugo blanquesino, ligeramente astringente, pulpa insípida, y una sola semilla de color café-naranja (3,17,21,22).

1.3 Origen y distribución:

Siempre o usualmente de regiones costeras, terrenos húmedos o secos, laderas rocosas y a orilla de riachuelos en la Florida, Bahamas, Cuba, Jamaica, República Dominicana y desde México a Panamá. La especie es nativa de Guatemala y crece en el Petén, Baja verapaz, Quiche, Izabal, El progreso, Zacapa, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa, Retalhuleu (17,18,22).

1.4 Usos populares y estudios farmacológicos efectuados:

La infusión de la corteza del tronco y la raíz se emplea como tónico amargo y estomáquico, contra las lombrices y otros parásitos intestinales, particularmente contra los tricocéfalos (20,22). En 1951 se reportó que la tintura alcohólica de la corteza cura la amebiasis (21). En Bolivia una fuerte decocción ha sido usada con gran éxito contra la diarrea persistente (20,21,22). El alcaloide cuasina de la corteza, se usa en medicina contra las dispepsias atónicas, clorosis, debilidad general y vómitos nerviosos (20,22). La infusión amarga de la corteza es utilizada en Centro América como remedio

para la malaria (17,18,20,21,22) esto se comprobó en 1991 por Medinilla, (3,23). La maceración hidroalcohólica de las hojas inhibe el crecimiento de *Salmonella Typhy* y *Shigella dysenteriae* (11). Las hojas machacadas en forma de baños y fricciones, se usan en afecciones cutaneas y prurito (11). La pulpa del fruto es comestible, ligeramente astringente e insípida (17,18,20,22). En El Salvador se hace un vino hecho de la decocción de la cáscara del fruto, el cual se utiliza contra problemas estomacales (21).

El glicósido tóxico de las almendras es empleado comercialmente en un amebicida llamado "glaumeca" (21).

1.5 Constituyentes:

Se encontraron alcaloides y cuasinoides en la planta (21). La corteza posee principios amargos y flavonoides (1). La semilla tiene dos cuasinoides tóxicos: glaucarrubina y glaucarrubinona (24,25), también se encontró que contiene lípidos, alcoholes triterpénicos, ésteres de esteroides (22). De las semillas se obtiene 55-65% de grasa y 14% de humedad. La grasa es verdosa y de ligero sabor amargo, que luego de refinada se torna blanca, inodora y prácticamente carece de sabor (1).

Las almendras de las semillas contienen 69% de aceite

(25), más un glicósido cristalino tóxico con fórmula $C_{22}H_{36}O_9$; el aceite extraído de las almendras se usa para cocinar y hacer jabón en El Salvador. Así también se ha usado comercialmente en la manufactura de margarina desde 1946 (21).

2. Clasificación Botánica (segun Cronquist) de *Simarouba glauca* (11).

-NOMBRES COMUNES: Aceituno, negrito, jucumico, zapatero (Petén).

-REINO: Plantae

-SUBREINO: Embriobionta

-DIVISION: Magnoliophyta

-CLASE: Magnoliopsida

-SUBCLASE: Rosidae

-ORDEN: Rosidae

-FAMILIA: Simaroubaceae

-GENERO: *Simarouba*

-ESPECIE: *Simarouba glauca*

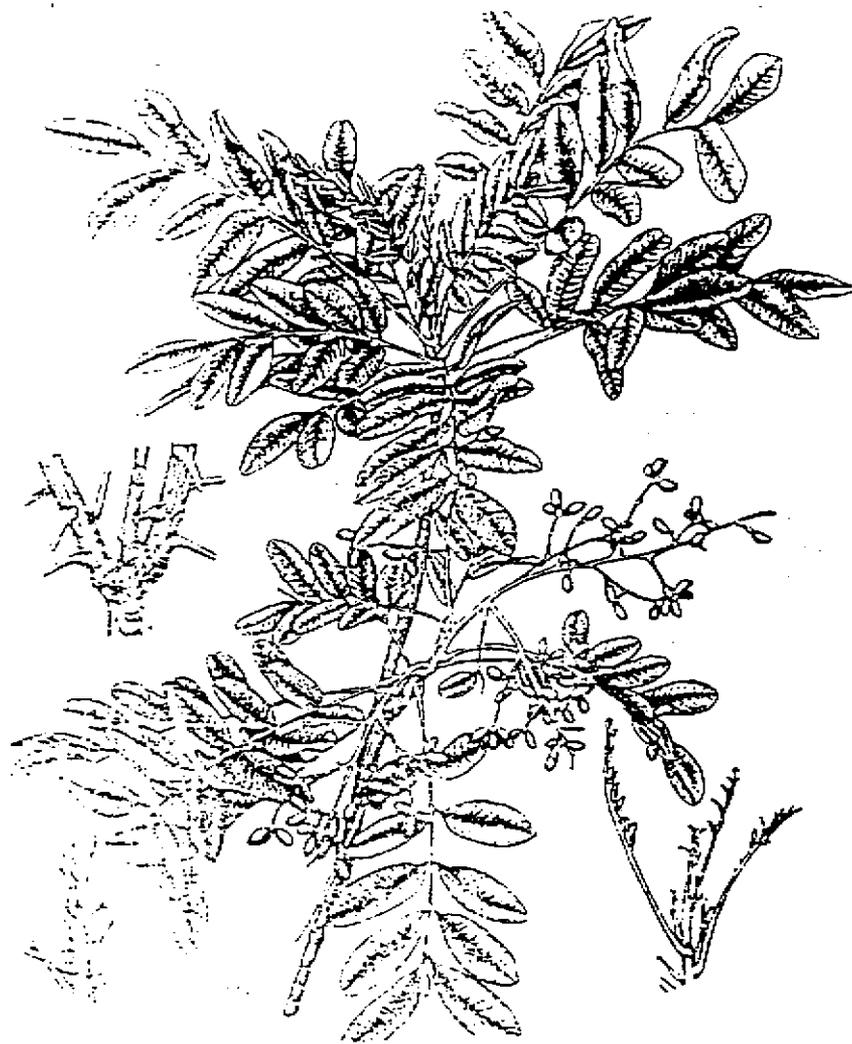


Fig. 1 *Simarouba glauca*

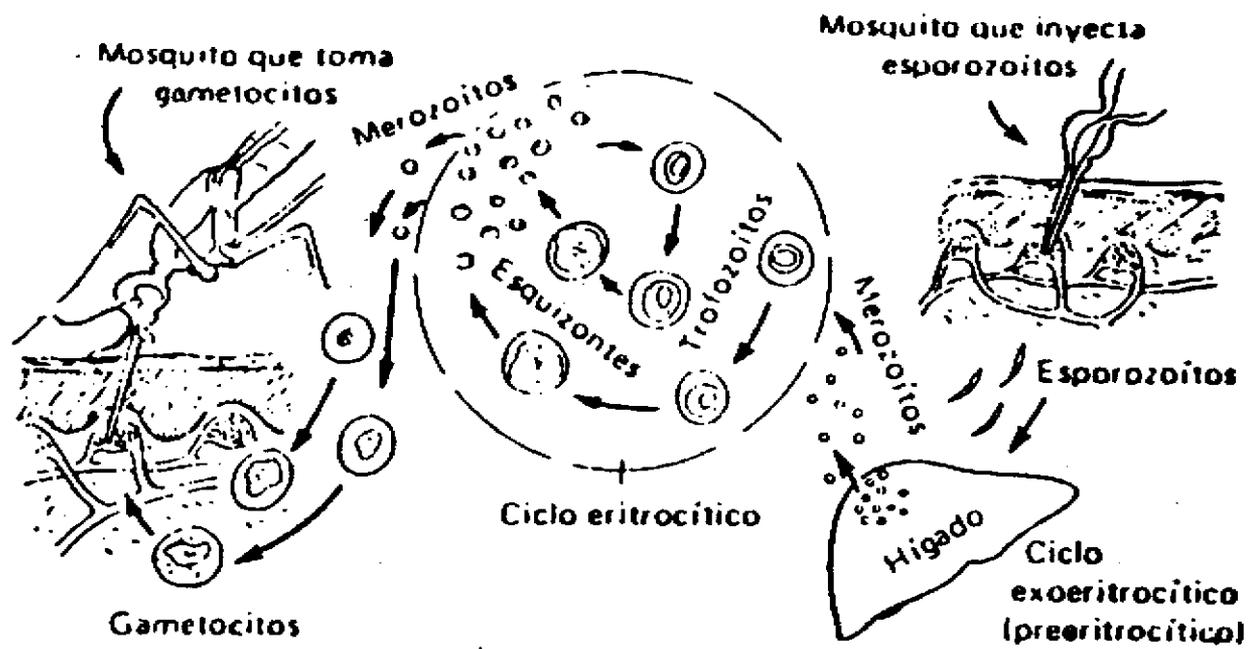
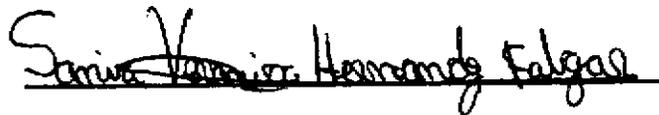


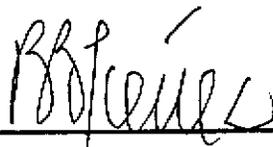
Fig. 2 Ciclo parasitario del Plasmodium en el ser humano.



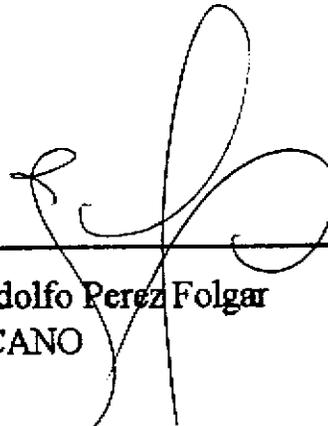
Br. Sonia Verónica Hernández Folgar
AUTORA



Licda. Beatriz Medinilla Aldana
ASESORA



Licda. Beatriz Batres de Jiménez
DIRECTORA



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
DECANO