

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS



EVALUACION *IN VITRO* DE BIOMOLECULAS NATURALES Y  
SINTÉTICAS SOBRE CULTIVOS DE KINETOPLASTIDOS-  
*LEISHMANIA* Y *TRYPANOSOMA*

Tesis para optar al título de Magister *Scientiarum*

*Mención Parasitología presentado por:*

Lic. Diandra Arévalo López

LA PAZ-BOLIVIA

2017

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FÁRMACO BIOQUÍMICAS



EVALUACION *IN VITRO* DE BIOMOLECULAS NATURALES Y  
SINTÉTICAS SOBRE CULTIVOS DE KINETOPLASTIDOS-  
*LEISHMANIA* Y *TRYPANOSOMA*

Tesis para optar al título de Magister *Scientiarum*

*Mención Parasitología presentado por:*

Lic. Diandra Arévalo López

Tutor: Alberto Giménez Turba, Ph.D.

Co-Tutor: Efraín Salamanca Capusiri, MSc.

LA PAZ-BOLIVIA

2017

## **DEDICATORIA**

A Dios el que Fue, Es y Siempre será

A mi mejor amigo, amante y confidente mi esposo Jorge Tapia

A mis amados padres Gonzalo Arévalo Q. y Janeth López H. por el apoyo y la formación a lo largo de la vida, la educación viene de casa, a mis hermanos Fabricio, Abdiel y Valerie por estar en mi vida, los amo.

A todos mis familiares y amigos...

A toda la gente que vive día a día en la batalla contra las enfermedades tropicales y desatendidas en el mundo.

## AGRADECIMIENTOS

A la Maestría en Ciencias Biológicas y Biomédicas 10<sup>ma</sup> versión, la cual abrió el camino a esta experiencia de enriquecimiento en la investigación.

El trabajo se realizó gracias al “Programa de fortalecimiento institucional” mediante la Beca Maestría y los proyectos de investigación “Estudio moleculares y mecanísticos sobre los alcaloides de la Evanta y producción de formulaciones farmacéuticas a base de Evanta para un estudio piloto de validación de la eficacia contra leishmaniasis cutánea en Etiopía (Evanta-Etiopía)”, “Estudios químicos biodirigidos de especies amazónicas antiparasitarias utilizadas en la cultura Tacana (Bioprospección Tacana)” y “Biomoléculas de Interés Medicinal e Industrial (Antiparasitarios)”, financiado por la cooperación Sueca en Bolivia UMSA-ASDI-DIPGIS, realizado en los laboratorios de la Unidad de Evaluaciones Biológicas, del Área de Química Farmacéutica, del Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.

Al CIPTA (Consejo Indígena de los Pueblos Tacana), al CIMTA (Consejo Indígena de Mujeres Tacana) y a los señores Alsides Serato y Natalio Marupa por la guía y colecta de especies vegetales de uso tradicional Tacana.

Al doctorante Ivan Limachi por proporcionar los derivados sintéticos, al AQF-IIFB por la preparación de los extractos crudos y fracciones, a la Dra. Ana Gabriela Herrera responsable del Programa Nacional de Chagas - Ministerio de Salud La Paz, por la donación de Nifurtimox y Benznidazol como controles en las pruebas de *T. cruzi*, al Dr. Eduardo Gonzáles y la Dra. Silvia Zambrana del área de Farmacología del IIFB-UMSA por la donación de las células HeLa, al laboratorio de parasitología del INLASA por la donación de las cepas de *T. cruzi*, al Dr. Endalamaw Gadisa del Armauer Research Institute “AHRI”- Etiopía por la donación de la cepa *Leishmania aethiopica*, al Dr. Jorge Arévalo del IETA vH-Universidad Cayetano Heredia (Perú) por la cepa *Leishmania braziliensis* M2904, a todo el personal del DIPGIS por toda la colaboración prestada durante este tiempo.

Expresar mi mayor gratitud y admiración a mi tutor, Dr. Alberto Giménez Turba, por toda la dedicación, tiempo, orientación y paciencia en este proceso de maestría e investigación, por haber abierto mi pequeña percepción a un nuevo mundo. Nunca olvidare 3 frases: “A veces es mejor lo

malo conocido que lo bueno por conocer” como bienvenida al labo; “Dale, tú puedes, yo sé que tú puedes” y el día que pase por la “amansadora” con la bella anécdota.

A mi co-tutor y guía de laboratorio, Dr. Efraín Salamanca (Señor), gracias por toda la enseñanza experimental, por la amistad y diversos consejos, por haber estado incondicional durante esta etapa de mi vida, por la calidad de persona que eres.

A la Dra. Ninoska Flores por todo su apoyo y colaboración, aprendí mucho de usted, sobre el orden, la disciplina y la responsabilidad, y sigo aprendiendo.

Al Dr. Juan Carlos Ticona (Juanqui), gracias por toda tu ayuda y tiempo prestado en mis lagunas de química, por orientarme en la organización de las plantas y los procesos de extracción, fraccionamiento, etc. Gracias por la amistad.

A los amigos del Instituto, Juanqui, Neli, Boris, Crispin, Ivan, Lourdes, Gabriela y Fede (mi italiana favorita), por el compañerismo, el apoyo, la comprensión y los viajes de campo (experiencias inolvidables).

A todos mis docentes y compañeros de la Maestría en Ciencias Biológicas y Biomédicas 10<sup>ma</sup> versión.

A los amigos y colegas del Seladis y la Sociedad de Inmunología, a la Dra. Jacqueline Calla y el Dr. Walter Magariños, los primeros en abrirme las puertas al laboratorio en La Paz, además permitirme ser parte de la gran familia inmunológica.

Por sobre todo y en primer lugar a YHWH por haber direccionado mi camino a este lugar, porque Su voluntad es buena, agradable y perfecta. Sin Ti no hay vida, sin Ti nada de lo que es fue hecho, sin Ti no vivo, eres mi motor, alfa y omega, principio y fin, mi Dios y mi Señor...

La gente sufre y muere todos los días Y nosotros podemos hacer algo INVESTIGAR...

## RESUMEN

La enfermedad de Chagas y la *Leishmaniasis* son enfermedades endémicas en Bolivia, causadas por *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania spp.* respectivamente, parásitos de la familia Trypanosomatidae. El tratamiento y diagnóstico para estas enfermedades sigue siendo un reto con reacciones cruzadas entre ellos. En este trabajo buscamos nuevos agentes antiparasitarios, a través de la bioprospección sobre especies vegetales de la medicina tradicional Tacana, etnia ubicada en la amazonia al norte del departamento de La Paz.

En el capítulo 1: Se realizaron evaluaciones biológicas *in vitro* de 109 especies vegetales contra *L. amazonensis*, *L. braziliensis* y *T. cruzi*, de donde se obtuvo 36 especies activas (33 %), 14 frente a *T. cruzi* (12.8 %) y 35 contra *Leishmania* (32.9 %); dentro de estas, 4 especies son usadas específicamente para la leishmaniasis y 3 de ellas mostraron actividad *in vitro* (75 %). En total 15 especies fueron enfrentadas contra: *T. cruzi*, *L. amazonensis*, *L. aethiopica*, 2 cepas de *L. braziliensis*, y *L. lainsoni*, presentando un amplio espectro de acción, con 5 especies muy activas ( $CI_{50} \leq 25 \mu\text{g/ml}$ ), y 10 con moderada actividad ( $25 < CI_{50} \leq 50 \mu\text{g/ml}$ ). Además, se realizaron pruebas de citotoxicidad contra células HeLa, dando como resultado 8 especies antiparasitarias ( $IS \geq 2$ ) y 7 citotóxicas ( $IS < 2$ ). Posteriormente se realizó un estudio biodirigido de 13 especies, la fracción 3 (F3) eluida de la columna principalmente con acetato de etilo, fue usualmente la más activa. La F3 fue evaluada contra los 6 parásitos, observándose que en este proceso de purificación los compuestos mejoran la actividad, algunos pierden actividad, y aumentan citotoxicidad; este proceso dio como resultado 8 especies prometedoras.

En el capítulo 2: se evaluaron 23 derivados sintéticos de la 2-fenilquinolina (SQ1) contra 5 cepas: *L. amazonensis*, *L. aethiopica*, *L. braziliensis* dos cepas, y *L. lainsoni*, obteniéndose 12 moléculas con mejor actividad ( $CI_{50}$ ) que la cabeza de serie SQ1. Posteriormente se realizaron pruebas de citotoxicidad calculándose los respectivos IS, de las 12 moléculas 3 mejoraron los valores de  $CI_{50}$  y de IS: la SQ5, la SQ9 y la SQ14 convirtiéndose en mejores leishmanicidas.

## ABSTRACT

Chagas disease and Leishmaniasis are endemic diseases in Bolivia, caused by *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania spp.* respectively, parasites of the Trypanosomatidae family. The treatment and diagnosis for these diseases remains a challenge with cross reactions between them. In this work we look for new antiparasitic agents, through the bioprospecting of vegetal species of the traditional medicine Tacana, ethnic group located in the Amazon north of the department of La Paz.

In chapter 1: In vitro biological evaluations of 109 vegetal species were evaluated against *L. amazonensis*, *L. braziliensis* and *T. cruzi*, from which were obtained 36 active species (33 %), 14 against *T. cruzi* (12.8 %) and 35 against *Leishmania* (32.9 %); within these, 4 species are used specifically for leishmaniasis and 3 of them showed in vitro activity (75 %). In total 15 species were faced against: *T. cruzi*, *L. amazonensis*, *L. aethiopica*, 2 strains of *L. braziliensis*, and *L. lainsoni*, presenting a broad spectrum of action, with 5 highly active species ( $IC_{50} \leq 25 \mu\text{g/ml}$ ), and 10 with moderate activity ( $25 < IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/ml}$ ). In addition, cytotoxicity tests were performed against HeLa cells, resulting in 8 antiparasitic species ( $SI \geq 2$ ) and 7 cytotoxic ( $SI < 2$ ). Subsequently, a biodirected study of 13 species was conducted, fraction 3 (F3) eluted from the column mainly with ethyl acetate, was usually the most active. The F3 was evaluated against the 6 parasites, observing that in this purification process the compounds improve activity, some lose activity, and increase cytotoxicity; this process resulted in 8 promising species.

In chapter 2: 23 synthetic derivatives of 2-phenylquinoline (SQ1) were evaluated against 5 strains: *L. amazonensis*, *L. aethiopica*, *L. braziliensis* two strains, and *L. lainsoni*, obtaining 12 molecules with better activity ( $IC_{50}$ ) than the head of series SQ1. Subsequently, cytotoxicity tests were carried out calculating the respective SI, of the 12 molecules 3 improved the  $IC_{50}$  and SI values: SQ5, SQ9 and SQ14 becoming better leishmanicides.

## Índice General

1. Objetivos.....	1
1.1. Objetivo Específico .....	2
1.2. Objetivos Generales.....	2
2. Introducción.....	3
3. Justificación .....	6
4. Metodología.....	8
4.1. Sustancias Químicas, Materiales y Equipos .....	9
4.2. Material Vegetal .....	9
4.3. Productos Sintéticos .....	10
4.4. Parásitos, Células y Medios.....	11
4.5. Actividad Leishmanicida y Tripanocida <i>In Vitro</i> .....	12
4.6. Actividad Citotóxica.....	13
4.7. Índice de Selectividad (IS) .....	13
4.8. Análisis Estadístico .....	13
5. Capítulo 1: Bioprospección Tacana.....	14
5.1. Antecedentes.....	15
5.1.1. Medicina natural y tradicional. ....	15
5.1.2. Enfermedad de Chagas.....	18
5.2. Resultados y Discusiones .....	29
5.2.1. Material vegetal.....	29
5.2.2. Evaluaciones biológicas.....	29
5.2.2.1. Primera fase: selección de las especies activas .....	30
5.2.2.2. Segunda fase: espectro de acción .....	34
5.2.2.3. Tercera fase: química biodirigida.....	37
5.3. Conclusiones.....	52
6. Capítulo 2: Optimización de Quinolinas con Potencial Leishmanicida .....	54
6.1. Antecedentes.....	55
6.1.1. Leishmaniasis.....	55

6.1.2. Síntesis de fármacos a partir de plantas. ....	67
6.1.3. Género <i>Galipea</i> . ....	67
6.2. Resultados y Discusiones .....	72
6.2.1. Compuestos sintéticos.....	72
6.2.2. Actividad Leishmanicida y Citotóxica <i>In Vitro</i> . ....	73
6.3. Conclusiones.....	80
7. Referencias Bibliográficas.....	81
8. Anexos .....	105

## Índice de Tablas

Tabla 1: Descripción de las cepas y células utilizadas con su manifestación clínica .....	12
Tabla 2: Clasificación de la especies por uso tradicional Tacana .....	29
Tabla 3: Valores de $CI_{50}$ para drogas control .....	31
Tabla 4: Actividad biológica <i>in vitro</i> de las especies vegetales activas .....	32
Tabla 5: Especies vegetales utilizadas para la leishmaniasis por los Tacana .....	34
Tabla 6: Actividad biológica de especies seleccionadas frente a todos los parásitos .....	35
Tabla 7: Valores de $CI_{50}$ e IS del extracto crudo y la F3 en la tercera fase.....	38
Tabla 8: Especies antiparasitarias y citotóxicas, según el IS del extracto crudo.....	41
Tabla 9: Especies promisorias resultado de la química biodirigida .....	43
Tabla 10: Especies de <i>Leishmania spp.</i> causante de leishmaniasis en humanos .....	56
Tabla 11: Descripción de los compuestos sintéticos .....	72
Tabla 12: Actividad biológica de las drogas control contra todas las cepas de <i>Leishmania spp.</i> ..	74
Tabla 13: Actividad biológica contra las cepas de <i>Leishmania spp.</i> de 2FQ y SQ1, con la ML ...	74
Tabla 14: Compuestos que mejoraron su ML en relación a la SQ1 .....	75
Tabla 15: Resultados de los compuestos más activos con IS.....	76

## Índice de Figuras

Figura 1: Pueblos indígenas de Bolivia: 35 etnias .....	17
Figura 2: Distribución geográfica de las DTUs de <i>T. cruzi</i> en pacientes humanos .....	20
Figura 3: Distribución mundial de los casos de infección por <i>T. cruzi</i> 2016.....	21
Figura 4: Formas celulares de <i>T. cruzi</i> .....	22
Figura 5: Ciclo de vida de <i>T. cruzi</i> .....	23
Figura 6: Evolución de la enfermedad de Chagas.....	25
Figura 7: Estructura química de Benznidazol y Nifurtimox .....	26
Figura 8: Estructuras químicas de Fexinidazol, Fosravuconazol y Violeta de Genciana .....	28
Figura 9: Resultados obtenidos de las evaluaciones biológicas <i>in vitro</i> de los 202 extractos crudos en la fase 1, frente a Lma, M2904 y <i>T. cruzi</i> , según la $CI_{50}$ expresados en porcentaje (%)......	31
Figura 10: Taxonomía del género <i>Leishmania</i> .....	57
Figura 11: Estado mundial de endemicidad de LV 2012 .....	59
Figura 12: Estado mundial de endemicidad de LC 2012 .....	60
Figura 13: Densidad de casos de LC y LMC en Latinoamérica 2015 .....	60
Figura 14: Ciclo de vida de <i>L. (Leishmania)</i> en <i>Lutzomyia longipalpis</i> .....	62
Figura 15: Drogas utilizadas para leishmaniasis .....	65
Figura 16: Estructura química del Fexinidazol .....	66
Figura 17: Estructuras de las Chimaninas .....	68
Figura 18: Estructura química de la 2FQ .....	69
Figura 19: Diferentes derivatizaciones en la 2FQ.....	71
Figura 20: Estructura química de los derivados sintéticos más activos .....	79

## Índice de Anexos

Anexo 1: Actividad antiprotozoaria de las 109 especies en estudio (202 extractos crudos).....	106
Anexo 2: Especies vegetales activas para <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	120
Anexo 3: Especies vegetales activas para <i>L. amazonensis</i> (Lma).....	121
Anexo 4: Especies vegetales activas para <i>L. braziliensis</i> (M2904) .....	122
Anexo 5: Plantas con uso tradicional Tacana relacionado a la leishmaniasis .....	124
Anexo 6: Especies seleccionadas para fraccionamiento y la actividad antiprotozoaria.....	132
Anexo 7: Actividad biológica <i>in vitro</i> de los derivados sintéticos de la 2-fenilquinolina contra cepas de <i>Leishmania</i> y células HeLa, expresados en $\mu\text{M}$ . .....	134
Anexo 8: Estructuras químicas de los derivados sintéticos de la 2-fenilquinolina inactivos .....	136

## Abreviaciones

- 2FQ = 2-Fenil quinolina
- Anfo B = Anfotericina B
- AQF = Área de Química Farmacéutica
- AVAD = Años de Vida Ajustados a Discapacidad
- C = Corteza
- CAT = Alcaloides Totales de corteza de *Galipea longiflora* (Evanta)
- Cr = Extracto crudo
- DAT = Test de aglutinación directa
- DCM = Dicloro metano
- DMSO = Dimetil sulfóxido
- DTUs = Unidades Discretas de Tipificación
- E = Espinas
- ELISA = Ensayo de inmunoabsorción enzimática
- EtOAc = Acetato de Etilo
- F = Fruto
- F3 = Fracción de DCM – EtOAc
- H = Hojas
- HAI = Hemaglutinación indirecta
- Hx = Hexano
- IFI = Inmuno Fluorescencia Indirecta
- IIFB = Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas
- INLASA = Instituto Nacional de Laboratorios en Salud
- *L.* = *Leishmania*
- *L.ae* = *Leishmania aethiopica*
- *L.bG* = *Leishmania braziliensis* nativa
- *L.lan* = *Leishmania lainsoni* nativa
- LC = Leishmaniasis cutánea
- LCD = Leishmaniasis cutánea difusa
- LCL = Leishmaniasis cutánea localizada

- LIT = Liver Infusion Tryptose
- Lma = *Leishmania amazonensis*
- LMC = Leishmaniasis mucocutánea
- LV = Leishmaniasis visceral
- M2904 = *Leishmania braziliensis*
- MAP = Media antiparasitaria
- MeOH = Metanol
- ML = Media Leishmanicida
- MLEE = Electroforesis de enzima multilocus (del inglés, Multilocus enzyme electrophoresis)
- Órg. Ev. = Órgano evaluado
- P = Polen
- PBS = Solución Tampón de Fosfatos
- PMS = Fenasin metosulfato
- R = Ramas
- Ra = Raíz
- SBF = Suero bovino fetal
- T = Tallo
- *T.* = *Trypanosoma*
- UEB = Unidad de Evaluaciones Biológicas
- UMSA = Universidad Mayor de San Andrés
- *V.* = *Viannia*
- XTT = Sal de tetrazolio sódica 2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-5-carboxanilida

# 1. Objetivos

El presente trabajo fue desarrollado en la Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, Área de Química Farmacéutica dentro de la Unidad de Evaluaciones Biológicas, enmarcado dentro de los proyectos “Evanta-Etiopía”, “Biomoléculas de Interés Medicinal e Industrial (Antiparasitario)” y “Bioprospección Tacana”, financiados por la cooperación sueca en Bolivia UMSA-ASDI-DIPGIS.

Se trata de un trabajo experimental de laboratorio, resultado de más de 3,000 evaluaciones biológicas *in vitro* frente a parásitos de la familia *Trypanosomatidae*.

### 1.1. Objetivo Específico

Contribuir a la validación de la medicina tradicional amazónica en el tratamiento alternativo de parasitosis tropicales mediante bio-prospección con la cultura Tacana.

### 1.2. Objetivos Generales

Llevar adelante estudios antiparasitarios *in vitro*, frente a dos cepas de promastigotes de *Leishmania* y epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*, como parte de bio-prospección de especies amazónicas medicinales utilizadas por el grupo étnico Tacana.

Seleccionar especies activas como medio para valorar el potencial de la biodiversidad local en el desarrollo de tratamientos alternativos para enfermedades parasitarias, mediante evaluaciones *in vitro* frente a cinco cepas de promastigotes de *Leishmania*, *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. aethiopica*, *L. braziliensis* (nativa), *L. lainsoni* (nativa); y epimastigotes de *T. cruzi*.

Realizar pruebas de citotoxicidad *in vitro* contra células HeLa. Calcular el Índice de Selectividad (I.S.) con los valores de  $CI_{50}$  de células HeLa entre las  $CI_{50}$  parasitarias.

Evaluar los efectos biológicos de 23 derivados sintéticos de la 2-fenilquinolina, disponibles en el IIFB, frente a cultivos *in vitro* de cinco cepas de promastigotes de *Leishmania* y células HeLa.

## **2. Introducción**

Las enfermedades tropicales desatendidas son un grupo diverso de enfermedades transmisibles, prevalecen en 149 países afectando a más de mil millones de personas, que no cuentan con tratamientos eficaces o adecuados, por lo general, poblaciones pobres, sin saneamiento adecuado que viven en estrecho contacto con vectores infecciosos, animales domésticos y ganado, lo que cuesta a las economías de países en desarrollo miles de millones de dólares al año. Entre las que se encuentran: La úlcera de Buruli, la enfermedad de Chagas, dengue y chikungunya, dracunculiasis, equinococosis, trématodiasis, la tripanosomiasis africana humana, la leishmaniasis, la lepra, filariasis linfática, micetoma, oncocercosis, rabia, esquistosomiasis, la helmintiasis, taeniasis/cisticercosis, tracoma y Yaws (tréponematosis endémicas) (OMS, 2017a).

Los parásitos protozoarios *Leishmania spp.* y *T. cruzi*, pertenecientes al orden Kinetoplastida y familia Trypanosomatidae, viven de manera extracelular en sus vectores y como amastigotes intracelulares obligados en el huésped mamífero (Leal, Amado, Kouznetsov, & Escobar, 2013) son causantes de la leishmaniasis y la enfermedad de Chagas, respectivamente. Se han reportado infecciones por *Leishmania spp.* en 98 países en todos los continentes. Se estima que hay 1.3 millones de nuevos casos en todo el mundo anualmente (Andrade-Narvaez, Loría-Cervera, Sosa-Bibiano, & Van Wynsberghe, 2016).

Por otra parte, la enfermedad de Chagas se encuentra principalmente en 21 países de Latinoamérica, donde prima la transmisión por vectores. Se estima que 8 millones de personas están infectadas en todo el mundo, principalmente en América Latina. Esta enfermedad se está extendiendo a otros continentes debido a la migración (OMS, 2012a).

El tratamiento de ambas enfermedades se realiza con un arsenal terapéutico antiguo, escaso y con muchas complicaciones, entre ellas la alta toxicidad, reacciones adversas, vía de administración parenteral y largos periodos de tratamiento (Barrett & Croft, 2012).

Es así que surge la necesidad de acudir a la medicina natural y tradicional en busca de nuevos agentes antiparasitarios, siendo las plantas una fuente importante de principios activos con diversas propiedades farmacológicas como alternativas de tratamiento a diferentes

enfermedades (Leal, et al., 2013). La investigación sobre preparados herbales con potencial actividad antiparasitaria se justifica por los resultados positivos obtenidos con el uso de extractos, fracciones y compuestos aislados. Sin embargo, el aislamiento y la purificación de los compuestos vegetales son costosos, requieren mucho tiempo, utilizan grandes cantidades de disolventes orgánicos, además de causar preocupaciones ambientales en cuanto a la eliminación de desechos. Las alternativas más viables pueden ser la síntesis de tales compuestos o el uso de fitoquímicos a partir de fracciones de los extractos crudos de plantas (Rabito, et al., 2014).

Desde 1993 el Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas (IIFB), dependiente de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la UMSA, está trabajando en la evaluación biológica de especies medicinales listadas en Farmacopeas Tradicionales, de donde se seleccionó de entre más de 800 extractos a la Evanta (*Galipea longiflora*), planta medicinal antiparasitaria conocida por las etnias: Tacana, Mosekene y Tsimane asentadas en la amazonia boliviana (Giménez, et al., 2005).

En este estudio se realizaron evaluaciones antiparasitarias *in vitro* de 109 especies vegetales de la amazonia boliviana, las cuales fueron colectadas por el Área de Química Farmacéutica (AQF) del IIFB-UMSA, con ayuda de conocedores de la medicina tradicional Tacana durante los años 2013 al 2016, en la provincia Abel Iturralde al norte del departamento de La Paz.

Para mejor explicación el trabajo se ha dividido en dos capítulos. El Capítulo 1: Bioprospección Tacana, que a su vez contiene 3 fases, consta de evaluaciones antiparasitarias *in vitro*, selección de plantas activas y antiparasitarias; y el Capítulo 2: Optimización de quinolinas con potencial leishmanicida, en el que se realizaron evaluaciones contra 5 cepas de *Leishmania spp.* y células HeLa, de 23 derivados sintéticos de la 2-fenilquinolina.

## **3. Justificación**

La resistencia a los antimicrobianos es cada vez mayor en infecciones por virus, bacterias, hongos y parásitos. Por lo que son necesarias más inversiones e innovaciones en la investigación y desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, vacunas y pruebas diagnósticas (OMS, 2017b).

Bolivia pertenece al Grupo de Países Megadiversos Afines (que albergan en conjunto más del 70 % de la biodiversidad del planeta) (Megadiverse-Countries, 2005), es uno de los países con mayor diversidad biológica en el planeta (Barnes, Maldonado, Froslev, Antonelli, & Ronsterd, 2016), pobremente catalogada. Tiene unos 500,000 kilómetros cuadrados de bosques, colocándolo en el puesto diez u once de los países más ricos en bosques del mundo, y si tomáramos en cuenta sólo a los países tropicales llegaría incluso a ser el quinto o sexto de los países tropicales más ricos en bosques del mundo, Bolivia es el país con los recursos forestales per cápita más extensos (Ibisch, 2001), con más de 15,000 especies de plantas vasculares e inferiores (Jorgensen, Nee, & Georg, 2014) de la cual hay poco conocimiento respecto a sus propiedades medicinales.

Sabiendo que los productos naturales desempeñan un papel altamente significativo en el proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos, que la gran mayoría de las personas todavía confían en su materia médica tradicional para sus necesidades diarias. Los bosques tropicales continúan siendo una gran reserva de posibles fuentes de drogas y compuestos inestimables de puntos de partida para el desarrollo de nuevas drogas. Solo alrededor del 1 % de las especies tropicales han sido estudiadas para su potencial farmacéutico y alrededor de 50 fármacos provienen de plantas tropicales (Gurib-Fakim, 2006; Newman & Cragg, 2007).

Por lo que la bioprospección de especies vegetales es una herramienta importante para encontrar cabezas de serie, que a través de métodos sintéticos puedan llevarnos hacia nuevos agentes antiparasitarios. Es así que el IIFB desde 1996 viene trabajando sobre la etnobotánica Tacana dentro del marco del proyecto UMSA-CIPTA “Jardín Botánico”, orientado al rescate cultural y de saberes ancestrales del pueblo Tacana. Con la Carta de Intenciones entre el IIFB-CIPTA/CIMTA para el rescate, documentación e intercambio de saberes ancestrales sobre plantas medicinales y culturales de los Pueblos Tacana.

## **4. Metodología**

## 4.1. Sustancias Químicas, Materiales y Equipos

### 4.1.1. Sustancias químicas.

Dimetil sulfóxido (DMSO), fenasin metosulfato (PMS), sal de tetrazolio sódica 2,3-bis-(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-5-carboxanilida (XTT), sal de sodio Resazurina, solución salina tamponada con fosfato (PBS), cloruro de sodio (NaCl), bifosfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), cloruro de potasio (KCl), fosfato de potasio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), ácido etilendiaminotetracético (EDTA), medio de cultivo Schneider, medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640, bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) suero bovino fetal (SBF), y medio de infusión de hígado y triptosa, fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Anfotericina B (Cipla Ltd, Goa, India), Miltefosina (Institut de développement de produits, Santé, Francia), sulfato de Gentamicina (cultivo tisular, Life sciences), Nifurtimox (Bayer S.A., El Salvador), Benznidazol (Lafepe, Brasil).

### 4.1.2. Materiales y equipos.

Estufas de 26°C (Stufa-WTB-Binder, Alemania) y 37°C (Midi 40-CO<sub>2</sub> incubator, Thermo scientific, USA), microscopio óptico invertido (Axiovert 25-zeiss), lector de microplacas Synergy HT (Biotek, Winooski, VT, EE. UU.), frascos de cultivo celular de 25 cm<sup>2</sup> con 50 ml de capacidad (Falcon, Inglaterra), placas de 96 micropozos de fondo plano (Cellstar).

## 4.2. Material Vegetal

La colecta fue realizada por el Área de Química Farmacéutica del IIFB (AQF-IIFB) desde el mes de noviembre 2013 hasta julio del 2016, alrededor de la comunidad Buena Vista (S 14°21'969'' y O 67°33'764'', elevación 205 msnm), provincia Abel Iturralde del departamento de La Paz, Bolivia; esta se llevó a cabo en patios traseros o en áreas silvestres cercanas a los hogares locales, bajo la guía de dos comunarios el Sr. Alsides Serato y el Sr. Natalio Marupa, las especies fueron identificadas y documentadas *in situ* por la gente Tacana. Se recogieron varias partes de las plantas entre ellas: hojas, raíces, corteza, tallos, flores y frutos. Los nombres Tacana,

los usos medicinales, forma de preparación y tratamiento de estas plantas se consensuaron en un taller local con curanderos de otras 8 comunidades tacanas diferentes, reunidas por el Consejo Indígena de los Pueblos Tacana (CIPTA) / Consejo Indígena de Mujeres Tacana (CIMTA). Se prepararon muestras voucher, depositadas y autenticadas por el Herbario Nacional de Bolivia (LPB). Los nombres científicos se confirmaron a través de la base de datos del Índice internacional de nombres de plantas (International Plant Name Index; IPNI). Todas las muestras, excepto las frutas (recién extraídas) se secaron a temperatura ambiente, se protegieron de la luz solar, luego se molieron y se almacenaron hasta el análisis (Ver Anexo 1).

El AQF-IIFB procesó un total de 109 especies vegetales de la siguiente manera: 202 muestras de diferentes órganos de las plantas se extrajeron por maceración etanólica al 96 % durante 72 hr (relación 1:10 p/v) a temperatura ambiente, se filtraron y evaporaron a presión reducida hasta sequedad, y se evaluaron en la Unidad de Evaluaciones Biológicas del IIFB (UEB-IIFB) frente a parásitos de *Leishmania spp.* y *Trypanosoma cruzi*.

Los extractos con actividad significativa se sometieron a fraccionamiento cromatográfico en columna abierta sobre gel de sílice (16 g, longitud de columna: 11 cm, diámetro interno: 2.4 cm) usando mezclas de disolventes con polaridad creciente.

Fracción F1: Hexano (Hx) (100 ml); F2: Hx-Dicloro metano (DCM) (1:1, 50 ml) y DCM (50 ml); F3: DCM-Acetato de etilo (EtOAc), (1:1, 50 ml) y EtOAc (50 ml) y F4: EtOAc-Metanol (MeOH) (8:2, 100 ml). Las fracciones se evaluaron para ver su actividad leishmanicida y tripanocida en la UEB-IIFB (Ver Tabla 7) (Coaquira, 2016; Garnica, 2016; Limache, 2016; Salazar, 2016). El rendimiento del crudo se refiere a la relación entre el peso del extracto crudo y el peso del órgano de la planta extraído. El rendimiento de fracciones es la relación entre su peso y el peso del extracto crudo cargado en la columna (Ver Anexo 6).

### 4.3. Productos Sintéticos

Un total de 23 compuestos puros, derivados sintéticos de la 2-fenilquinolina fueron generados por Ivan Limachi doctorante del proyecto “Biomoléculas de Interés Medicinal e

Industrial (Antiparasitario)", en la Universidad de Lund-Suecia en el laboratorio del profesor Olov Sterner y proporcionados a la UEB-IIFB para las evaluaciones biológicas.

#### 4.4. Parásitos, Células y Medios

Promastigotes de *Leishmania (Leishmania)*: *L. (L.) amazonensis* (Clon 1 NHOM-BR-76-LTB-012), donada por la Université Paül Sabatier de Francia, y *L. (L.) aethiopica* (Lae-AHRI), donada por el Dr. Endalamaw Gadisa del Armauer Hansen Research Institute (AHRI) de Etiopía. Promastigotes de *Leishmania (Viannia)*: *L. (V.) braziliensis* (M2904 C192 RJA), donada por el Dr. Jorge Arévalo de la Universidad Cayetano Heredia del Perú, *L. (V.) braziliensis* (IIFB-LbG) y *L. (V.) lainsoni* (IIFB-LIAs), ambas aisladas de pacientes a partir de heridas cutáneas y tipificadas por PCR-RFLP en el Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas (IIFB) (Bilbao-Ramos, et al., 2017). Epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* (Tc-INLASA), donados por el laboratorio de parasitología del Instituto Nacional de Laboratorios en Salud (INLASA) (Ver Tabla 1). Todas las cepas de *Leishmania spp.* y *T. cruzi*, fueron cultivadas en medio Schneider (pH 6.2) y medio LIT (pH 7.2) respectivamente, suplementados con 10 % SBF, e incubados a 26°C. Se realizó cambio de medio cada 72 hr para mantener la población parasitaria viable.

Células HeLa donadas por el laboratorio de Farmacología del IIFB (Ver Tabla 1), fueron cultivadas en medio RPMI-1640 suplementado con Gentamicina (40 µg/ml), NaHCO<sub>3</sub> (2.2 g/L) y 5 % SBF (pH 7.4), y fueron incubadas a 37°C con 5 % CO<sub>2</sub> y 100 % de humedad relativa. Se realizó cambio de medio de cultivo cada 72 hr para garantizar la viabilidad celular, utilizando una solución de desprendimiento celular para cultivos adherentes (NaCl 0.8 g/ml, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.11 g/ml, KCl 0.02 g/ml, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.02 y EDTA 0.02 g/ml).

**Tabla 1:** Descripción de las cepas y células utilizadas con su manifestación clínica

N°	Parásitos	Código	Tipo de enfermedad	Abreviatura
1	<i>L. (L.) amazonensis</i>	Clon 1 NHOM-BR-76-LTB-012	Leishmaniasis cutánea (LC), cutánea difusa (LCD)	Lma
2	<i>L. (L.) aethiopica</i>	Lae-AHRI	LC, LCD del viejo mundo	L.ae
3	<i>L. (V.) braziliensis</i>	M2904 C192 RJA	LC, mucocutánea (LMC) o “espundia”	M2904
4	<i>L. (V.) braziliensis</i>	IIFB-LbG	LC, LMC o “espundia”	L.bG
5	<i>L. (V.) lainsoni</i>	IIFB-LIAs	LC	L.lan
6	<i>Trypanosoma cruzi</i>	Tc-INLASA	Enfermedad de Chagas	<i>T.cruzi</i>
N°	Células	Código	Tipo de enfermedad	
7	HeLa		Células de cáncer cérvico uterino	

N° 1, 2 y 3 cepas de referencia; N° 4, 5 y 6 cepas nativas.

#### 4.5. Actividad Leishmanicida y Tripanocida *In Vitro*

Las muestras tanto naturales como sintéticas, se disolvieron en DMSO (concentración final máxima del 1 %) a 10 mg/ml, y para Anfotericina B a 1 mg/ml. Se distribuyeron promastigotes de *Leishmania spp.* y epimastigotes de *T. cruzi* en fase logarítmica de crecimiento en microplacas de 96 pozos de fondo plano (100 µl/pozo), a una concentración de  $3 \times 10^6$  parásitos/ml. Se agregaron las muestras a diferentes concentraciones (3.1-100 µg/ml) un volumen de 100µl. Para *Leishmania spp.* se usaron las drogas de referencia Anfotericina B (0.01-0.6 µg/ml) y Miltefosina (3.1-100 µg/ml), para *T. cruzi* Nifurtimox (0.7-25 µg/ml) y Benznidazol (3.1-100 µg/ml). Además se incorporaron controles de origen natural, Alcaloides Totales de Corteza (CAT) de *Galipea longiflora* (Evanta) y 2-fenilquinolina (2FQ) alcaloide mayoritario de la misma (3.1-100 µg/ml) (Campos-Buzzi, et al., 2010). Los ensayos se realizaron por triplicado. Las placas se incubaron durante 72 hr a 26°C. Después de la incubación, se añadió un volumen de 50 µl/pozo de una solución de XTT (1 mg/ml) en PBS (pH 7.0 a 37°C) con PMS (0.06 mg/ml) y se incubó durante 3 hr para *Leishmania spp.* y 4 hr para *T. cruzi* a 26°C (Williams, et al., 2003). La densidad óptica de cada pozo se obtuvo utilizando un lector de microplacas SYNERGY HT, a una longitud de

onda test de 450 nm y 650 nm como filtro de referencia. Los valores de concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>) se calcularon usando el programa GEN5 (Biotek) y se expresaron en µg/ml.

Los controles negativos (blanco) fueron medio de cultivo y como control de viabilidad se utilizaron los parásitos en ausencia de los productos, cultivados a las mismas condiciones.

#### **4.6. Actividad Citotóxica**

La actividad citotóxica de las muestras se determinó usando el método fluorométrico resazurina (Borra, Lotufo, Gagioti, Barros, & Andrade, 2009). Se sembraron células HeLa (5x10<sup>4</sup> células/ml) con aproximadamente 80 % de confluencia celular (100 µl/pocillo) en microplacas de 96 pozos, 24 hr antes de la adición de muestras y drogas control para permitir la adhesión celular. Las muestras se prepararon como se describió anteriormente, adicionándose un volumen de 100 µl a diferentes concentraciones (6.2-200 µg/ml). Se incluyó un blanco de medio de cultivo y controles de crecimiento y viabilidad celular, los ensayos se realizaron por triplicado. Las placas se incubaron durante 72 hr a 37°C con 5 % de CO<sub>2</sub>, luego se añadió 10 µl/pozo de resazurina (2 mM) y se incubaron en las mismas condiciones durante 3 hr. Terminado este tiempo de incubación las placas se leyeron en un lector de microplacas Synergy HT con filtro de excitación de 540 nm y 590 nm para la emisión. Los valores dosis letal media (DL<sub>50</sub>) se calcularon usando el programa GEN5 y se expresaron en µg/ml.

#### **4.7. Índice de Selectividad (IS)**

Los valores del Índice de Selectividad se calcularon como la relación entre la DL<sub>50</sub> celular y los valores de CI<sub>50</sub> para el parásito ( $IS = DL_{50} / CI_{50}$ ).

#### **4.8. Análisis Estadístico**

Los datos se expresan como la media ± DE (desviación estándar) de tres experimentos diferentes.

## **5. Capítulo 1: Bioprospección Tacana**

## 5.1. Antecedentes

### 5.1.1. Medicina natural y tradicional.

La medicina tradicional como parte de la cultura de un pueblo, “es el conjunto de todos los conocimientos teóricos y prácticos, explicables o no, utilizados para diagnóstico, prevención y tratamiento de diferentes trastornos, basados en la experiencia y la observación y transmitidos verbalmente o por escrito de una generación a otra, como una experiencia ancestral” (IIDH & OPS, 2006).

A través de los siglos, los productos de origen vegetal fueron la base para el tratamiento de diversas enfermedades y los estudios fitoquímicos de algunas especies condujeron al aislamiento de muchas drogas (Oliveira de Albuquerque, et al., 2017). Diferentes partes de las plantas se utilizan experimentalmente para la formación de extractos, habiéndose hallado diferentes componentes fitoquímicos como alcaloides, flavonoides, carbohidratos, diterpenos, saponinas, fenoles y taninos que podrían ser responsables de sus actividades (Tariq, et al., 2016). En las últimas tres décadas, el 69 % de las nuevas moléculas para el tratamiento de enfermedades infecciosas se han derivado o inspirado en productos naturales que han demostrado ser una fuente valiosa de materia química para programas antiinfecciosos (Nagle, et al., 2014).

En África, hasta el 80 % de la población utiliza la medicina tradicional como sistema de atención primaria. En América Latina, el 71 % de la población chilena y el 40% de la colombiana utilizan la medicina tradicional. En Japón, el 60-70 % de los médicos alopáticos prescriben medicamentos tradicionales para sus pacientes. En China, la medicina tradicional representa alrededor del 40 % de la asistencia sanitaria y se utiliza para tratar aproximadamente a 200 millones de pacientes por año. En Australia el 48 % de la población; el 70 % en Canadá; el 42 % en los EE.UU.; el 38 % en Bélgica; y el 75 % en Francia utilizan alguna forma de la medicina alternativa complementaria (CAM) principalmente homeopatía y acupuntura (Bussmann, 2013).

Los primeros viajeros al Amazonas se impresionaron por el número de plantas medicinales conocidas por los pueblos nativos. Este hecho fue corroborado a través de inventarios

etnobotánicos derivados de la metodología de la encuesta con las farmacopeas tribales, representando a menudo decenas de especies botánicas con un valor medicinal reputado (Herndon, et al., 2009). La Amazonía está constituida por diferentes ambientes, desde bosques nubosos de altitud hasta manglares, incluyendo bosques inundados de tierras bajas y sabanas. Abarca nueve países: Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana Francesa, Guyana, Perú, Surinam y Venezuela. Cuenta con numerosos grupos étnicos, más de 60 en Perú, alrededor de 30 en Bolivia y más de 200 en Brasil. Los habitantes amazónicos influyen notablemente en las etnofarmacopeas con una base común en remedios utilizados. La Amazonía tiene aproximadamente 16,000 especies arbóreas muy extendidas en toda la zona que representan más de la mitad de los individuos encontrados. Los fitorremedios tradicionales leishmanicidas son numerosos y de uso frecuente (Odonne, Houël, Bourdy, & Stien, 2017).

#### ***5.1.1.1. Los Tacana.***

En Bolivia habitan hasta 35 etnias de pueblos indígenas en las tierras bajas (Ver Figura 1), entre las que se encuentran los Tacana en el norte amazónico, pueblo de bosque, dispersos entre los departamentos de Pando, Beni y la mayoría en La Paz, provincia Abel Iturralde, en los municipios Ixiamas, Tumupasa y San Buenaventura. Estos comparten espacio con el Área Natural de Manejo Integrado Madidi y el Parque Nacional Madidi (Rivero, 2007; Sandoval Hurtado, MMAyA, & CIPTA, 2015). La familia lingüística Tacana integra a otros grupos amazónicos como los Reyesano, Cavineño Araona y Ese Ejja.

Según el Consejo Indígena de los Pueblos Tacana (CIPTA) y el Consejo Indígena de Mujeres Tacana (CIMTA), actualmente, la Tierra Comunitaria de Origen (TCO-1) Tacana incluye una población de 3,773 habitantes y engloba a 600 familias (54 % hombres y 46 % mujeres). Alrededor del 92 % de la población menor de 4 años aprendió a hablar español directamente y solo la población de más de 50 años aprendió a hablar en su lengua materna. Las dos principales organizaciones sociales son: el CIPTA, fundada en 1992 con los principales objetivos de defender, consolidar y tomar medidas para la conservación de los recursos naturales que se encuentran en su territorio; y el CIMTA, fundada en 1996 responsable de la supervisión de los asuntos culturales del pueblo Tacana (CIPTA & CIMPTA, 2014). Antes de comenzar nuestro



Se conocen alrededor de 3,000 especies de plantas medicinales identificadas y verificadas en los herbarios de Bolivia; sin embargo, aún falta por investigar muchas especies vegetales y aprender de los nativos, quienes son los poseedores de este conocimiento (Vidaurre de la Riva, 2006).

El conocimiento tradicional sobre las plantas medicinales contiene elementos esenciales como: sistemas empíricos de clasificación, reconocimiento de hábitats de cada especie y técnicas tradicionales de cosecha, almacenamiento, preparación y suministro de estas plantas a la población (Vidaurre de la Riva, 2006).

La medicina tradicional debería ser la base para el desarrollo de fármacos, ya que incluye el conocimiento del valor terapéutico de la flora local (Bussmann, 2013). Hay muy pocos estudios llevados a cabo sobre la purificación de compuestos de plantas y deberían ser foco de estudio en el futuro (Tariq, et al., 2016). Debido a la insuficiente eficacia de los fármacos utilizados para tratar la leishmaniasis, y sobre todo la enfermedad de Chagas, el descubrimiento de nuevas dianas de quimioterapia sigue siendo la principal alternativa contra estos patógenos (Vermelho, et al., 2017).

### **5.1.2. Enfermedad de Chagas.**

Las enfermedades transmitidas por vectores son aquellas enfermedades infecciosas propagadas por algunos organismos que transportan virus, parásitos y bacterias a humanos. Representan una alta carga de morbilidad y mortalidad para las personas y comunidades en los países más pobres. Bolivia ocupa el cuarto lugar en Latinoamérica en enfermedades transmitidas por vectores ordenadas por frecuencia y prevalencia según la OPS, con ocho de las once enfermedades entre las que se encuentra la leishmaniasis y la enfermedad de Chagas (OMS, 2017c; OPS & OMS, 2016).

La enfermedad de Chagas o trypanosomiasis americana es causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* perteneciente a la familia Trypanosomatidae, esta familia incluye a varias especies no solo del género *Trypanosoma* sino también del género *Leishmania*, entre

otros. Esta enfermedad tiene características principalmente crónicas, con una firme vinculación con aspectos sociales, económicos y culturales deficitarios, considerándose una enfermedad desatendida. *Trypanosoma cruzi* se mantiene en reservorios mamíferos y es transmitido por insectos hematófagos llamados triatomíneos (Subfamilia Triatominae) que pertenecen a la familia Reduviidae, cinco especies de triatomíneos tienen gran importancia epidemiológica dentro del ambiente doméstico, siendo el más importante el *Triatoma infestans*. (Bello Corassa, Aceijas, Brito Alves, & Garelick, 2016).

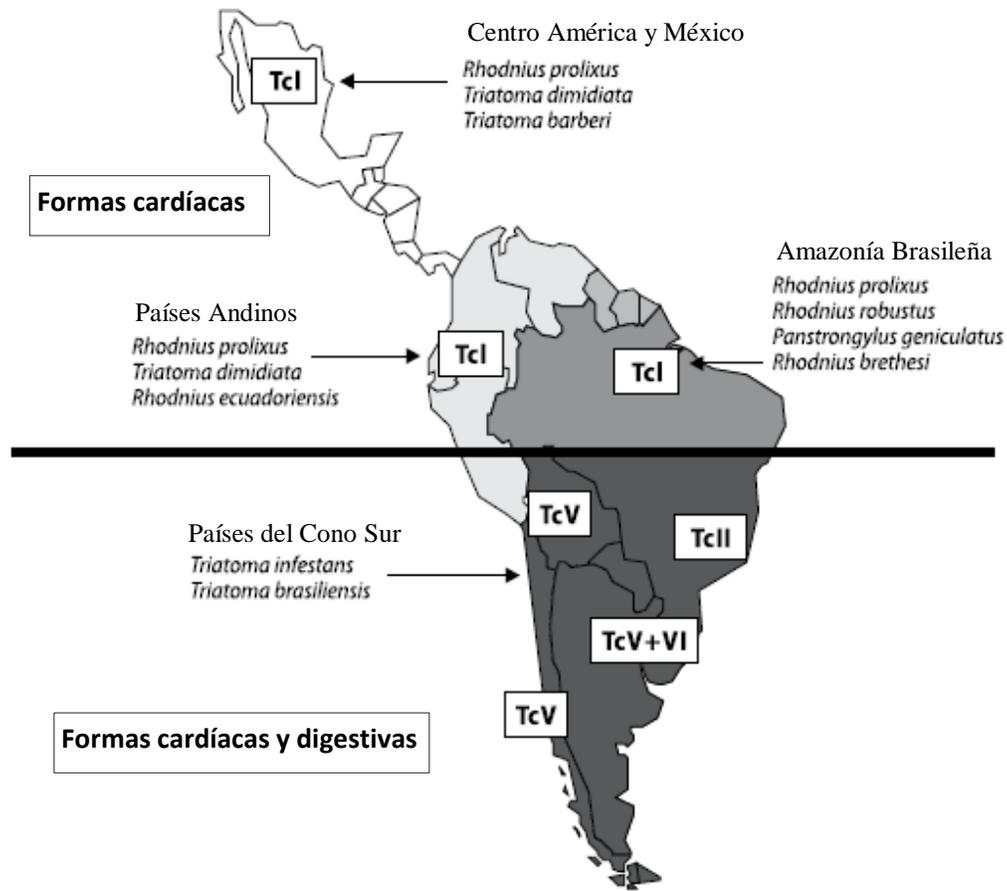
El principal mecanismo de transmisión es vectorial, sobre todo en América Latina. Existen más de 100 especies de triatomíneos que transmiten *T. cruzi* a los humanos; en Bolivia se los conoce como “vinchucas”. Como consecuencia de la política pública de control vectorial y el cribado de sangre, la incidencia y la carga de la enfermedad disminuyó con el tiempo, sin embargo, la enfermedad de Chagas sigue siendo la más frecuente en el continente americano (Justi & Galvão, 2017; Lardeux, Depickère, Aliaga, Chavez, & Zambrana, 2015; Rodriguez, Falcone, & Szajnman, 2016).

Otros modos de transmisión son congénita, oral (Filigheddu, Górgolas, & Ramos, 2017), iatrogénico (transfusión de sangre contaminada o trasplante de órganos) (Cucunubá, et al., 2017) y, menos frecuente, los accidentes de laboratorio.

Aunque la enfermedad fue descrita por primera vez en 1909 por Carlos Chagas, nuestra comprensión de sus patologías, de los factores relacionados con su progresión, la complejidad del ciclo de vida de los parásitos y las interacciones sistema inmune huésped/parásito/factores genéticos sigue siendo limitada (Chatelain, 2017).

#### ***5.1.2.1. Clasificación según unidades discretas de tipificación (DTUs).***

En 2009 se dividió los aislados de *T. cruzi* en seis subgrupos o DTUs (Tc I-VI). En la región del Cono Sur, TcII, TcV y TcVI son las principales causas de la enfermedad de Chagas. TcII predomina en el este y centro de Brasil, TcV en Argentina, Bolivia y Paraguay, y TcVI en el Gran Chaco (Ver Figura 2) (OMS, 2012a).



**Figura 2:** Distribución geográfica de las DTUs de *T. cruzi* en pacientes humanos (OMS, 2012a)

### 5.1.2.2. Epidemiología y distribución en el mundo.

La enfermedad de Chagas es un importante problema de salud pública en 21 países de América Latina, pero se está extendiendo a otras áreas como Europa, Norteamérica, Japón y Australia debido a la migración (Ver Figura 3). Alrededor de 8 millones de personas están infectadas en todo el mundo con *T. cruzi*, se estima que 10,000 personas mueren cada año por las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas y más de 25 millones están en riesgo de infección (OMS, 2010). La enfermedad de Chagas es la principal causa de muerte por enfermedad parasitaria en América Latina y un importante contribuyente a la carga global de enfermedades cardiovasculares, siendo la principal causa de cardiomiopatía infecciosa en el mundo con más de medio millón de años de vida ajustados a discapacidad (AVAD) (Chatelain, 2017).

No obstante, las medidas implementadas en los últimos años tuvieron un impacto importante en la prevalencia e incidencia en Latinoamérica. Entre 2006 y 2010 hubo una disminución del 32 % en nuevos casos y del 40 % en el número de personas en riesgo (Bello, et al., 2016).

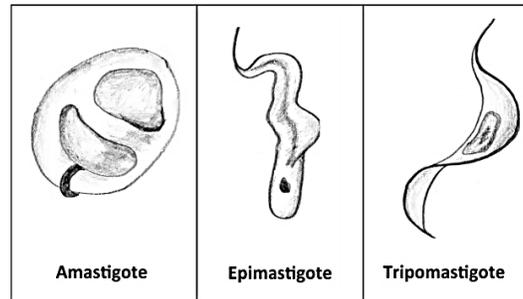


**Figura 3:** Distribución mundial de los casos de infección por *T. cruzi* 2016 (InfoChagas, 2017)

### 5.1.2.3. Morfología y ciclo de vida.

Dependiendo del hospedero en que se encuentre, *T. cruzi* adopta diferentes formas celulares: epimastigote, tripomastigote y amastigote (Ver Figura 4).

Epimastigote es la forma extracelular y replicativa presente en el intestino del vector. Tripomastigote es la forma extracelular, no replicativa e infectiva, se encuentra en la sangre de los mamíferos (tripomastigote sanguíneo) y en el intestino posterior de los vectores y en sus deyecciones (tripomastigote metacíclico). Amastigote es la forma intracelular replicativa que se encuentran en las células de mamífero (Toso, Vial, & Galanti, 2011).



**Figura 4:** Formas celulares de *T. cruzi* (Toso, et al., 2011)

El triatomino infectado al alimentarse de un huésped vertebrado ingiere sangre y libera tripomastigotes metacíclicos en sus heces cerca del sitio de la herida, Los tripomastigotes ingresan al huésped a través de la herida o mucosas intactas como la conjuntiva y son fagocitados. En la célula hospedera, el tripomastigote sale de la vesícula parasitófora al citoplasma, donde se diferencia en amastigote forma replicativa. Los amastigotes se multiplican por fisión binaria y se diferencian en tripomastigotes sanguíneos altamente móviles. Los tripomastigotes sanguíneos son liberados al torrente sanguíneo donde infectan a otras células de una variedad de tejidos y se transforman en amastigotes intracelulares en nuevos sitios de infección. Los tripomastigotes sanguíneos al ser ingeridos por triatominos se diferencian en el intestino anterior a epimastigotes replicativos que migran hacia el intestino posterior del insecto. Cuando alcanzan el recto se diferencian en tripomastigotes metacíclicos, los cuales son eliminados por las heces de la vinchuca, cerrando el ciclo de vida (Ver Figura 5) (de Souza, Ulisses de Carvalho, & Santos Barrias, 2010; Gil-Jaramillo, Motta, Favali, Bastos, & Santana, 2016).

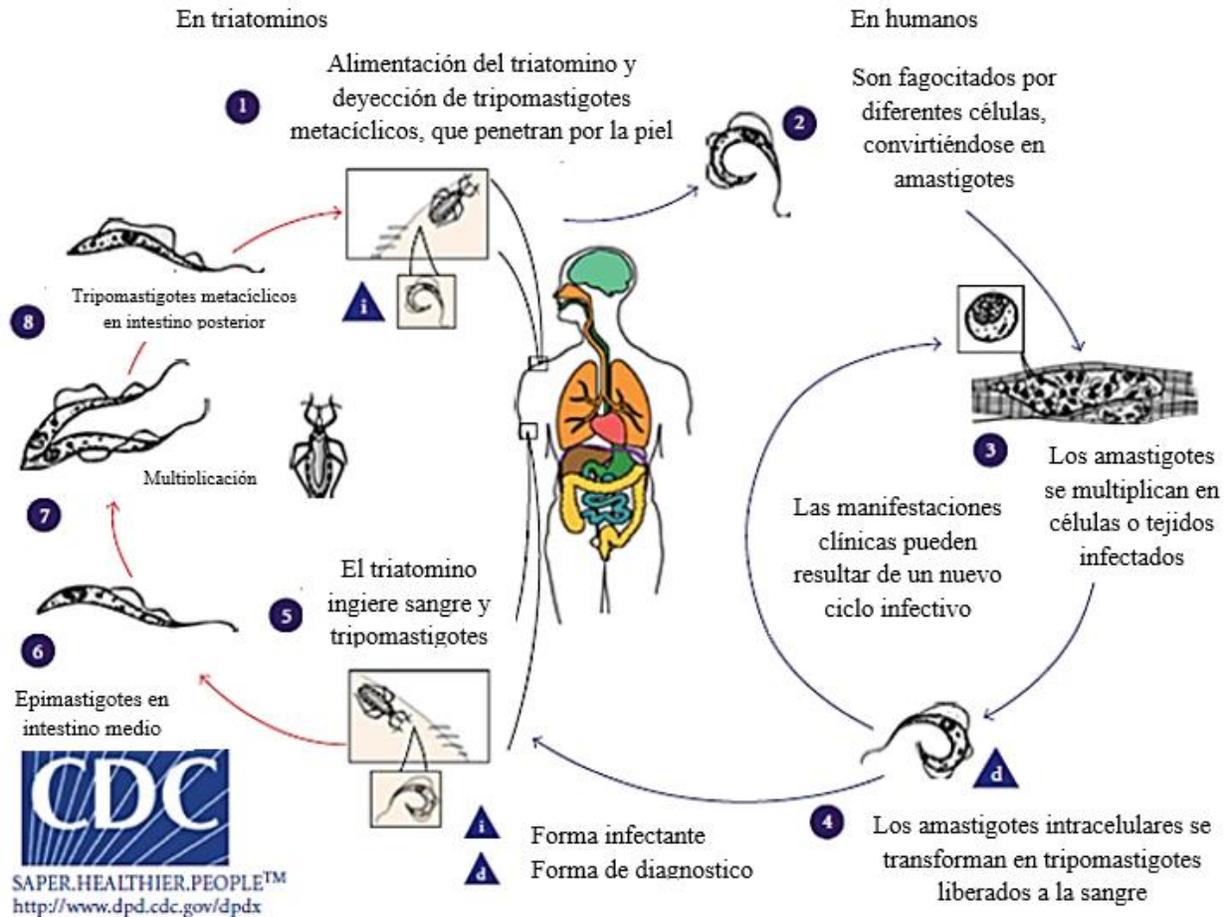


Figura 5: Ciclo de vida de *T. cruzi* (CDC, 2017)

*T. cruzi* es usado para evaluar drogas con potencial tripanocida. Los epimastigotes son fáciles de cultivar totalmente *in vitro*, aunque las evaluaciones en esta forma parasitaria son un primer tamizaje para ensayos con gran cantidad de plantas, no resolverán la enfermedad y los resultados no necesariamente serán reproducibles en amastigotes, por lo tanto, son resultados preliminares y de ninguna manera concluyentes. Los tripomastigotes al estar circulantes en la sangre requieren evaluaciones biológicas *ex vivo* utilizando animales de experimentación. Por su parte, los amastigotes son la forma más cercana a la enfermedad, pero las evaluaciones biológicas en amastigotes requieren de un proceso intracelular moroso y difícil para evaluar muchas plantas.

#### **5.1.2.4. Fases y manifestaciones clínicas.**

La enfermedad de Chagas tiene dos fases clínicas, fase aguda y fase crónica:

La fase aguda por lo general es asintomática. Con máxima carga parasitaria sanguínea y síntomas variables (chagoma de inoculación, en un 2 % signo de Romana, fiebre, dolor de cabeza, agrandamiento de ganglios linfáticos, dificultad para respirar, dolores musculares, palidez, náuseas, diarrea o vómitos), que disminuyen después de 4 a 8 semanas; el tratamiento adecuado puede eliminar al parásito durante esta fase (MSPS, FMC, & ILA, 2013; OMS, 2010; 2017e). El *T. cruzi* prolifera activamente en el individuo infectado e invade muchos tipos de células huésped, activando el sistema inmune con una reducción de la carga parasitaria y control de la infección. La variabilidad genética del huésped/parásito y las respuestas inmunes variables son factores que conducen al establecimiento de infecciones crónicas por *T. cruzi* (Dos-Santos, Carvalho-Kelly, Dick, & Meyer-Fernandes, 2016)

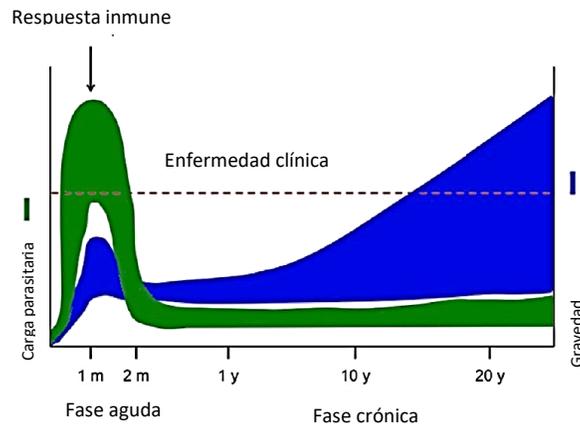
La fase crónica se puede dividir a su vez en dos etapas:

Asintomática, silente o indeterminada, en la que se encuentran aproximadamente el 70 % de los individuos seropositivos, puede durar décadas después de la infección. En esta etapa la infección es controlada, pero puede haber progresión de la enfermedad (Chatelain, 2017).

Sintomática, en la que alrededor del 30 % de los enfermos presentan manifestaciones cardíacas y hasta un 10 % padecen alteraciones digestivas (típicamente agrandamiento del esófago o colon), y los pacientes inmunodeprimidos presentan afecciones neurológicas o combinadas (Ver Figura 6) (MSPS, et al., 2013; OMS, 2010; 2017e).

La enfermedad de Chagas también puede reactivarse si los pacientes en fase crónica están inmunocomprometidos como en el caso de co-infección con el VIH.

La insuficiencia cardíaca progresiva (70 %) y la muerte súbita (30 %) siguen siendo las principales causas de muerte en estos pacientes (Chatelain, 2017).



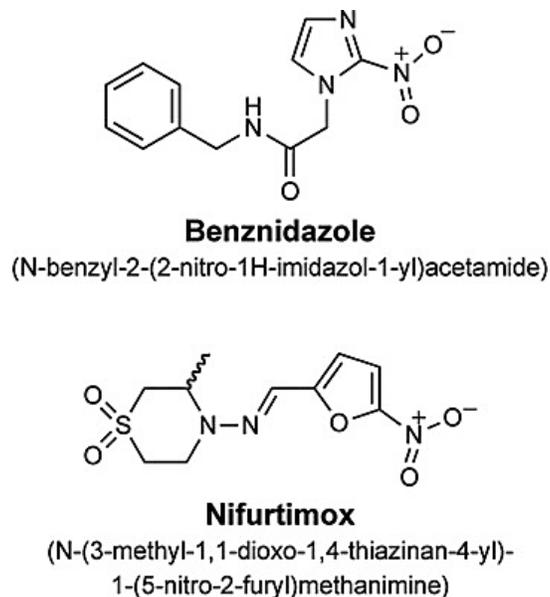
**Figura 6:** Evolución de la enfermedad de Chagas. M, mes; Y, año. (Chatelain, 2017)

#### 5.1.2.5. Diagnóstico.

Durante la fase aguda de la enfermedad, se puede detectar tripomastigotes de *T. cruzi* de forma directa mediante frotis de sangre fresca o gota gruesa, ensayos de microhematocrito o la prueba de Strout. En la fase crónica, el número de tripomastigotes circulantes disminuye hasta un umbral indetectable y el diagnóstico requiere como mínimo dos pruebas serológicas diferentes, lo que lo convierte logísticamente y financieramente en un desafío. En caso de discordancia, se deberá realizar una tercera prueba para confirmar o descartar la infección, como puede ser la técnica de Western blot. Estas discordancias pueden deberse a reacciones cruzadas con otros protozoos hemoflagelados, como *Leishmania* spp. o *Trypanosoma rangeli*. Las técnicas más empleadas en el diagnóstico serológico son la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), hemaglutinación indirecta (HAI) y pruebas de ELISA, siendo esta última la con más especificidad y sensibilidad. También están los métodos indirectos de detección que son específicos, pero con baja sensibilidad, entre ellos tenemos el xenodiagnóstico y el hemocultivo. Otra alternativa es el uso de métodos moleculares con la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Cucunubá, et al., 2017; Martínez, Cervantes-Landín, & Espinoza, 2013; Molina, Salvador, & Sánchez-Montalvá, 2016; Palmezano, Plazas, Rivera, & Rueda, 2015; Rodríguez, et al., 2016).

### 5.1.2.6. Tratamiento.

En la actualidad no existen vacunas para prevenir la infección de *T. cruzi*. La quimioterapia actual se basa en dos drogas nitro-heterocíclicas Nifurtimox (Bayer) y Benznidazol (Roche), introducidas en los años 60 y 70 respectivamente (Ver Figura 7).



**Figura 7:** Estructura química de Benznidazol y Nifurtimox (Boscardin, et al., 2010)

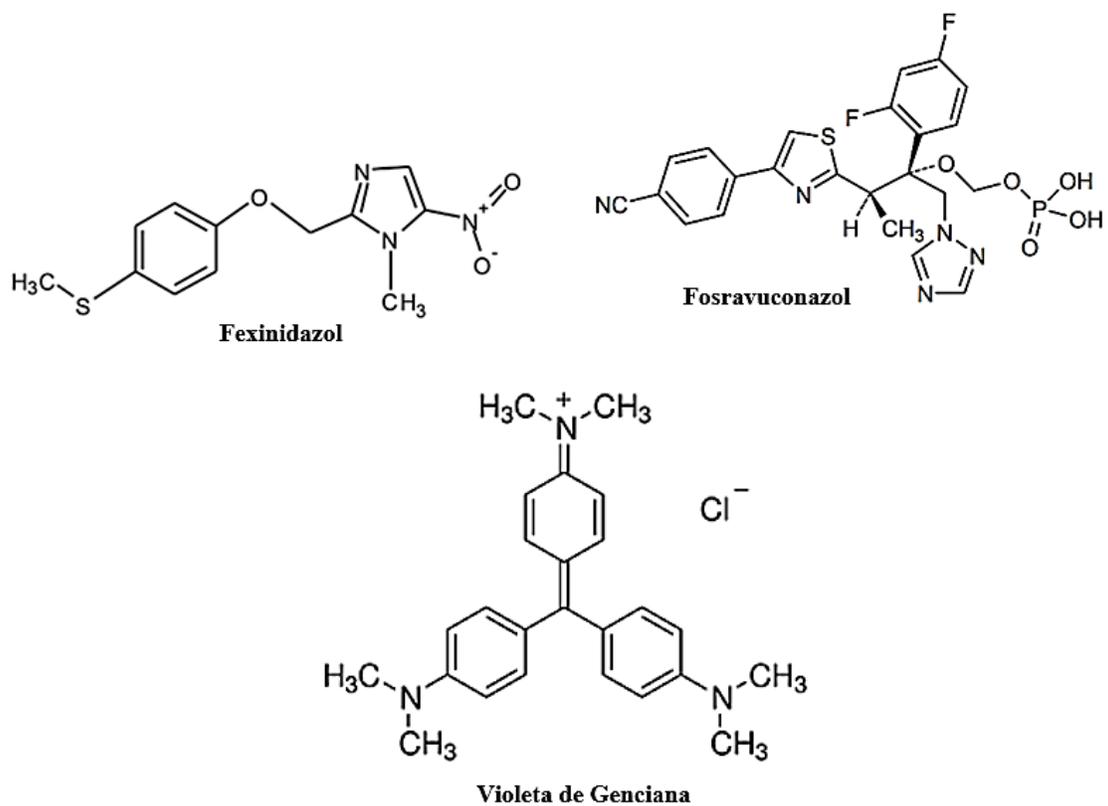
Ambas drogas eficaces en recién nacidos con alta tolerancia y buena exposición al fármaco. En la fase aguda tienen hasta un 80 % de curación, definida como seroconversión y parasitemia negativa. Sin embargo, su eficacia disminuye a medida que transcurre el tiempo desde el inicio de la infección, por lo tanto, tratamientos quirúrgicos, fisiopatológicos o sintomáticos se convierten en primordiales para las etapas avanzadas. Aunque todos los pacientes se benefician de mejores evoluciones clínico-patológicas, no deben administrarse a mujeres embarazadas, ni a personas con insuficiencia renal o hepática. Nifurtimox también está contraindicado en personas con antecedentes de enfermedades del sistema nervioso o trastornos psiquiátricos (OMS, 2017e).

Tanto Nifurtimox como Benznidazol, presentan tratamientos prolongados (60 días), escasa disponibilidad, resistencias y efectos secundarios como vómitos, anorexia, prurito, neuropatía periférica y dermatopatía alérgica, y no son fármacos aprobados por la FDA (Cucunubá, et al.,

2017). Otros fármacos para Chagas son el Fexinidazol y una combinación de Benznidazol-fosravuconazol los cuales se encuentran en estudios clínicos fase 2 (Ver Figura 8) (Field, et al., 2017; Molina, et al., 2016).

El colorante violeta de genciana es el único agente quimioproláctico disponible para prevenir la transmisión sanguínea de la enfermedad de Chagas, pero da color púrpura a la sangre, mancha la piel y demostró ser carcinogénico en modelos animales (Ver Figura 8) (Rodríguez, et al., 2016).

Hay poca financiación para la investigación y poco progreso en farmacoterapia, métodos de diagnóstico y desarrollo de vacunas (Bello Corassa, et al., 2016). Estos hechos ponen de relieve la necesidad urgente de mejorar el acceso a los tratamientos actualmente disponibles a corto plazo, pero también una clara necesidad de medicamentos eficaces y seguros para el futuro (Chatelain, 2017). El conocimiento creciente de la bioquímica y la fisiología de *T. cruzi* ha conducido a la búsqueda de nuevos y válidos objetivos para el diseño de fármacos. En general, las prioridades en la investigación de la enfermedad de Chagas deben ser: producir nuevos fármacos que ofrezcan un curso de tratamiento más corto con menos efectos secundarios y elaborar formulaciones pediátricas (OMS, 2012a).



**Figura 8:** Estructuras químicas de Fexinidazol, Fosravuconazol y Violeta de Genciana (Bahia, et al., 2012; OMS, 2013c; Rodriguez, et al., 2016)

## 5.2. Resultados y Discusiones

### 5.2.1. Material vegetal.

Se colectaron 109 especies vegetales que fueron el “universo de trabajo” alrededor de la comunidad de Buena Vista, departamento de La Paz - Bolivia, bajo la guía del Sr. Alsides Serato, Sr. Benigno Chao y el Sr. Natalio Marupa, se identificaron las plantas *in situ*, se documentaron los usos tradicionales Tacana, formas de preparación y tratamiento, obteniéndose la siguiente tabla:

**Tabla 2:** Clasificación de la especies por uso tradicional Tacana

Usos tradicional	N° de plantas
Afecciones de la piel	49
Dolor e inflamación	32
Para la fiebre	12
Problemas digestivos	25
Antiparasitarios	13
Problemas cardiacos	4
Afecciones de los ojos	9
Problemas renales	10
Problemas respiratorios	9
Otros usos	41

La mayoría de las 109 especies presentan dos o más usos distintos (Ver Anexo 1). No existen plantas de uso tradicional para la enfermedad de Chagas, esta no es reconocida por los Tacana debido a que suele ser asintomática; a diferencia de la leishmaniasis conocida por los Tacana como espundia, a la cual tratan con ciertas plantas específicas.

### 5.2.2. Evaluaciones biológicas.

Las evaluaciones biológicas se basaron en modelos *in vitro* utilizando parásitos de la familia Trypanosomatidae: *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania spp.*, debido a que ambos cohabitan y causan enfermedades endémicas en Bolivia.

Los resultados de este capítulo se dividieron en 3 fases: La primera fase corresponde a evaluaciones biológicas *in vitro* de 202 extractos crudos obtenidos por maceración etanólica de las 109 especies vegetales, los cuales fueron enfrentados contra epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) y promastigotes de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (Lma) y *L. (Viannia) braziliensis* (M2904) como primer tamizaje; lo que permitió diferenciar entre extractos activos e inactivos.

En la segunda fase, se realizaron evaluaciones biológicas *in vitro* de 15 especies seleccionadas como activas contra un número más amplio de parásitos: epimastigotes de *T. cruzi* y promastigotes de *Leishmania, L. (L.) amazonensis* (Lma), *L. (L.) aethiopica* (L.ae), dos cepas de *L. (V.) braziliensis* (M2904 y L.bG, cepa nativa) y *L. (V.) lainsoni* (L.lan, cepa nativa); para definir el espectro de acción de estas especies.

La tercera fase se centró en el estudio biodirigido de 13 especies seleccionadas, que fueron evaluadas en una primera instancia contra 3 cepas *T. cruzi*, Lma, y M2904; posteriormente las fracciones con mayor actividad y rendimiento pasaron a evaluaciones contra todos los parásitos y células HeLa como indicador de citotoxicidad y se calculó el Índice de Selectividad (IS); diferenciando entre antiparasitarios y citotóxicos.

#### ***5.2.2.1. Primera fase: selección de las especies activas.***

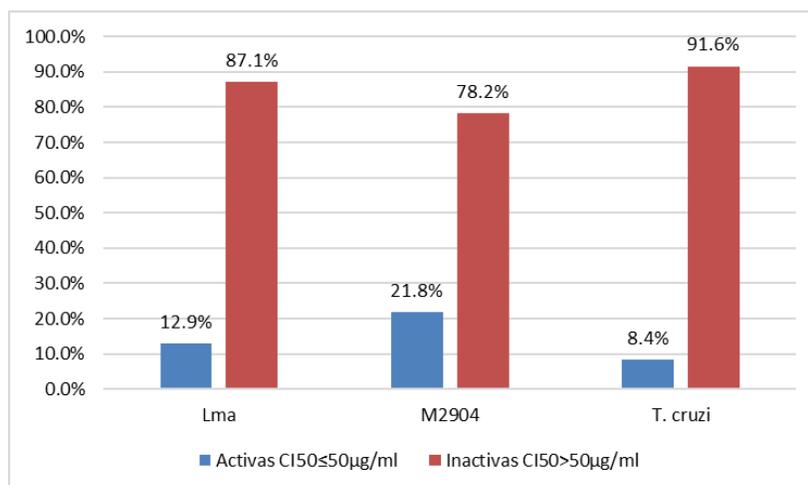
Los resultados para las drogas control obtenidos en este trabajo se presentan en la Tabla 3 y son comparables con los reportados por otros autores. Para *T. cruzi* se utilizó Nifurtimox (Luna, et al., 2009) y Benznidazol (Moreira, et al., 2013), y para *Leishmania spp.* Anfotericina B (Antinarelli, Pinto, Scio, & Coimbra, 2015) y Miltefosina (Sindermann, et al., 2004). Los resultados se expresaron como Concentración Inhibitoria media (CI<sub>50</sub>), concentración a la cual ocurre el 50 % de muerte parasitaria. En este modelo los Alcaloides Totales de Corteza (CAT) de *Galipea longiflora* (Evanta) y la 2-fenilquinolina (2FQ) alcaloide mayoritario de la misma, representan productos naturales considerados como activos, en base a los valores de CI<sub>50</sub> para estos controles naturales los resultados de los extractos evaluados se clasificaron en dos grupos: **Activos** con una CI<sub>50</sub> ≤ 50 µg/ml e **Inactivos** con una CI<sub>50</sub> > 50 µg/ml.

**Tabla 3:** Valores de CI<sub>50</sub> para drogas control

	<i>T. cruzi</i>	Lma	M2904
	CI <sub>50</sub> [µg/ml]		
Nifurtimox	1.8±0.2	ND	ND
Benznidazol	10.5±2.5	ND	ND
Anfotericina B	ND	0.2±0.06	0.15±0.03
Miltefosina	ND	10.0±2.4	6.7±1.8
CAT	19.3±3.1	20.1±2.5	18.6±2.2
2FQ	25.6±5.7	23.7±5.9	26.6±8.8
<b>ND = No Determinado</b>			

Se realizaron las evaluaciones biológicas *in vitro* de los 202 extractos crudos de diferentes órganos de las 109 especies vegetales frente a epimastigotes de *T. cruzi* y promastigotes de Lma y M2904 (Ver Anexo1).

En la Figura 9, se presentan los resultados obtenidos en esta fase de evaluación, donde se puede observar que un elevado porcentaje de los extractos crudos fueron inactivos, teniendo así 91.6 % de inactivos para *T. cruzi* (185/202 extractos) y entre 78.2-87.1 % para *Leishmania spp.* (158-176/202 extractos).



**Figura 9:** Resultados obtenidos de las evaluaciones biológicas *in vitro* de los 202 extractos crudos en la fase 1, frente a Lma, M2904 y *T. cruzi*, según la CI<sub>50</sub> expresados en porcentaje (%).

El porcentaje de activas para *T. cruzi* representa un máximo de 14 especies vegetales que corresponden a 17 extractos crudos (Ver Anexo 2), para Lma 22 especies vegetales (26 extractos crudos) (Ver Anexo 3), y para M2904 un total de 35 especies vegetales activas (44 extractos crudos) (Ver Anexo 4). Al igual que lo reportado por otros autores en este trabajo se observó un comportamiento heterogéneo tanto de las drogas control (Fabri, et al., 2012; Tempone, Martins de Oliveira, & Berlinck, 2011; de Morais-Teixeira, Souza, Kolos, Romanha, & Rabello, 2011), como de las especies vegetales (Braga, et al., 2007) frente a los tres parásitos; siendo M2904 la cepa más sensible lo cual fue corroborado también por Antinarelli, et al. (2015).

En total se obtuvo 36 especies vegetales con actividad frente a todos o alguno de los tres parásitos, y fueron divididas en 4 grupos: el Grupo 1, contiene 12 especies vegetales que fueron activas contra los tres parásitos; el Grupo 2, contiene 1 especie vegetal que fue activa contra dos parásitos (*T. cruzi* y M2904); el Grupo 3, contiene 9 especies vegetales que presentaron actividad contra las dos cepas de *Leishmania spp.*; y el Grupo 4, contiene 14 especies vegetales activas sólo contra un parásito en su mayoría M2904 (Ver Tabla 4).

**Tabla 4:** Actividad biológica *in vitro* de las especies vegetales activas

Nº	Nombre Tacana	Nombre Científico	Órg. Ev.	T. cruzi	Lma	M2904
				CI <sub>50</sub> µg/ml		
<b>Grupo 1: Especies vegetales activas contra los 3 parásitos</b>						
8	Aqui djawa	<i>Lantana cf. Trifolia</i>	H	22.1±2.3	17.9±0.5	23.2±1.8
15	Bacua etse	<i>Scoparia dulcis</i>	H, F	40.8±4.0	23.9±4.1	25.1±1.2
42	Djipicu	<i>Bocageopsis sp.</i>	H	28.3±0.4	37.9±6.2	19.1±2.3
46	Ejije bid'u	Pendiente	H	12.4±0.5	17.8±0.4	13.3±4.1
58	Id'ene eidhue	<i>Hyptis brevipes</i>	H	14.6±3.2	13.1±1.0	5.3±0.4
63	Japauro	<i>Thalia geniculata</i>	Ra	29.0±5.1	29.5±5.1	17.6±0.8
73	Mue sumo ina	<i>Eryngium foetidum</i>	H, T	33.1±9.0	11.7±0.01	37.6±4.6
81	Panu	<i>Salacia impressifolia</i>	Ra	35.5±11.9	21.6±1.6	9.3±0.2
84	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	H	34.2±9.9	37.3±1.4	29.4±2.5
86	R'i baba, ridha ridha	<i>Priva lappulacea</i>	H	16.0±1.4	15.4±3.0	13.9±3.0
98	Tapacha ina	<i>Hyptis mutabilis</i>	H	22.5±6.8	29.7±1.1	9.8±0.8
100	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>	F	38.5±2.4	17.6±1.8	43.5±0.3

**Continuación Tabla 4**

<b>Grupo 2: Especies vegetales activas contra 2 parásitos</b>						
12	Arana aquí	<i>Schefflera morototoni</i>	H	50.0±13.9	>50	43.7±16.2
<b>Grupo 3: Especies vegetales activas contra 2 cepas de <i>Leishmania</i></b>						
18	Bacua tidja	<i>Heliotropium indicum</i>	H, T	>50	28.6±6.7	21.1±1.7
34	Cheperequi	<i>Jacaranda glabra</i>	C	>50	29.8±3.6	17.4±2.7
37	Cuatro cantos	<i>Pluchea sagittalis</i>	P	>50	37.9±2.9	33.7±11.6
68	Kuabadhu	<i>Cedrela sp.</i>	C	>50	36.8±2.8	18.2±1.5
69	Kuatsui	<i>Erythrina sp.</i>	C	>50	28.6±3.8	30.5±7.9
75	Nahuarau	<i>Ocimum micranthum</i>	Ra	>50	28.8±8.7	12.5±1.5
79	Nuriri jaja	<i>Abuta grandifolia</i>	H	>50	38.3±4.2	31.1±13.1
93	Stite midja	<i>Ficus coerulescens</i>	R	>50	34.0±1.6	23.6±3.8
101	Toronjil	<i>Lippia alba</i>	Ra	>50	18.9±5.7	13.8±2.1
<b>Grupo 4: Especies vegetales activas contra 1 parásito</b>						
6	Aquí baba	<i>Himatanthus sucuuba</i>	H	>50	>50	26.2±16.3
14	Atarisi Huachidhi	<i>Adiantum cf. Latifolium</i>	H, R, Ra	>50	>50	25.0±2.2
21	Bechu ina	<i>Talinum paniculatum</i>	H	>50	>50	41.5±7.1
26	Buinaapaqui	<i>Guarea macrophylla</i>	C	>50	>50	38.4±1.7
28	Cawuara	<i>Tessaria integrifolia</i>	H	>50	>50	31.6±10.2
35	Chiwuama	<i>Phytolacca rivinoides</i>	H, E	>50	>50	41.2±0.1
37	Cuatro cantos	<i>Pluchea sagittalis</i>	H	40.8±5.4	>50	>50
48	Etid'equi	<i>Vitex cymosa</i>	R	>50	>50	39.0±30.6
54	Huacanqui	<i>Asemeia acuminata</i>	H	>50	>50	46.2±0.5
57	Huiru huiru	<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Ra	>50	28.2±3.0	>50
60	Ina Paque	<i>Senna hirsuta</i>	T	>50	>50	48.3±7.7
77	Naru naru id'ene	<i>Amaranthus spinosus</i>	Ra	>50	>50	31.7±12.6
92	Siringuero ina	<i>Vitex sp.</i>	H	>50	>50	14.8±2.4
97	Tanuri nuri	<i>Chamaesyce hirta</i>	T, R	>50	>50	38.9±4.1
107	Udhuriqui idhiria	<i>Tabebuia serratifolia</i>	T	>50	>50	45.6±38.8

Nota: C: Corteza; E: Espinas; F: Frutos; H: Hojas; Órg. Ev.: Órgano Evaluado; P: Polen; R: Ramas; Ra: Raíz; T: Tallo

Del total de 109 plantas se tuvo un máximo de 33 % de activas (36 especies). Sin embargo, si nos guiamos por la información etnobotánica y tomamos sólo las especies con uso tradicional

Tacana relacionado a la leishmaniasis, ya sean especies usadas como antiinflamatorias o algunas utilizadas para afecciones de la piel, tenemos hasta 44 especies con uso relacionado (Ver Anexo 5) de las cuales 18 presentan actividad para Lma, M2904 o ambas, representando el 40.9 %, además 8 de estas presentaron también actividad contra *T. cruzi* (18.2 %). Dentro de estas 44 especies si nos centramos en 4 que tienen uso específico para la leishmaniasis, 3 de ellas muestran alguna actividad biológica *in vitro* lo que representa el 75 % (Ver Tabla 5), Cawuara (*Tesaria integrifolia*) que pertenece al Grupo 4, Cheperequi (*Jacaranda glabra*) que pertenece al Grupo 3, y Tapacha ina (*Hyptis mutabilis*) que pertenece al Grupo 1, esta última también fue activa para *T. cruzi*. Esto indica que la información etnobotánica es importante para guiar el análisis hacia blancos certeros como alternativas de tratamiento, el uso tradicional es una buena herramienta para tener compuestos antiparasitarios.

**Tabla 5:** Especies vegetales utilizadas para la leishmaniasis por los Tacana

N°	Nombre Tacana	Nombre Científico	Uso Tacana	Órg. Ev.	Lma	M2904	T.cruzi
					CI <sub>50</sub> µg/ml		
28	Cawuara	<i>Tessaria integrifolia</i>	Picadura de raya y leishmaniasis.	H	>50	31.6 ±10.2	>50
34	Cheperequi	<i>Jacaranda glabra</i>	Antiparasitario, dolor de estómago, sarna, rasquiña, leishmaniasis y carachas.	C	29.8 ±3.6	17.4 ±2.7	>50
45	Ebus'a ina	<i>Porophyllum ruderale</i>	Hongos, granos de la cara y leishmaniasis (ulceras).	R	>50	>50	>50
98	Tapacha ina	<i>Hyptis mutabilis</i>	Infección urinaria, próstata, caracha, leishmaniasis, vómitos, diarrea y arrebato.	H	29.7 ±1.1	9.8 ±0.8	22.5 ±6.8

### 5.2.2.2. Segunda fase: espectro de acción de especies seleccionadas.

A diferencia de la enfermedad de Chagas que es causada por *T. cruzi*, existen diversos parásitos de *Leishmania spp.* que son patógenos para los humanos, por lo que en esta fase las especies activas seleccionadas fueron evaluadas frente a epimastigotes de *T. cruzi* y cinco cepas de promastigotes de *Leishmania* (Lma, L.ae, M2904, L.bG y L.lan) para ver el espectro de acción.

Un total de 15 especies activas fueron elegidas, dando prioridad a las especies del Grupo 1, de las cuales pasaron a esta fase 11/12 especies vegetales, de R'i baba (*Priva lappulacea*) se contaba con poco material vegetal por lo que no entró a esta fase. De Arana aquí (*Schefflera morototoni*) del Grupo 2 tampoco hubo material suficiente para continuar los estudios en esta fase. Del Grupo 3, se eligieron 3 especies vegetales con uso tradicional Tacana relacionado a la leishmaniasis. Se incluyó también a Cawuara (*Tessaria integrifolia*) del Grupo 4 por presentar uso tradicional específico como leishmanicida (Ver Tabla 6).

Debido al comportamiento heterogéneo entre cepas mencionado antes, se utilizó como una herramienta para facilitar el análisis en este estudio el promedio de los valores de CI<sub>50</sub> de todos los parásitos la cuál denominamos Media Anti-Parasitaria (MAP), esto para las especies vegetales del Grupo 1. Para las especies vegetales del Grupo 3 y 4 se calculó una Media Leishmanicida (ML), valor promedio de las CI<sub>50</sub> entre las cepas de *Leishmania spp.* (Ver Tabla 6).

**Tabla 6:** Actividad biológica de especies seleccionadas frente a todos los parásitos

N°	Nombre Tacana	Nombre Científico	Órg. Ev.	<i>T. cruzi</i>	Lma	L. ae	M2904	L. bG	L. lan	MAP/ ML
8	Aquí djawa	<i>Lantana cf. trifolia</i>	H	22.1 ±2.3	17.9 ±0.5	17.5 ±0.8	23.2 ±1.8	20.2 ±0.4	18.9 ±0.1	20.0
15	Bacua etse	<i>Scoparia dulcis</i>	H, F	40.8 ±4.0	23.9 ±4.1	19.1 ±0.4	25.1 ±1.2	13.8 ±3.3	27.9 ±8.4	25.1
28	Cawuara	<i>Tessaria integrifolia</i>	H	>50	>50	48.0 ±3.4	31.6 ±14.8	39.0 ±0.5	34.8 ±0.7	>40.7
34	Cheperequi	<i>Jacaranda glabra</i>	C	>50	29.8 ±3.6	45.4 ±4.6	17.4 ±2.7	22.4 ±0.4	27.5 ±16.0	28.5
42	Djipicu	<i>Bocageopsis sp.</i>	H	28.3 ±0.4	37.9 ±6.2	31.4 ±2.8	19.1 ±2.3	21.9 ±0.1	16.6 ±7.2	25.9
46	Ejije bid'u	Pendiente	H	12.4 ±0.5	17.8 ±0.4	18.5 ±0.8	13.3 ±4.1	19.5 ±1.7	11.4 ±2.0	15.5
58	Id'ene eidhue	<i>Hyptis brevipes</i>	H	14.6 ±3.2	13.1 ±1.0	12.3 ±1.5	5.3 ±0.4	10.9 ±0.1	15.2 ±7.3	11.9
63	Japauro	<i>Thalia geniculata</i>	Ra	29.0 ±5.1	29.5 ±5.1	20.9 ±1.6	17.6 ±0.8	24.7 ±1.4	26.6 ±0.1	24.7
68	Kuabadhu	<i>Cedrela sp.</i>	C	>50	36.8 ±2.8	>50	18.2 ±1.5	22.7 ±1.2	>50	>35.5
73	Mue sumo ina	<i>Eryngium foetidum</i>	H, T	33.1 ±9.0	11.7 ±0.01	39.5 ±1.1	37.6 ±4.6	21.3 ±0.2	22.2 ±4.0	27.6
79	Nuriri jaja	<i>Abuta grandifolia</i>	H	>50	38.3 ±4.2	21.9 ±0.4	31.1 ±13.1	21.4 ±0.2	19.5 ±1.0	26.4

Continuación Tabla 6										
81	Panu	<i>Salacia impressifolia</i>	Ra	35.5 ±11.9	21.6 ±1.6	>50	9.3 ±0.2	46.3 ±0.8	>50	>35.5
84	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	H	34.2 ±9.9	37.3 ±1.4	39.4 ±0.5	29.4 ±2.5	40.6 ±1.5	26.0 ±3.8	34.5
98	Tapacha ina	<i>Hyptis mutabilis</i>	H	22.5 ±6.8	29.7 ±1.1	15.4 ±2.3	9.8 ±0.8	21.7 ±0.9	27.4 ±7.1	21.1
100	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>	F	38.5 ±2.4	17.6 ±1.8	41.8 ±1.2	43.5 ±0.3	41.4 ±2.1	30.4 ±0.1	35.5
	Nifurtimox			1.8 ±0.2	ND	ND	ND	ND	ND	
	Benznidazol			10.5 ±2.5	ND	ND	ND	ND	ND	
	CAT			19.3 ±3.1	20.1 ±2.5	17.3 ±1.0	18.6 ±2.2	18.0 ±2.1	17.3 ±0.9	18.4
	2FQ			25.6 ±5.7	23.7 ±5.9	25.4 ±10.7	26.6 ±8.8	21.9 ±10.1	25.4 ±7.7	24.8
	Miltefosina			ND	10.0 ±2.4	2.5 ±0.1	6.7 ±1.8	11.3 ±1.7	4.0 ±0.6	
	Anfotericina B			ND	0.2 ±0.1	0.1 ±0.1	0.15 ±0.03	0.06 ±0.01	0.1 ±0.06	

**ND = No determinado**

El MAP calculado para los controles naturales dio un valor de 18.4 para CAT y 24.8 para la 2FQ, razón por la que se clasificó a su vez las especies activas en 2 categorías: **Muy activas** con una MAP/ML $\leq$ 25  $\mu$ g/ml y **Moderadamente activas** con una 25<MAP/ML $\leq$ 50  $\mu$ g/ml

La mayoría de las 15 especies vegetales mostraron una actividad de amplio espectro de acción, con excepción de Kuabadhu (*Cedrela sp.*) y Panu (*Salacia impressifolia*) que fueron inactivas para L.ae y L.lan. Además, 5 especies fueron muy activas Aquí djawa (*Lantana cf. trifolia*), Ejije bid'u (Familia: Euphorbiaceae), Id'ene eidhue (*Hyptis brevipes*), Japauro (*Thalia geniculata*) y Tapacha ina (*H. mutabilis*); y 10 moderadamente activas Bacua etse (*Scoparia dulcis*), Cawuara (*T. integrifolia*), Cheperequi (*J. glabra*), Djipicu (*Bocageopsis sp.*), Kuabadhu (*Cedrela sp.*), Mue sumo id'ene (*Eryngium foetidum*), Nuriri jaja (*Abuta grandifolia*), Panu (*Salacia impressifolia*), Quid'i juno (*Iresine diffusa*), y Teini tumati (*Physalis angulata*).

### **5.2.2.3. Tercera fase: química biodirigida.**

En esta fase 13 especies se sometieron a cromatografía en columna en gel de sílice, eluida con una mezcla de disolventes de polaridad creciente desde hexano hasta acetato de etilo con metanol (10 %). En esta parte del trabajo se evaluaron la mayoría de las fracciones principalmente frente a las cepas *T. cruzi*, Lma y M2904 para seleccionar las más activas (Ver Anexo 6). La F1 dio siempre el menor rendimiento y fue insuficiente para las evaluaciones biológicas. La F2 de 6 extractos también fue insuficiente para las evaluaciones. Por su parte, las fracciones F3 y F4 proporcionaron los rendimientos más altos. En general la fracción más activa fue la F3, esta fue eluida de la columna principalmente con acetato de etilo, a excepción de Hojas y frutos de Bacua etse (*S. dulcis*) y las hojas de Ejije bid'u, para las cuales la fracción F4 presentó una leve mejor  $CI_{50}$  que F3 (Ver Anexo 6). La F3 al ser la con mayor rendimiento y actividad paso a evaluaciones de amplio espectro y pruebas de citotoxicidad contra células HeLa (células de cáncer cérvico-uterino), y fue comparada con el extracto crudo al cual también se le realizó pruebas de citotoxicidad, con el propósito de calcular el Índice de Selectividad (IS) y distinguir entre un antiparasitario y un citotóxico. A esta fase entraron sólo los extractos crudos de Id'ene eidhue (*H. brevipes*) y Tapacha ina (*H. mutabilis*) debido a que son foco de otro estudio específico.

Diferentes autores han expresado diversos criterios para definir la actividad antiparasitaria selectiva, por ejemplo, para productos naturales de acuerdo con Tempone, et al. (2011) el Índice de Selectividad (IS) debe ser  $>1$ , mientras que para Joshi, et al. (2016) debe ser  $IS > 3$ . Por otro lado, los investigadores que trabajan con derivados sintéticos sugieren  $IS > 6$  como buenos criterios (Leal, et al., 2013). El control de citotoxicidad para las células HeLa en este estudio fue la Miltefosina, compuesto puro anticancerígeno que causa apoptosis a nivel del DNA (Griewank, Gazeau, Eichhorn, & von Stebut, 2010), con una Dosis Letal media ( $DL_{50}$ ) de  $18.1 \pm 7.0$   $\mu\text{g/ml}$  y un IS para L.bG la cepa más sensible de 1.6; la Miltefosina fue probada en Bolivia como leishmanicida de uso oral con buenos resultados sin causar efectos adversos importantes (Soto, et al., 2008). Por su parte, nuestro control natural CAT muestra  $IS > 2$ , y lo consideramos como un buen indicador de actividad antiparasitaria selectiva para extractos crudos (Ver Tabla 7).

**Tabla 7:** Valores de CI<sub>50</sub> e IS del extracto crudo y la F3 de especies en estudio en la tercera fase. CI<sub>50</sub> [µg/ml]

N°	Nombre Tacana	Nombre Científico	Órg. Ev.	<i>T. cruzi</i>		Lma		L. ae		M2904		L. bG		L. lan		HeLa	
				CI <sub>50</sub>	IS	CI <sub>50</sub>	IS	CI <sub>50</sub>	IS	DL <sub>50</sub>							
<b>Extractos crudos</b>																	
58	Id'ene eidhue	<i>Hyptis brevipes</i>	H	Cr	14.6 ±3.2	1.2	13.1 ±1.0	1.3	12.3 ±1.5	1.4	5.3 ±0.4	3.3	10.9 ±0.1	1.6	15.2 ±7.3	1.1	17.3 ±2.3
98	Tapacharina	<i>Hyptis mutabilis</i>	H	Cr	22.5 ±6.8	2.9	29.7 ±1.1	2.2	15.4 ±2.3	4.2	9.8 ±0.8	6.6	21.7 ±0.9	3.0	27.4 ±7.1	2.4	64.5 ±7.4
<b>Extractos crudos fraccionados</b>																	
8	Aquí djawa	<i>Lantana cf. trifolia</i>	H	Cr	22.1 ±2.3	4.0	17.9 ±0.5	4.9	17.5 ±0.8	5.0	23.2 ±1.8	3.8	20.2 ±0.4	4.3	18.9 ±0.1	4.6	87.5 ±6.5
				F3	20.8 ±2.6	1.0	>50		13.5 ±4.6	1.5	24.6 ±1.8	0.8	4.3 ±2.0	4.7	8.4 ±2.2	2.4	20.4 ±2.0
15	Bacua etse	<i>Scoparia dulcis</i>	H, F	Cr	40.8 ±4.0	1.8	23.9 ±4.1	3.0	19.1 ±0.4	3.8	25.1 ±1.2	2.9	13.8 ±3.3	5.3	27.9 ±8.4	2.6	72.7 ±22.4
				F3	20.5 ±0.3	2.2	20.4 ±4.0	2.2	15.8 ±2.8	2.9	25.4 ±4.5	1.8	8.2 ±2.0	5.5	19.0 ±0.7	2.4	45.2 ±1.0
28	Cawuara	<i>Tessaria integrifolia</i>	H	Cr	>50		>50		48.0 ±3.4	2.5	31.6 ±14.8	3.8	39.0 ±0.5	3.1	34.8 ±0.7	3.4	119.3 ±24.9
				F3	25.2 ±0.8	2.7	22.5 ±1.4	3.0	23.4 ±0.9	2.9	9.7 ±1.3	7.0	19.7 ±0.1	3.5	24.1 ±5.0	2.8	68.0 ±5.1
34	Cheperequi	<i>Jacaranda glabra</i>	C	Cr	>50		29.8 ±3.6	6.4	45.4 ±4.6	4.2	17.4 ±2.7	11.	22.4 ±0.4	8.6	27.5 ±16.0	7.0	192.0 ±8.0
				F3	>50		22.1 ±3.0	1.5	12.5 ±0.9	2.6	5.6 ±0.6	5.8	6.2 ±0.2	5.2	6.9 ±2.3	4.7	32.1 ±7.1
42	Djipicu	<i>Bocageopsis sp.</i>	H	Cr	28.3 ±0.4	0.9	37.9 ±6.2	0.7	31.4 ±2.8	0.8	19.1 ±2.3	1.4	21.9 ±0.1	1.2	16.6 ±7.2	1.6	26.1 ±4.0
				F3	19.9 ±0.8	1.0	18.8 ±2.5	1.1	16.9 ±1.7	1.2	9.4 ±1.2	2.1	10.8 ±0.2	1.8	7.3 ±2.9	2.7	19.8 ±0.5
46	Ejije bid'u	Pendiente	H	Cr	12.4 ±0.5	10.7	17.8 ±0.4	7.5	18.5 ±0.8	7.2	13.3 ±4.1	10.	19.5 ±1.7	6.8	11.4 ±2.0	11.	132.7 ±30.7
				F3	8.7 ±0.5	17.5	12.5 ±4.6	12.2	16.7 ±3.1	9.1	10.2 ±2.8	14.	11.2 ±1.2	13.7	11.2 ±0.2	13.	152.3 ±48.4

Continuación Tabla 7																		
63	Japauro	<i>Thalia geniculata</i>	R a	Cr	29.0 ±5.1	1.9	29.5 ±5.1	1.8	20.9 ±1.6	2.6	17.6 ±0.8	3.1	24.7 ±1.4	2.2	26.6 ±0.1	2.0	54.0 ±2.0	
				F3	13.0 ±1.0	3.0	12.7 ±1.7	3.1	10.5 ±1.4	3.8	10.1 ±0.3	3.9	14.6 ±3.3	2.7	11.9 ±1.0	3.3	39.5 ±6.5	
68	Kuabadhu	<i>Cedrela sp.</i>	C	Cr	>50		36.8 ±2.8	1.8	>50		18.2 ±1.5	3.7	22.7 ±1.2	2.9	>50		66.5 ±7.5	
				F3	8.6 ±2.7	1.1	8.3 ±0.2	1.2	7.7 ±0.9	1.3	5.2 ±0.8	1.9	6.2 ±0.2	1.6	7.2 ±1.0	1.4	9.8 ±2.6	
73	Mue sumo ina	<i>Eryngium foetidum</i>	H, T	Cr	33.1 ±9.0	1.7	11.7 ±0.01	4.7	39.5 ±1.1	1.4	37.6 ±4.6	1.5	21.3 ±0.2	2.6	22.2 ±4.0	2.5	55.2 ±4.2	
				F3	21.9 ±7.1	1.7	36.3 ±3.1	1.1	19.8 ±0.6	1.9	23.7 ±3.4	1.6	10.7 ±0.2	3.6	14.8 ±3.3	2.6	38.3 ±1.9	
79	Nuriri jaja	<i>Abuta grandifolia</i>	H	Cr	>50		38.3 ±4.2	0.4	21.9 ±0.4	0.8	31.1 ±13.1	0.5	21.4 ±0.2	0.8	19.5 ±1.0	0.9	16.7 ±2.7	
				F3	27.0 ±20.6	0.4	14.9 ±3.4	0.8	7.9 ±0.1	1.5	10.9 ±0.9	1.1	6.3 ±0.05	1.9	5.6 ±0.7	2.1	11.9 ±1.6	
81	Panu	<i>Salacia impressifolia</i>	R a	Cr	35.5 ±11.9	1.1	21.6 ±1.6	1.8	>50		9.3 ±0.2	4.3	46.3 ±0.8	0.9	>50		39.7 ±4.7	
				F3	3.7 ±0.9	5.2	4.8 ±1.1	4.0	4.7 ±1.6	4.1	3.4 ±0.9	5.7	4.4 ±1.8	4.4	5.4 ±0.9	3.6	19.2 ±1.8	
84	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	H	Cr	34.2 ±9.9	1.5	37.3 ±1.4	1.4	39.4 ±0.5	1.3	29.4 ±2.5	1.7	40.6 ±1.5	1.3	26.0 ±3.8	2.0	50.7 ±15.4	
				F3	5.0 ±0.7	6.7	17.9 ±0.7	1.9	16.9 ±0.9	2.0	12.8 ±2.1	2.6	14.7 ±0.9	2.3	15.6 ±0.3	2.2	33.7 ±3.6	
100	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>	F	Cr	38.5 ±2.4	0.5	17.6 ±1.8	1.1	41.8 ±1.2	0.5	43.5 ±0.3	0.4	41.4 ±2.1	0.5	30.4 ±0.1	0.6	19.5 ±2.0	
				H	Cr	>50		>50		>50		41.3 ±0.4	3.7	>50		>50		154.5 ±37.5
					F3	12.8 ±0.6	3.4	16.9 ±1.0	2.5	15.2 ±0.9	2.8	9.3 ±1.5	4.6	13.5 ±2.7	3.2	10.5 ±5.6	4.1	43.0 ±14.9
		Nifurtimox		1.8 ±0.2	13.4	ND		ND		ND		ND		ND		24.1 ±9.2		
		Benznidazol		10.5 ±2.5	>9. 5	ND		ND		ND		ND		ND		>100		

**Continuación Tabla 7**

CAT	19.3 ±3.1	2.1	20.1 ±2.5	2.0	17.3 ±1.0	2.3	18.6 ±2.2	2.2	18.0 ±2.1	2.2	17.3 ±0.9	2.3	40.0 ±25.7
2-Fenil quinolina	25.6 ±5.7	3.3	23.7 ±5.9	3.5	25.4 ±10.7	3.3	26.6 ±8.8	3.1	21.9 ±10.1	3.8	25.4 ±7.7	3.3	83.7 ±20.1
Miltefosina	ND		10.0 ±2.4	1.8	2.5 ±0.1	7.2	6.7 ±1.8	2.7	11.3 ±1.7	1.6	4.0 ±0.6	4.5	18.1 ±7.0
Anfotericina B	ND		0.2 ±0.1	176. 3	0.1 ±0.1	353 .0	0.15 ±0.03	235 .3	0.06 ±0.01	588.3	0.1 ±0.06	35 3.0	35.3 ±18.7

**ND = No determinado; CI<sub>50</sub> [µg/ml]**

Nota: Cr: Extracto crudo; F3: Fracción 3

Bajo los criterios antes mencionados, analizando los extractos crudos se obtuvieron 8 antiparasitarios selectivos con uso Tacana relacionado a la leishmaniasis: Aquí djawa (*L. cf. trifolia*), Bacua etse (*S. dulcis*) que presentó toxicidad para *T. cruzi*, Cawuara (*T. integrifolia*) que fue inactivo para Lma y *T. cruzi*, Cheperequi (*J. glabra*), Ejije bid'u, Japauro (*T. geniculata*) con toxicidad para *T. cruzi* y Lma, Mue sumo ina (*E. foetidum*) con toxicidad para tres parásitos *T. cruzi*, L.ae y M2904, y Tapacha ina (*H. mutabilis*). El extracto de corteza de Cheperequi (*J. glabra*) junto con el extracto de hojas de Ejije bid'u mostraron los mejores valores de IS, seguidos por Aquí djawa (*L. cf. trifolia*) (Ver Tabla 8).

De igual forma, en base a los extractos crudos se obtuvieron 7 citotóxicos: Djipicu (*Bocageopsis sp.*), Id'ene eidhue (*H. brevipes*) que no presenta uso relacionado a la leishmaniasis, Kuabadhu (*Cedrela sp.*), Nuriri jaja (*A. grandifolia*), Panu (*S. impressifolia*), Quid'i juno (*I. diffusa*), y Teini tumati (*P. angulata*) (Ver Tabla 8).

**Tabla 8:** Especies antiparasitarias y citotóxicas, según el IS del extracto crudo

Antiparasitarios			Citotóxicos		
Nombre Tacana	Nombre Científico	Uso Tacana	Nombre Tacana	Nombre Científico	Uso Tacana
Aquí djawa	<i>Lantana cf. trifolia</i>	Afecciones de la piel, dolor e inflamación.	Djipicu	<i>Bocageopsis sp.</i>	Afecciones de la piel.
Bacua etse	<i>Scoparia dulcis</i>	Dolor e inflamación, otros.	Id'ene eidhue	<i>Hyptis brevipes</i>	Antiparasitario.
Cawuara	<i>Tessaria integrifolia</i>	Leishmaniasis	Kuabadhu	<i>Cedrela sp.</i>	Antiparasitario, afecciones de la piel, otros
Cheperequi	<i>Jacaranda glabra</i>	Antiparasitario, problemas digestivos, leishmaniasis.	Nuriri jaja	<i>Abuta grandifolia</i>	Problemas digestivos, afecciones de la piel.
Ejije bid'u	Pendiente	Dolor e inflamación, afecciones de la piel.	Panu	<i>Salacia impressifolia</i>	Dolor e inflamación, Problemas respiratorios, otros.
Japauro	<i>Thalia geniculata</i>	Problemas digestivos,	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	Afecciones de la piel.

		afecciones de la piel, otros.			
Mue suma ina	<i>Eryngium foetidum</i>	Problemas cardíacos, afecciones de la piel	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>	Fiebre, afecciones de la piel, otros.
Tapacha ina	<i>Hyptis mutabilis</i>	Problemas renales, digestivos, leishmaniasis, fiebre, otros.			

De Teini tumati (*P. angulata*) no se pudo continuar el estudio con los frutos que fueron activos, debido a dificultades de colecta puesto que estos no están disponibles todo el año, el órgano que paso a esta fase fue las hojas que presentó un extracto crudo inactivo.

A continuación, en la Tabla 8 se listan las especies antiparasitarias y citotóxicas:

Después del fraccionamiento la F3 de Ejije bid'u mejoró el IS con un factor de 1.6 veces para *T. cruzi* y un factor de 2.0 veces para L.bG, con valores de CI<sub>50</sub> alrededor de 10 µg/ml, convirtiéndose en el extracto y fracción antiparasitarios más prometedores (Ver Tabla 9).

Además 5 especies dieron valores de CI<sub>50</sub> alrededor de 10 µg/ml cuando se fraccionaron, Djipicu (*Bocageopsis sp.*) mejoro sus valores de CI<sub>50</sub> para *T. cruzi* con un factor de 1.4 veces, pero mantuvo sus valores bajos de IS; para L.lan hubo una mejora tanto en la CI<sub>50</sub> con un factor de 2.3 veces, como en el IS que dio un valor de 1.6 para el extracto crudo y de 2.7 para la F3. La F3 de Nuriri jaja (*A. grandifolia*) mejoro su CI<sub>50</sub> en un factor de 1.9 veces para *T. cruzi*, inicialmente tenía un extracto crudo inactivo, pese a esta mejora dio un IS = 0.4; por su parte mejoro para L.lan en un factor de 3.5 al igual que sus valores de IS de 0.9 para el crudo a 2.1 para la F3. Ambas especies presentaron extractos crudos citotóxicos que al ser purificados mantuvieron la citotoxicidad, por lo tanto, la mejora depende de la sensibilidad de cada cepa. Panu (*S. impressifolia*) fue la especie vegetal con la más grande mejora después del fraccionamiento con valores de CI<sub>50</sub> por debajo de 5 µg/ml, lo cual representa un factor de 9.6 veces para *T. cruzi*, y hasta 10.6 veces de mejora para L.ae, de igual forma sus IS mejoraron con valores alrededor de 4 para todos los parásitos lo que la convierte en una fracción antiparasitaria muy activa de amplio espectro prometedora que proviene de un extracto crudo citotóxico con moderada actividad. Para Cheperequi (*J. glabra*) y Kuabadhu (*Cedrela sp.*), se observó que

después del fraccionamiento los valores de  $CI_{50}$  mejoraron en un factor de 4.0 y 6.9 veces para L.lan respectivamente, pero los valores de IS disminuyeron, mostrando que durante la purificación la actividad biológica aumenta junto con la citotoxicidad; en el caso de Cheperequi (*J. glabra*) sus IS se mantienen por encima de 2, por lo que sigue siendo un buen leishmanicida, lo contrario para Kuabadhu (*Cedrela sp.*) cuyo extracto crudo tienen un mejor comportamiento que su fracción (Ver Tabla 7).

Se incluyeron también entre los mejores resultados las fracciones de Aquí djawa (*L. cf. trifolia*), Bacua etse (*S. dulcis*), Cawuara (*T. integrifolia*), Japauro (*T. geniculata*), Mue sumo ina (*E. foetidum*), Quid'i juno (*I. diffusa*) y Teini tumati (*P. angulata*), todos mejoraron su  $CI_{50}$  tomando en cuenta a la cepa con las mayores mejoras en un factor de 4.7 veces para L.bG; 2.0 veces para *T. cruzi*; 3.3 veces para M2904; 2.3 veces para Lma; 2.0 veces para L.ae; 6.8 veces para *T. cruzi*; y 4.8 veces para L.lan, respectivamente. Las 7 especies vegetales también mejoraron sus valores de IS (Ver Tabla 7).

Las especies promisorias tanto para *T. cruzi* como para *Leishmania spp.* que después de ser fraccionadas mejoran su actividad e IS en relación al extracto crudo se listan a continuación en la Tabla 9.

**Tabla 9:** Especies promisorias resultado de la química biodirigida

Antiparasitarios			
Nombre Tacana	Nombre Científico	Nombre Tacana	Nombre Científico
Bacua etse	<i>Scoparia dulcis</i>	Japauro	<i>Thalia geniculata</i>
Cawuara	<i>Tessaria integrifolia</i>	Panu	<i>Salacia impressifolia</i>
Cheperequi	<i>Jacaranda glabra</i>	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>
Ejije bid'u	Pendiente	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>

Finalmente, de las 13 especies vegetales que fueron purificadas se realizó una búsqueda bibliográfica exhaustiva, citando cuando se encontró actividad leishmanicida o tripanocida reportada por otros autores.

### Especies antiparasitarias:

**Aqui djawa (*Lantana cf. trifolia*):** los Tacana utilizan la corteza y las hojas para los vómitos, pasmos y dolor de cadera. Es utilizada como remedio herbal en Uganda para tratar problemas respiratorios como tos o resfríos y para diarreas (Nalubega, Nyanzi, Nakavuma, & Kamatenesi-Mugisha, 2013), y para Malaria por la gente de Haya en Tanzania (Moshi, Otieno, Mbabazi, & Weisheit, 2009). La composición fitoquímica de *L. cf. trifolia* presenta varios compuestos entre los que podemos encontrar flavonas, fenilpropanoides, ácidos hidrobenczoicos y ácidos hidroxicinámicos (Julião, et al., 2010). En las hojas se reportó flavonoides y compuestos fenólicos (Imbenzi, He, Yan, Osoro, & Cheplogoi, 2014). Se informó leve toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas contra artemia (Moshi, et al., 2010). Fue reportada actividad antiinflamatoria y analgésica (Uzcátegui, et al., 2004); antibacteriana (Cos, et al., 2002; Ocheng, et al., 2014); antifúngica (Cos, et al., 2002); y antioxidante (Imbenzi, et al., 2014). Estos son los primeros reportes de actividad tanto tripanocida como leishmanicida. En este estudio los valores de  $CI_{50}$  para el extracto crudo de hojas oscilan entre  $17.5 \pm 0.8$  y  $23.2 \pm 1.8$   $\mu\text{g/ml}$ ; con una  $DL_{50}$  de  $87.5 \pm 6.5$   $\mu\text{g/ml}$ ; y valores de IS entre 3.8 y 5.0. Los valores de  $CI_{50}$  para la F3 varían desde  $4.3 \pm 2.0$  hasta  $>50$   $\mu\text{g/ml}$ , con IS entre 0.8 y 4.7, en general no hubo una mejora significativa en las  $CI_{50}$ , en el caso de Lma se observó disminución de la actividad, y los IS disminuyeron en general, siendo la mejor  $CI_{50}$   $4.3 \pm 2.0$   $\mu\text{g/ml}$  con un IS de 4.7 para *L. braziliensis* cepa nativa (L.bG), como se muestra en la Tabla 7.

**Bacua etse (*Scoparia dulcis*):** la planta entera es utilizada por los Tacana para tratar la tuberculosis, como antiinflamatorio y para dolor de cabeza. *S. dulcis* fue ampliamente estudiada debido a sus propiedades curativas con citas en diferentes medicinas populares tradicionales. Los estudios fitoquímicos muestran varios compuestos entre los que podemos mencionar diterpenos (Ahmed & Jakupovic, 1990; Ahsan, Islam, Gray, & Stimson, 2003; Ahsan, Haque, Islam, Gray, & Hasan, 2012; Liu, et al., 2014), triterpenos (Freire, Torres, Roque, Souccar, & Lapa, 1991; Mahato, Das, & Sahu, 1981) y flavonoides (Liu, et al., 2014). La actividad antichagásica fue descrita por Calderón, et al. (2010), y la actividad leishmanicida frente a *Leishmania donovani* por Gachet, et al. (2010a). Se reportó actividad antiprotozoaria frente a *Trypanosoma brucei rhodesiense* (Gachet, et al., 2010a) y *Plasmodium falciparum* (Gachet, et al., 2010a; Riel, Kyle,

& Milhous, 2002); antimicrobiana y antifúngica (Latha, et al., 2006); antiviral contra el virus *Herpes simplex* Tipo 1 (Hayashi, et al., 1988); analgésica y antiinflamatoria de extractos acuoso y etanólico de la planta entera (de Farias, da Silva, Lapa, Souccar, & Brandão, 1993; Freire, et al., 1991; Tsai, Peng, Chiu, Lai, & Lee, 2011); antioxidante (Coulibaly, et al., 2011; Ratnasooriya, Jayakody, Premakumara, & Ediriweera, 2005); antiulcerosa (Babincová, Schronerová, & Sourivong, 2008; Mesía-Vela, et al., 2007); citotóxica y antitumor de diterpenos aislados de *S. dulcis* (Ahsan, et al., 2003; Hayashi, Hayashi, & Morita, 1992). Durante este estudio, investigamos el extracto crudo de hojas y fruto, obtuvimos valores de  $CI_{50}$  que variaron entre  $13.8 \pm 3.3$  y  $40.8 \pm 4.0$   $\mu\text{g/ml}$  dependiendo del parásito, la  $DL_{50}$  para HeLa de  $72.7 \pm 22.4$   $\mu\text{g/ml}$ , y los valores de IS entre 1.8 y 5.3. La  $CI_{50}$  para la fracción F3 osciló entre  $8.2 \pm 2.0$  y  $25.4 \pm 4.5$   $\mu\text{g/ml}$ , mostrando una mejoría general en los valores calculados para  $CI_{50}$  pero sin cambios significativos para el IS, siendo la mejor  $CI_{50}$   $8.2 \pm 2.0$   $\mu\text{g/ml}$  con un IS de 5.5, para *L. braziliensis* cepa nativa (L.bG) (Ver Tabla 7).

**Cawuara (*Tessaria integrifolia*):** las hojas son utilizadas tradicionalmente por los Tacana para el tratamiento de la leishmaniasis y la picadura de raya. La composición fitoquímica de *T. integrifolia* informa principalmente flavonoides (Eto, Masuoka, Yamasaki, Harano, & Ono, 2008; Guerreiro, Pestchanker, Vitto, & Giordano, 1990; Ono, et al., 2000a), sesquiterpenos (Guerreiro, et al., 1990; Jakupovic, Misra, Chau Thi, Bohlmann, & Castro, 1985; Ono, Masuoka, Otake, & Ito, 2000b) y ácidos cafeoilquínicos (Peluso, De Feo, De Simone, Bresciano, & Vuotto, 1995). La actividad leishmanicida fue publicada recientemente, los autores evaluaron las hojas de Cawuara recolectadas en Perú, contra *L. donovani* (Vásquez-Ocmín, et al., 2017). Fue reportada actividad antioxidante en extractos metanólico de partes aéreas de Cawuara (Eto, et al., 2008; Ono, et al., 2000a); antibacteriana (Vivot, et al., 2007); antiinflamatoria (Peluso, et al., 1995); y antiulcerosa (Silva, Cruzado, Gamarra, Caballero, & Mantilla, 2014). Estos son los primeros reportes de actividad tripanocida, obtuvimos valores de  $CI_{50}$  para la F3 de  $25.2 \pm 0.8$   $\mu\text{g/ml}$  y un  $IS = 2.7$  contra epimastigotes de *T. cruzi*. Para el extracto crudo de hojas nuestros valores de  $CI_{50}$  oscilaron de  $31.6 \pm 14.8$  a  $>50$   $\mu\text{g/ml}$ ; la  $DL_{50}$  fue de  $119.3 \pm 24.9$   $\mu\text{g/ml}$ ; y los valores IS calculados variaron entre 2.5 y 3.8. La  $CI_{50}$  para la fracción F3 dio valores entre  $9.7 \pm 1.3$  y  $25.2 \pm 0.8$   $\mu\text{g/ml}$ , mostrando una mejoría general, siendo la mejor  $CI_{50}$  de  $9.7 \pm 1.3$   $\mu\text{g/ml}$  con  $IS = 7.0$  para *L. braziliensis* (M2904) (Ver Tabla 7).

**Cheperequi (*Jacaranda glabra*):** los Tacana usan la corteza, hojas y frutos como antiparasitario, para infecciones de la piel, sarna y leishmaniasis, para esta última utilizan la savia del fruto. No se encontraron árboles frutales durante los viajes de colecta, por lo que se trabajó con la corteza ya que este órgano también se usa en preparaciones para infecciones de la piel. Existen varios informes de medicinas populares tradicionales para especies del género *Jacaranda*, principalmente para tratar infecciones de la piel (Gachet & Schühly, 2009). El principal compuesto activo encontrado en el género *Jacaranda* es la jacaranona (hidroquinona) junto con sus ésteres glicosídicos, con actividad contra *Plasmodium falciparum* (Gachet, et al., 2010b). No encontramos referencias para la actividad leishmanicida ni tripanocida. Los valores de  $CI_{50}$  calculados para el extracto crudo oscilaron entre  $17.4 \pm 2.7$  y  $45.4 \pm 4.6$   $\mu\text{g/ml}$ ; la  $DL_{50}$  fue de  $192.0 \pm 8.0$   $\mu\text{g/ml}$ ; y los valores de IS calculados variaron de 4.2 a 11.0, siendo el extracto con los valores IS más altos, junto con Ejije bid'u. Además, las  $CI_{50}$  para la fracción F3 variaron entre  $5.6 \pm 0.6$  y  $22.1 \pm 3.0$   $\mu\text{g/ml}$ , con IS entre 1.5 y 5.8, mostrando una mejoría en la  $CI_{50}$  y un deterioro general de los valores de IS frente a todas las cepas, siendo la mejor  $CI_{50}$  de  $5.6 \pm 0.6$   $\mu\text{g/ml}$  con IS de 5.8 para la cepa *L. braziliensis* (M2904), Cheperequi fue inactivo contra epimastigotes de *T. cruzi* como se muestra en la Tabla 7.

**Ejije bid'u:** las hojas y los tallos se utilizan tradicionalmente por la etnia Tacana para ayudar a la cicatrización, en infección de la piel, quemaduras y dolor muscular. Esta especie medicinal aún no se ha caracterizado taxonómicamente, de acuerdo con el Herbario Nacional de La Paz pertenece a la familia Euphorbiaceae. Las especies que pertenecen a esta familia son conocidas como productores prolíficos de una amplia gama de metabolitos secundarios. Se trabajó con el extracto de hojas obteniéndose valores de  $CI_{50}$  entre  $11.4 \pm 2.0$  y  $19.5 \pm 1.7$   $\mu\text{g/ml}$ ; con una  $DL_{50}$   $132.7 \pm 30.7$   $\mu\text{g/ml}$ ; y valores de IS calculados entre 6.8 y 11.7. Siendo uno de los extractos con mayor actividad antiparasitaria de amplio espectro además de selectivo. Por su parte, los valores de  $CI_{50}$  para la fracción F3 oscilan entre  $8.7 \pm 0.5$  y  $16.7 \pm 3.1$   $\mu\text{g/ml}$ , mostrando una ligera mejoría en los valores calculados para  $CI_{50}$  y mejores valores de IS en general contra todas las cepas que van desde 9.1 hasta 17.1, siendo la mejor  $CI_{50}$  de  $8.7 \pm 0.5$   $\mu\text{g/ml}$  con un IS de 17.1 para *T. cruzi*. Esta es la mejor fracción antiparasitaria de todos los extractos sobre todo por sus valores de selectividad (Ver Tabla 7).

**Japauro (*Thalia geniculata*):** las raíces y los cogollos se usan tradicionalmente por los Tacana para la diarrea y ayudar a la cicatrización. Se reportó ácido rosmarínico en las hojas de *T. geniculata* (Abdullah, Schneider, & Petersen, 2008); se han informado varios fitoesteroles junto con geranilfarnesol con buena actividad contra *P. falciparum* y amastigotes *L. donovani* (Lagnika, et al., 2008). No se encontraron reportes de actividad tripanocida, nuestros valores de  $CI_{50}$  para la F3 fueron de  $13.0 \pm 1.0$   $\mu\text{g/ml}$  con un IS de 3.0 frente a epimastigotes de *T. cruzi*. Obtuvimos valores calculados de  $CI_{50}$  para el extracto crudo de raíz entre  $17.6 \pm 0.8$  y  $29.5 \pm 5.1$   $\mu\text{g/ml}$ ; con una  $DL_{50}$  de  $54.0 \pm 2.0$   $\mu\text{g/ml}$ ; y valores de IS calculados entre 1.8 y 3.1. Por su parte, los valores de  $CI_{50}$  para la fracción F3 variaron entre  $10.1 \pm 0.3$  y  $14.6 \pm 3.3$   $\mu\text{g/ml}$  y los de IS van desde 2.7 hasta 3.9, mostrando una mejoría general en los valores de  $CI_{50}$  e IS, siendo la mejor  $CI_{50}$  de  $10.1 \pm 0.3$   $\mu\text{g/ml}$  con un IS de 3.9 para *L. braziliensis* (M2904) la cepa más sensible, como se muestra en la Tabla 7.

**Mue sumo ina (*Eryngium foetidum*):** las hojas y los tallos son utilizados por los Tacana para arritmias, heridas y picadura de raya. Los usos tradicionales registrados para esta planta son numerosos y principalmente medicinales (Paul, Seaforth, & Tikasingh, 2011). Se informó presencia de elementos traza en *E. foetidum* como Fe, Mn, Zn, Cu, Co y V (Rajan, Singh, Kumar, & Mishra, 2014). En estudios de composición fitoquímica se identificaron compuestos fenólicos, flavonoides y vitaminas solubles en agua (Aly, 2010); aceites esenciales de diferentes órganos y su composición (Cardozo, Rubio, Rojas, & Usubillaga, 2004; Leclercq, Duñg, Lô, & Toanh, 1992; Martins, et al., 2003; Pino, Rosado, & Fuentes, 1997; Wong, Feng, Sam, & Tan, 1994; Yeh, 1974); y triterpenoides (García, Sáenz, Gómez, & Fernández, 1999). Fue reportada actividad leishmanicida tanto del extracto metanólico crudo como de fracciones de las partes aéreas de *E. foetidum* frente a promastigotes de *L. tarentolae* y amastigotes de *L. donovani* (Rojas-Silva, et al., 2014); actividad antimicrobiana contra *Helicobacter pylori* (Kouitcheu, Bille, & Nguépi, 2016); antihelmíntica contra *Strongyloides stercoralis* (Forbes, Gallimore, Mansingh, Reese, & Robinson, 2014); se informó efectos supresores contra mediadores proinflamatorios (Mekhora, et al., 2012); así como actividad antiinflamatoria (Dawilai, Muangnoi, Praengamthanachoti, & Tuntipopipat, 2013; García, et al., 1999; Sáenz, Fernández, & García, 1997); los aceites esenciales tienen actividad antioxidante (Thomas, Essien, Ntuk, & Choudhary, 2017); las hojas tienen un efecto preventivo en la carcinogénesis colorrectal (Promtes,

Kupradinun, Rungsipipat, Tuntipopipat, & Butryee, 2016); se informó que el consumo diario de *E. foetidum* podría causar un efecto adverso en la función renal en ratones (Janwitthayanuchit, Kupradinun, Rungsipipat, Kettawan, & Butryee, 2016). No hay reportes de actividad tripanocida, para la F3 obtuvimos valores de  $CI_{50} = 21.9 \pm 7.1$   $\mu\text{g/ml}$  con un IS de 1.7 contra epimastigotes de *T. cruzi*. Nuestros valores de  $CI_{50}$  para el extracto crudo de hojas y tallo variaron entre  $11.7 \pm 0.01$  y  $39.5 \pm 1.1$   $\mu\text{g/ml}$ ; con una  $DL_{50}$  de  $55.2 \pm 4.2$   $\mu\text{g/ml}$ ; y valores de IS calculados que van desde 1.4 hasta 4.7. Por su parte, la fracción F3 dio valores de  $CI_{50}$  entre  $10.7 \pm 0.2$  y  $36.3 \pm 3.1$   $\mu\text{g/ml}$ , con IS desde 1.1 hasta 3.6, mostrando poca mejoría tanto en actividad como en selectividad, siendo la mejor  $CI_{50}$   $10.7 \pm 0.2$   $\mu\text{g/ml}$  con un IS de 3.6 para *L. braziliensis* cepa nativa (L.b), como puede observarse en la Tabla 7.

### Especies citotóxicas:

**Djipicu (*Bocageopsis sp.*):** las hojas son utilizadas por los Tacana para tratar infecciones de la piel. Oliveira, et al. (2014) informaron actividad leishmanicida contra promastigotes de *L. amazonensis* ( $CI_{50} = 14.6$   $\mu\text{g/ml}$ ) para el aceite esencial de *B. multiflora*, compuesto principalmente por sesquiterpenos. Para *B. pleiosperma*, se informó presencia de estructuras tetrahydroharmina junto con otros alcaloides (Soares, et al., 2015a), así como actividad antimicrobiana de aceites esenciales (Soares, et al., 2015b). En nuestros estudios, el extracto de hojas dio  $CI_{50} = 37.9 \pm 6.2$   $\mu\text{g/ml}$  con un IS = 0.7 para *L. amazonensis*, y los valores  $CI_{50}$  para el extracto crudo variaron entre  $16.6 \pm 7.2$  y  $37.9 \pm 6.2$   $\mu\text{g/ml}$ , la  $DL_{50}$  fue de  $26.1 \pm 4.0$   $\mu\text{g/ml}$ , y los valores de IS calculados variaron de 0.7 a 1.6. Los valores de  $CI_{50}$  para la fracción F3 variaron entre  $7.3 \pm 2.9$  y  $19.9 \pm 0.8$   $\mu\text{g/ml}$ , mostrando una mejor actividad contra todas las cepas y una ligera mejoría para todos los valores de IS que van desde 1.0 hasta 2.7, siendo la mejor  $CI_{50}$  de  $7.3 \pm 2.9$   $\mu\text{g/ml}$  con IS = 2.7 para la cepa *L. lainsoni* (Ver Tabla 7).

**Kuabadhu (*Cedrela sp.*):** la decocción de corteza es utilizada por los Tacana para tratar infecciones de la piel, como antiparasitario y para el sobre-parto y/o hemorragias. En cuanto a la composición química fueron reportados triterpenoides de *C. odorata* (Campos, Oliveira, Machado, Matos, & Braz-Filho, 1991; Kipassa, et al., 2008), de *C. salvadorensis* (Segura, Calderón, Toscano, Atilano, & Rachel, 1994), *Cedrela spp* (Céspedes, Calderón, Lina, & Aranda,

2000), y *C. sinensis* (Mitsui K. , Maejima, Fukaya, Hitotsuyanagi, & Takeya, 2004; Mitsui, et al., 2005; 2006), también limonoides con actividad antialimentaria (Kipassa, et al., 2008), tetranortriterpenoides de *C. angustifolia* (Lavie, Levy, Rosito, & Zelnik, 1970), *C. odorata* (Veitch, Wright, & Stevenson, 1999) y *C. fissilis* (Zelnik & Rosito, 1971); y sesquiterpenoides de *C. toona* (Chatterjee, Chakraborty, & Chandrasekharan, 1971). Se informó actividad antiprotozoaria contra promastigotes de *L. infantum* y epimastigotes de *T. cruzi* para *C. odorata* (González-Coloma, et al., 2012) y contra promastigotes de *L. major* para *C. serrata* (Takahashi, Fuchino, Satake, Agatsuma, & Sekita, 2004). Nuestros valores de  $CI_{50}$  para el extracto crudo de corteza oscilaron entre  $18.2 \pm 1.5$  y  $>50$   $\mu\text{g/ml}$ ; con una  $DL_{50}$  de  $66.5 \pm 7.5$   $\mu\text{g/ml}$ ; y valores de IS calculados entre 1.8 y 3.7. Por su parte, los valores de  $CI_{50}$  para la fracción F3 variaron desde  $5.2 \pm 0.8$  hasta  $8.6 \pm 2.7$   $\mu\text{g/ml}$ , mostrando una mejor actividad contra todas las cepas, pero con disminución de los valores de IS, siendo la mejor  $CI_{50}$  de  $5.2 \pm 0.8$   $\mu\text{g/ml}$  con un  $IS = 1.9$  para *L. braziliensis* (M2904), lo cual la convierte en citotóxica como se muestra en la Tabla 7.

**Nuriri jaja (*Abuta grandifolia*):** las hojas y la corteza se utilizan tradicionalmente por los Tacana para tratar infecciones intestinales y de la piel. *A. grandifolia* es una planta medicinal utilizada para el tratamiento de una amplia diversidad de enfermedades, por varios grupos étnicos en América del Sur, como malaria, diabetes, dolor de estómago, antiinflamatorio, antimicrobiano entre otros usos (Polesna, Polesny, Clavo, Hansson, & Kokoska, 2011). Hay algunos informes que se refieren a la composición química mostrando la presencia de bisbencilisoquinolina y alcaloides aporfina del tronco (corteza y madera) (Cometa, et al., 2012). Se aislaron de hojas y ramas saponinas bidesmosídicas y triterpenoides, junto con alcaloides tropoloisoquinolina e isoquinolina (Sayagh, Long, Moretti, & Lavaud, 2012). Algunas bisbencilisoquinolinas de la corteza del tronco, mostraron actividad antiplasmódica (Steele, Simmonds, Veitch, & Warhurst, 1999). Se informó efecto hipoglicemiante (Justil, Angulo, Justil, & Arroyo, 2015). Este estudio es el primer informe sobre la actividad leishmanicida, tripanocida y citotóxica para esta planta y algunos de los compuestos informados podrían ser responsables de dicha actividad. Nuestros valores de  $CI_{50}$  para el extracto crudo de hojas oscilaron entre  $19.5 \pm 1.0$  y  $38.3 \pm 4.2$   $\mu\text{g/ml}$ , dependiendo de la cepa; con una  $DL_{50}$  de  $16.7 \pm 2.7$   $\mu\text{g/ml}$ ; con valores de IS entre 0.4 y 0.9, siendo el extracto crudo más tóxico para HeLa. Los valores de  $CI_{50}$  para la fracción F3 varió entre  $5.6 \pm 0.7$  y  $14.9 \pm 3.4$   $\mu\text{g/ml}$ , mostrando una mejor actividad contra todas las cepas y valores

citotóxicos de IS, siendo la mejor  $CI_{50}$  de  $5.6 \pm 0.7$   $\mu\text{g/ml}$ , con un IS de 2.1 para *L. lainsoni* (Ver Tabla 7).

**Panu (*Salacia impressifolia*):** la corteza y raíz son utilizadas por los Tacana para problemas de reumatismo, resfrío, calambre e impotencia masculina. En cuanto a su composición química se reportaron principalmente triterpenos, friedelano, lupano, oleanano, triterpenoides del ursano y pristimerina (Da Silva, F. M., et al., 2016). Ripardo Filho, et al. (2015) informaron presencia de esteroides, isoscopoletina y ácidos quinóvicos. Ruani (2014) reportó actividad antioxidante e hipoglicemiante. No existen muchos estudios de esta planta, a la fecha no se encontraron reportes de actividad leishmanicida, tripanocida ni citotóxica. Nuestros valores de  $CI_{50}$  para el extracto crudo de raíz oscilan entre  $9.3 \pm 0.2$  y  $>50$   $\mu\text{g/ml}$ ; con una  $DL_{50}$  de  $39.7 \pm 4.7$   $\mu\text{g/ml}$ ; y valores calculados de IS que van desde 0.9 a 4.3. Por su parte, los valores de  $CI_{50}$  para la fracción F3 estuvieron alrededor de 5  $\mu\text{g/ml}$ , variando entre  $3.4 \pm 0.9$  y  $5.4 \pm 0.9$   $\mu\text{g/ml}$ , con IS desde 3.6 hasta 5.7, mostrando una mejora tanto en actividad como en selectividad, lo que la convierte en una fracción antiparasitaria prometedora con los mejores valores de  $CI_{50}$  muy activa, de amplio espectro de acción y selectiva, siendo las mejores  $CI_{50}$  de  $3.4 \pm 0.9$  y  $3.7 \pm 0.9$   $\mu\text{g/ml}$  con IS de 5.7 y 5.2 para M2904 y *T. cruzi* respectivamente (Ver Tabla7).

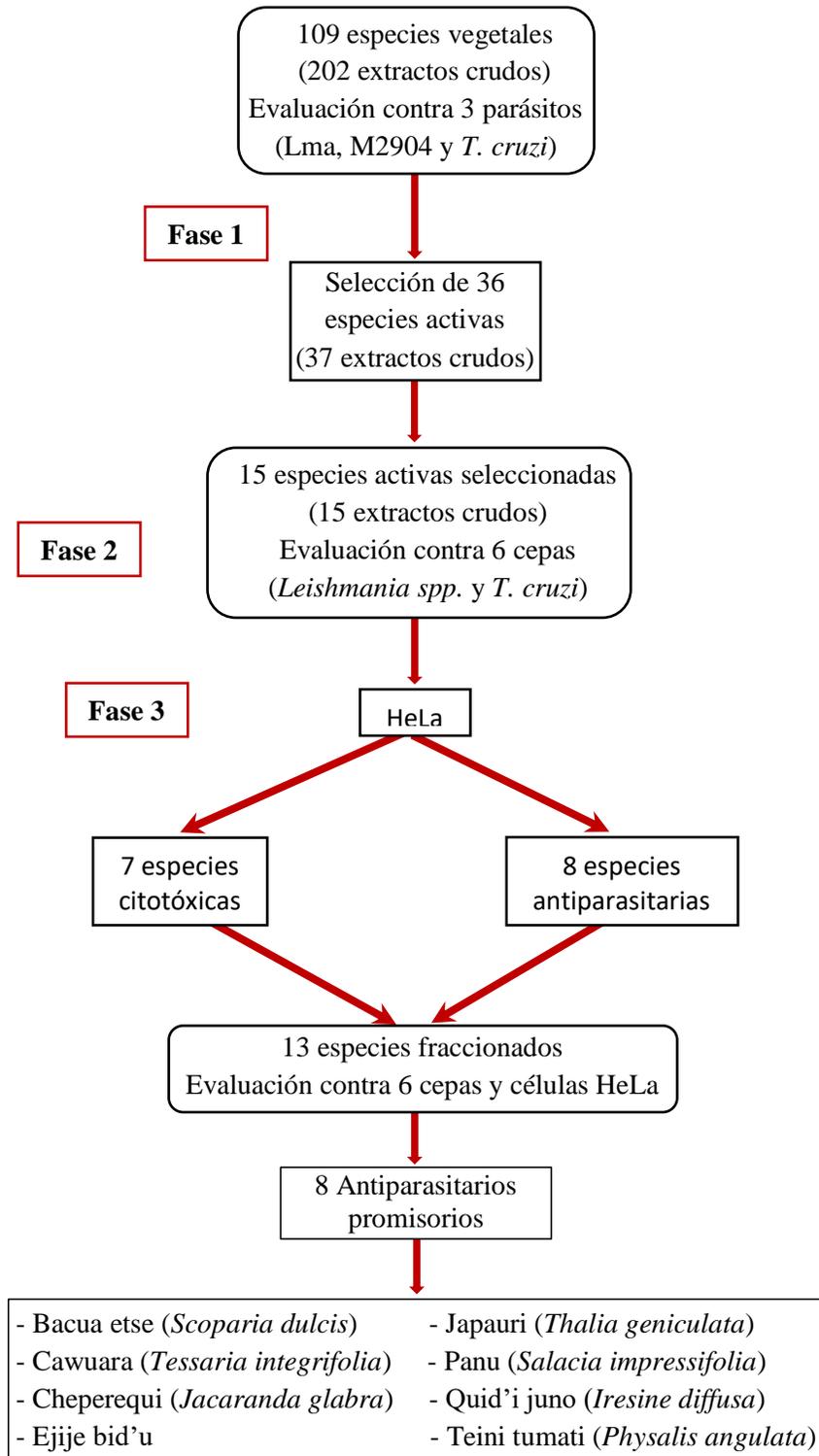
**Quid'i juno (*Iresine diffusa*):** las raíces se usan tradicionalmente por los Tacana para tratar infecciones de la piel. Un estudio realizado en Perú informó la actividad leishmanicida de varias plantas, incluida *I. diffusa* contra amastigotes axénicos de *L. amazonensis* con una  $CI_{50}$  de 63.3  $\mu\text{g/ml}$  (Valadeau, et al., 2009). En nuestro estudio el extracto crudo de hojas dio una  $CI_{50}$  de  $37.3 \pm 1.4$   $\mu\text{g/ml}$  contra promastigotes de *L. amazonensis* con un IS de 1.4. Se han identificado varios compuestos de esta especie, incluyendo sesquiterpenoides, alcoholes grasos y triterpenos aislados de las partes aéreas (Djerassi, Sengupta, Herran, & Walls, 1954; Rios & Berber, 2005). En un estudio llevado a cabo sobre 23 especies de la familia Amaranthaceae que incluye a *I. diffusa*, se examinó la presencia de betaína (Blunden, Yanga, Janicsáka, Máthéa, & Carabot-Cuervo, 1999). No hay referencias de actividad tripanocida. Nuestros valores de  $CI_{50}$  para el extracto crudo de hojas variaron entre  $26.0 \pm 3.8$  y  $40.6 \pm 1.5$   $\mu\text{g/ml}$ ; con una  $DL_{50}$  de  $50.7 \pm 15.4$   $\mu\text{g/ml}$ ; y valores de IS calculados que van desde 1.3 hasta 2.0. Los valores de  $CI_{50}$  para la fracción F3 variaron entre  $5.0 \pm 0.7$  y  $17.9 \pm 0.7$   $\mu\text{g/ml}$ , con IS entre 1.9 y 6.7, mostrando una

mejora en los valores tanto de  $CI_{50}$  como de IS frente a todas las cepas, siendo la mejor  $CI_{50}$  de  $5.0 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$  con  $IS = 6.7$  para *T. cruzi*, como se muestra en la Tabla 7.

**Teini tumati (*Physalis angulata*):** fueron reportados usos tradicionales Tacana como febrífugo, para el tratamiento de la gripe y dolor reumático por Bourdy, et al. (2000), en nuestros estudios informamos usos adicionales para la malaria y la infección cutánea. Hay una revisión de los usos tradicionales, la química y la farmacología de *P. angulata* (Rengifo & Vargas, 2013), así como una revisión de los constituyentes químicos y las actividades biológicas para el género *Physalis* (Zhang & Tong, 2016). Existen varios informes sobre las especies de *Physalis*, con aislamiento de seco-esteroides inusuales, fisalinas y aminofisalinas de *P. angulata* (Men, et al., 2014), junto con withanolidos y diterpenoides (Sun, et al., 2016a), ácidos fenólicos y flavonoides (Carniel, et al., 2017), con informes como antiinflamatorios y antiproliferativos (Sun, et al., 2016a; 2016b); se reportó citotoxicidad de withanolidos de las partes aéreas (Gao, et al., 2017); actividad inmunomoduladora (Pinto, et al., 2016); antioxidante (Cobaleda-Velasco, et al., 2017); tripanocida en epimastigotes  $CI_{50} = 2.1 \pm 0.1 \mu\text{M}$  y tripomastigotes circulantes  $CE_{50} = 1.7 \pm 0.5 \mu\text{M}$  (Meira, et al., 2015); y leishmanicida del extracto acuoso de raíz, contra *L. amazonensis* con una  $CI_{50} = 39.5 \pm 5.1 \mu\text{g/ml}$  en promastigotes,  $CI_{50} = 43.4 \pm 10.1 \mu\text{g/ml}$  amastigotes y en ratones infectados (Da Silva, R. R., et al., 2015; Da Silva, B. J., et al., 2016; Gonçalves de Oliveira, et al., 2017). Nuestros valores de  $CI_{50}$  de la F3 de hojas contra promastigotes de *L. amazonensis* fueron de  $16.9 \pm 1.0 \mu\text{g/ml}$  con un  $IS = 2.5$ . Obtuvimos valores calculados de  $CI_{50}$  para el extracto crudo de frutos que oscilaron entre  $17.6 \pm 1.8$  y  $43.5 \pm 0.3 \mu\text{g/ml}$ ; con una  $DL_{50}$  de  $19.5 \pm 2.0 \mu\text{g/ml}$ ; y valores de IS entre 0.4 y 1.1 citotóxicos, sin embargo, no se prosiguió con el estudio por falta de material. Los valores de  $CI_{50}$  para el extracto crudo de hojas fue  $>50 \mu\text{g/ml}$  para la mayoría de las cepas, con una  $DL_{50}$  de  $154.5 \pm 37.5 \mu\text{g/ml}$  y un IS de 3.7. Para la fracción F3 los valores de  $CI_{50}$  variaron entre  $9.3 \pm 1.5$  y  $16.9 \pm 1.0 \mu\text{g/ml}$ , con IS entre 2.5 y 4.6, mostrando una mejora general tanto para las  $CI_{50}$  como para los IS frente a todas las cepas, convirtiéndose en una fracción antiparasitaria muy activa de amplio espectro además de selectiva, siendo la mejor  $CI_{50}$  de  $9.3 \pm 1.5 \mu\text{g/ml}$  con  $IS = 4.6$  para *L. braziliensis* (M2904), como se muestra en la Tabla 7.

### 5.3. Conclusiones

En el siguiente esquema se resumen los resultados obtenidos en este capítulo:



### ***Trypanosoma cruzi***

En total 14 especies fueron activas para *T. cruzi*, de estas 9 fueron sometidas a estudios biodirigidos, y 7 resultaron especies prometedoras, de las que se recomienda hacer estudios más profundos. Quedan 5 especies por ser estudiadas Arana aquí (*Schefflera morototoni*), Cuatro cantos (*Pluchea sagitalis*), Id'ene eidhue (*Hyptis brevipes*), R'i baba (*Priva lappulacea*) y Tapacha ina (*Hyptis mutabilis*), y definir su potencial terapéutico.

### ***Leishmania spp.***

Un total de 35 especies fueron activas para *Leishmania spp.*, 13 especies las más activas se sometieron a estudios biodirigidos, obteniéndose 8 especies promisorias, se sugieren estudios posteriores en busca de cabezas de serie que nos permitan obtener nuevos agentes antiparasitarios. Quedan aún 23 especies por definir su potencial terapéutico.

Hay resultados interesantes y prometedores que requieren más estudios. Tenemos una amplia biodiversidad que apenas estamos empezando a estudiar. La gran mayoría de las plantas no presentan actividad biológica *in vitro* y no son interesantes para el desarrollo de antiparasitarios sobre todo para la enfermedad de Chagas; muy pocas de las especies colectadas fueron activas en el laboratorio estudiadas de manera sistemática dando un aproximado de 7.3 %. Todavía queda un gran desafío y una tarea que debe continuar.

Nuestros resultados muestran la importancia de incluir el conocimiento tradicional como parte de los criterios para la selección de plantas, en el descubrimiento de nuevos agentes antiparasitarios. Dado que de las 4 especies específicas utilizadas por la etnia Tacana para tratamientos de leishmaniasis el 75% dio actividad, y al considerar todas las especies con uso relacionado a esta enfermedad (afecciones de la piel y antiinflamatorias) hasta un 42.2% mostraron alguna actividad ya sea para *L. (L.) amazonensis* (Lma), *L. (V.) braziliensis* (M2904) que fue la cepa más susceptible en este trabajo lo cual fue reportado también por otros autores (Antinarelli, et al., 2015) o para ambas (Ver Anexo 5). Un 18.2% de estas especies dio actividad también para *T. cruzi*.

## **6. Capítulo 2: Optimización de Quinolinas con Potencial Leishmanicida**

## 6.1. Antecedentes

### 6.1.1. Leishmaniasis.

La leishmaniasis es un grupo de enfermedades zoonóticas o antroponóticas, con una variedad de especies de parásitos protozoarios (*Leishmania spp.*), reservorios mamíferos y vectores (*Lutzomia spp.* o *Phlebotomus spp.*) implicados en su transmisión. La enfermedad está directamente vinculada a la pobreza; también los factores sociales, ambientales y climatológicos influyen en la epidemiología de la enfermedad (OMS, 2012b).

En el mamífero, los parásitos de *Leishmania spp.* viven y se multiplican intracelularmente en células fagocíticas dentro de los llamados fagolisosomas. Provocan dos formas clínicas principales, la leishmaniasis cutánea (LC) y la leishmaniasis visceral (LV), dependiendo de la especie del parásito y de qué tipos de células fagocíticas invaden. En LC, los parásitos infectan a los macrófagos residentes en la piel. Cuando la célula huésped está llena de parásitos, estalla y los amastigotes liberados infectan a los macrófagos vecinos. La LC ocurre en tres formas diferentes: leishmaniasis cutánea localizada (LCL), con lesiones cutáneas localizadas auto cicatrizantes y cicatrices permanentes; leishmaniasis cutánea difusa (LCD), menos común, presenta múltiples nódulos, con progresión lenta y varias lesiones distantes del sitio de infección; y leishmaniasis mucocutánea (LMC) restringida a América Latina, después de la curación de la lesión inicial en la piel, se extiende provocando destrucción parcial o total de las membranas mucosas de la nariz, boca y garganta, lo que lleva a una desfiguración facial extensa (Steverding, 2017; Van der Auwera & Dujardin, 2015).

En la LV, los amastigotes liberados se propagan por la circulación sanguínea e infectan las células del sistema fagocítico mononuclear del hígado, el bazo, la médula ósea, los ganglios linfáticos y el intestino. La LV o Kala-azar es la forma más severa, que puede llevar a la muerte si no es tratada. En más del 95 % de los casos se caracteriza por episodios de fiebre irregular, pérdida de peso, hepatomegalia, esplenomegalia y anemia (Steverding, 2017).

A continuación, en la Tabla 10 se resumen las distintas especies que producen los diferentes tipos de leishmaniasis en humanos.

**Tabla 10:** Especies de *Leishmania spp.* causante de leishmaniasis en humanos, modificada de Steverding, (2017)

Subgénero	Especies	Viejo/Nuevo Mundo	Enfermedad clínica	Distribución
<i>Leishmania</i>	<i>L. aethiopica</i>	VM	LC, LCL, LCD	Este de África (Etiopía, Kenia)
	<i>L. amazonensis</i>	NM	LC, LCL, LCD	Sud América (Brasil, Venezuela, Bolivia)
	<i>L. donovani</i>	VM	LV, LDPK*	África central, Sud Asia, Medio Oriente, India, China
	<i>L. infantum</i> (sin. <i>L. chagasi</i> )	VM, NM	LV, LC	Países mediterráneos (Norte de África y Europa), Sudeste de Europa, Medio Oriente, Asia Central, Norte, Centro y Sud América (México, Venezuela, Brasil y Bolivia)
	<i>L. major</i>	VM	LC	África Central y del Norte, Medio Oriente, Asia Central
	<i>L. mexicana</i> (sin. <i>L. pifanoi</i> )	NM	LC, LCL, LCD	EE.UU., Ecuador, Venezuela y Perú
	<i>L. tropica</i>	VM	LCL, LV	África Central y del Norte, Medio Oriente, Asia Central, India
	<i>L. venezuelensis</i>	NM	LCL	Norte y Sud América, Venezuela
	<i>L. martiniquensis</i>	NM, VM	LCL, LV	Martinique, Tailandia
	<i>Viannia</i>	<i>L. braziliensis</i>	NM	LCL, LMC
<i>L. guyanensis</i>		NM	LCL, LMC	Norte y Sud América (Guinea Francesa, Surinam, Brasil, Bolivia)
<i>L. lainsoni</i>		NM	LC, LCL	Brasil, Bolivia, Perú
<i>L. lindenbergi</i>		NM	LCL	Brasil
<i>L. naiffi</i>		NM	LCL	Brasil, Guinea Francesa
<i>L. panamensis</i>		NM	LCL, LMC	Central y Sud América (Panamá, Colombia, Venezuela, Brasil)
<i>L. peruviana</i>		NM	LCL, LMC	Perú, Bolivia
<i>L. shawi</i>		NM	LCL	Brasil

\*Leishmaniasis dérmica post-kala-azar (LDPK).

### 6.1.1.1. Clasificación taxonómica.

La clasificación taxonómica del género *Leishmania* es un problema importante en la actualidad. Se basó en criterios ecobiológicos como vectores, distribución geográfica, tropismo,

propiedades antigénicas y manifestaciones clínicas. Las diferencias en el desarrollo en el interior del vector son utilizadas para definir los subgéneros; *L. (Leishmania)*, lleva a cabo su desarrollo en las partes superior y media del aparato digestivo (desarrollo suprapilórico), mientras que *L. (Viannia)* necesita un desarrollo adicional en la parte final del aparato digestivo (Ramírez, 2012).

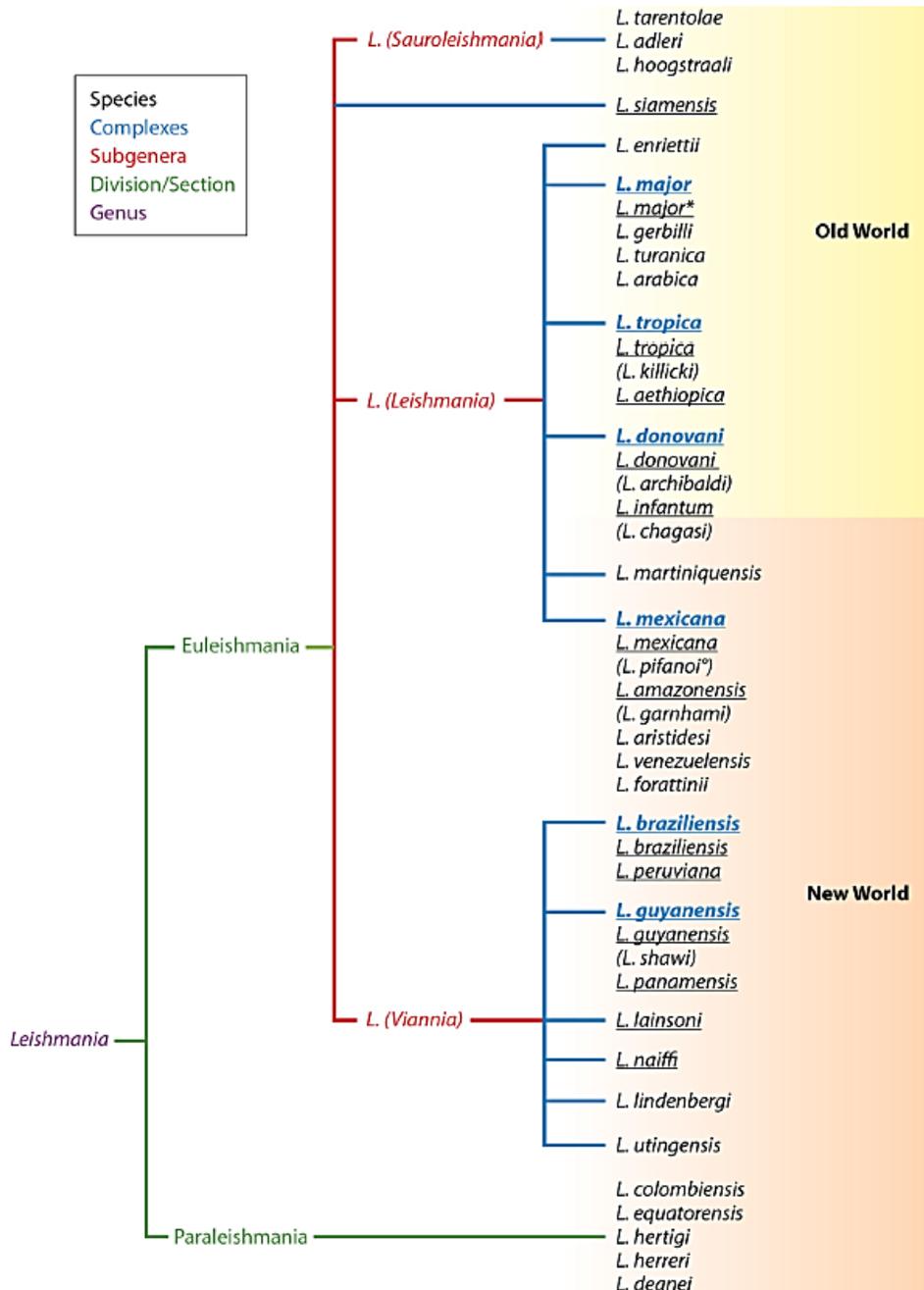


Figura 10: Taxonomía del género *Leishmania* (Van der Auwera & Dujardin, 2015)

En la Figura 10, se muestra la taxonomía actual de *Leishmania spp.*, basada en Electroforesis de enzima multilocus (MLEE)

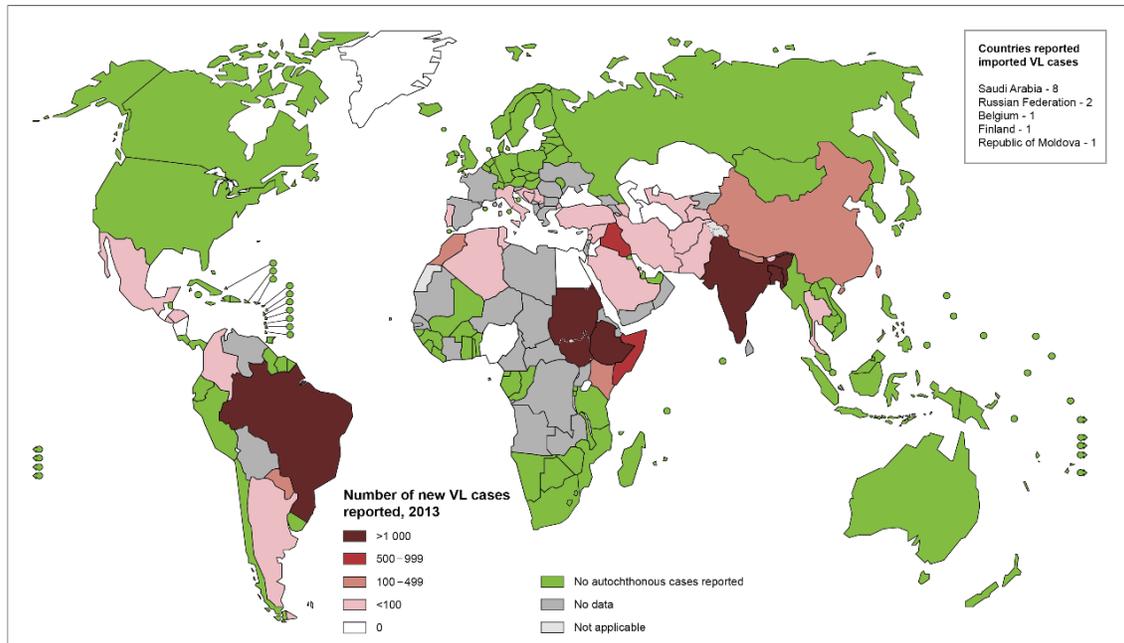
### **6.1.1.2. Epidemiología y Distribución en el mundo.**

En muchas regiones endémicas, la leishmaniasis es una enfermedad epidemiológicamente inestable con una tendencia a fluctuaciones impredecibles en el número de casos. Las razones de esto son múltiples; los factores culturales, ambientales y socioeconómicos juegan un papel importante (Steverding, 2017). A nivel mundial, más de 12 millones de personas están infectadas con *Leishmania spp.* y aproximadamente 350 millones están en riesgo de infección. La leishmaniasis es endémica en 98 países. Se estima que cada año se producen entre 0.7 y 1.3 millones de nuevos casos, y entre 20,000 y 30,000 defunciones. Además, la enfermedad ha sido responsable de unos 3.3 millones de AVAD en las últimas décadas, de los cuales 2.3 % ocurren en Latinoamérica (Vermelho, et al., 2017; Pace, 2014; OPS & OMS, 2014).

El número de nuevos casos de LV en todo el mundo alcanza entre 50,000 y 90,000 personas al año, en 2015 más del 90 % de los nuevos casos notificados a la OMS se produjeron en siete países: Brasil, Etiopía, India, Kenya, Somalia, Sudán, y Sudán del Sur (Ver Figura 11). Los casos de coinfección de LV/VIH han aumentado en áreas endémicas, con altas tasas de recidiva y mortalidad, sobre todo en Brasil, Etiopía y el estado indio de Bihar; ya que el VIH aumenta la susceptibilidad a LV y dificulta el tratamiento clínico (OMS, 2017d).

En Latinoamérica los casos de LV se presentan en 12 países, en 2015 fueron reportados 3,456 casos de LV, con el 96 % de los casos reportados en Brasil. A nivel regional la LV se clasifica en tres escenarios epidemiológicos: países con transmisión en expansión (Argentina, Brasil y Paraguay), países con transmisión estable o controlada (Colombia y Venezuela) y países con transmisión esporádica (Costa Rica, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Bolivia, Guyana y México) (OPS & OMS, 2017). En el mismo año, se informaron 257 casos (7,4%) de coinfección LV/VIH, con 244 de ellos registrados en Brasil, 12 en Paraguay y un caso en Venezuela. Se

observó una tasa de curación fue del 68,6 % y ocurrieron 268 muertes por leishmaniasis en Brasil (251), Venezuela (9) y Paraguay (8) (OPS & OMS, 2017).



**Figura 11:** Estado mundial de endemidad de LV 2012 (OMS, 2013a)

Aproximadamente un 95 % de los casos de LC se producen en América Latina, la cuenca del Mediterráneo y Asia Occidental, con cada región contribuyendo al 30 % de los casos (Pace, 2014). La mayoría de los casos nuevos aparecen en seis países: Afganistán, Argelia, Brasil, Colombia, República Islámica de Irán y República Árabe Siria (Ver Figura 12). Más del 90 % de los casos de LMC se producen en Brasil, el Estado Plurinacional de Bolivia, Etiopía y Perú (OMS, 2017d).

En 2015, 17 países endémicos en América Latina reportaron 46,082 casos de LC y LMC, de los cuales el 70 % fueron reportados por Brasil (19,395), Colombia (7,541) y Perú (5,459); con la mayor incidencia en Surinam y Nicaragua, Bolivia reportó 2,231 casos. Un total de 1,942 casos (4.21%) de LMC fueron reportados en la región, con el 85.9 % de los casos registrados en Brasil (1,071), Perú (362) y Bolivia (236) (Ver Figura 13). La coinfección LC/VIH ocurrió en 198 casos de diferentes formas cutáneas y mucosas, con 63 casos reportados en Colombia y los demás en Brasil (OPS & OMS, 2017).

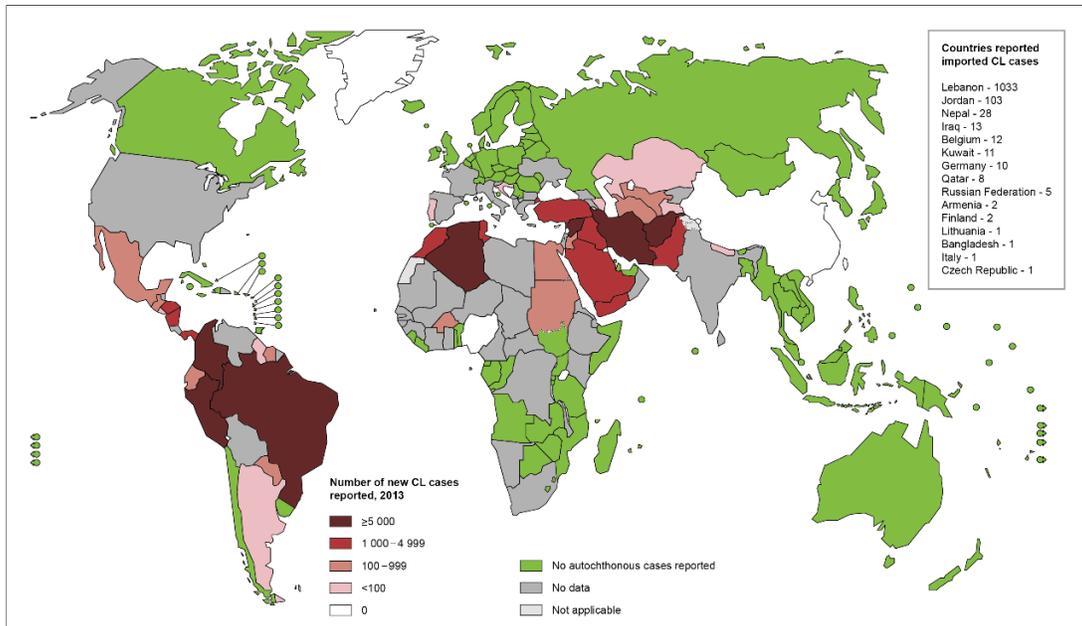


Figura 12: Estado mundial de endemicidad de LC 2012 (OMS, 2013b)

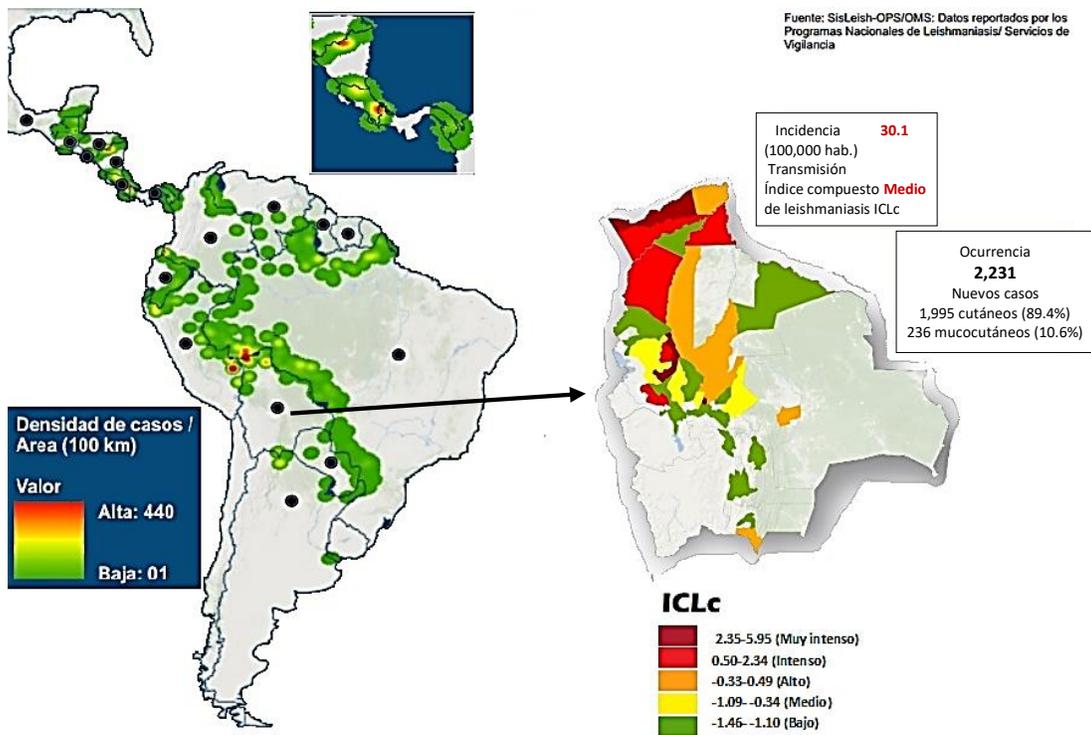


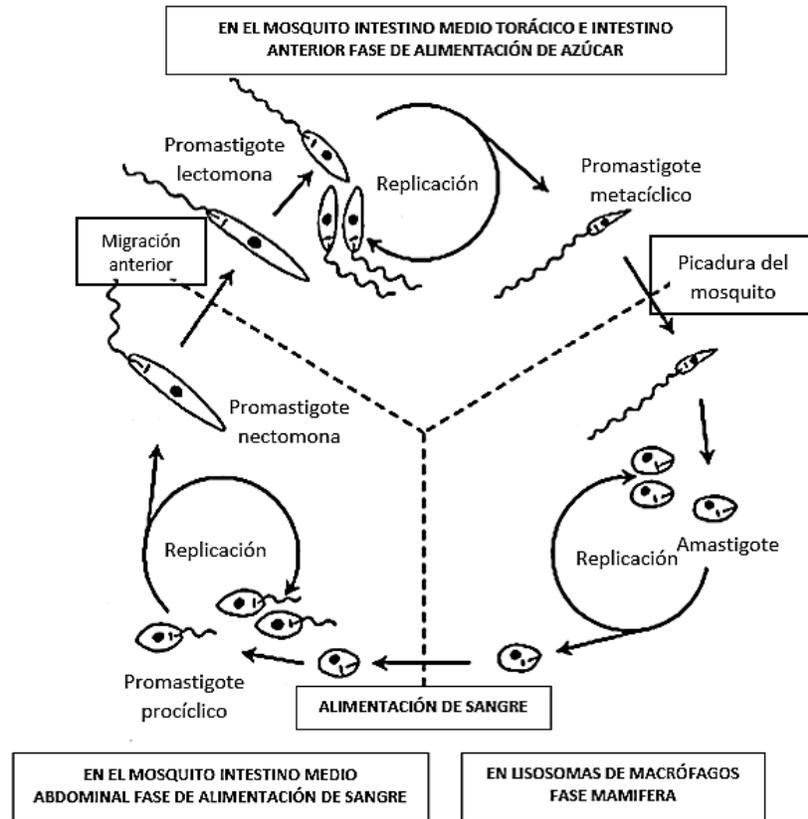
Figura 13: Densidad de casos de LC y LMC en Latinoamérica 2015 (modificado de OPS & OMS, 2017)

### **6.1.1.3. Morfología y Ciclo de vida.**

La morfología de *Leishmania spp.* está determinada por un ciclo de vida complejo, ya que los parásitos están expuestos a diferentes microambientes, sobre todo en el interior del intestino del vector. Estos parásitos son di-genéticos o heteroxenos, con un ciclo de vida dimórfico con formas promastigote extracelular móviles y formas amastigote intracelulares (Li, et al., 2017; Inbar, et al., 2017).

La forma **amastigote** se observa en los tejidos parasitados de los hospederos vertebrados dentro de células del sistema mononuclear fagocitario, donde se desarrollan y multiplican. Son ovoides no flagelados, con un diámetro entre 2-5µm. Estas formas presentan un núcleo central y un kinetoplasto alargado. La forma **promastigote** se desarrolla en el aparato digestivo del flebótomo, se pueden observar en cultivos *in vitro*. Tiene forma alargada, con una longitud de 15-20µm, presenta un flagelo libre en su parte anterior que puede llegar a medir el doble de la longitud del cuerpo del parásito. El kinetoplasto en esta forma se observa como un cuerpo electrodenso en la zona anterior (Ramírez, 2012).

Los promastigotes pasan por varias formas morfológicas distintas extracelulares dentro de los diferentes microambientes del intestino del vector. La transformación de amastigotes en promastigotes dura entre 12 a 18 hr. Según el orden de aparición en la transformación están: los promastigotes procíclicos, división binaria en el intestino medio abdominal (36 a 60 hr tras la ingesta de sangre); nectomonas, sin división, responsables de la migración anterior (60 a 72hr); leptomonas, con división activa en el intestino medio anterior (4 a 7 días); haptomonas (5 a 7 días); y metacíclicos, altamente móviles, sin división, migran a las glándulas salivales del vector, son las responsables de la transmisión de la infección al vertebrado (7 a 14 días) (Ver Figura 14) (Gossage, Rogers, & Bates, 2003; Inbar, et al., 2017).



**Figura 14:** Ciclo de vida de *L. (Leishmania)* en *Lutzomyia longipalpis* (Gossage, et al., 2003).

Durante la alimentación de sangre, los mosquitos hembra (*Phlebotomus spp.* en el viejo mundo y *Lutzomyia spp.* en el nuevo mundo) (Hailu, Yimer, Mulu, & Abera, 2016) infectados, inyectan promastigotes metacíclicos de *Leishmania spp.* en la piel, junto con factores inmunomoduladores y otros diversos componentes salivales; estos son absorbidos por fagocitos en el tejido dérmico, inicialmente por neutrófilos de corta vida, células dendríticas y especialmente macrófagos; los macrófagos también fagocitan los neutrófilos apoptóticos infectados (efferocitosis); en el fagolisosoma de los macrófagos, los promastigotes se transforman en amastigotes aflagelados replicativos (forma responsable de la patogénesis), provocando la lisis celular y la reinfección de otras células; el ciclo se completa cuando otro mosquito ingiere células infectadas durante la alimentación de sangre; dentro del mosquito, los amastigotes se transforman en promastigotes en el intestino posterior/medio; ahí los parásitos se multiplican y se diferencian en promastigotes infecciosos, migrando nuevamente a las glándulas salivales del flebótomo y perpetuando el ciclo de vida (Borghi, et al., 2017).

La respuesta inmune generada durante la infección por *Leishmania spp.* puede conducir a una respuesta inflamatoria exacerbada y, en consecuencia, a las manifestaciones clínicas de la enfermedad como fiebre y daño tisular. Por otra parte, una respuesta inadecuada a la infección contribuye a la susceptibilidad del huésped y a la carga parasitaria (Vermelho, et al., 2017).

#### **6.1.1.4. Diagnóstico.**

El diagnóstico de la enfermedad es esencial para establecer un tratamiento específico y para limitar el progreso de la enfermedad, aliviar los signos y síntomas, y mejorar la calidad de vida de los pacientes. Si no se tratan, las LC y LMC pueden causar deformidad y desfiguración; mientras que la LV puede ocasionar la muerte en más del 90 % de los casos.

**Antecedentes y cuadro clínico:** Se debe considerar a las personas procedentes de zonas endémicas con una enfermedad persistente, fiebre inexplicable y acompañada de signos y síntomas sugestivos. Las manifestaciones clínicas son variables y están relacionadas a la especie de *Leishmania spp.*, el medio ambiente y el sistema inmune (Sánchez-Saldaña, et al., 2004).

**Diagnóstico de laboratorio:** Se realiza mediante pruebas directas o parasitológicas, indirectas o inmunológicas, y moleculares.

Las pruebas parasitológicas se realizan mediante la detección microscópica de amastigotes en frotis o en tejidos infectados por medio del examen directo. También puede realizarse el aislamiento directo de promastigotes de lesiones sospechosas en cultivos *in vitro*, con medio de cultivo apropiado e incubar hasta que los parásitos se multipliquen (OMS, 2012a).

Las pruebas inmunológicas son el método indirecto más utilizado. Se basan en la detección a través de la respuesta inmune celular (intradermorreacción de Montenegro o *Leishmania*), y respuesta inmune humoral a través de anticuerpos específicos desarrollados como consecuencia de la enfermedad (Pruebas de ELISA o Inmuno fluorescencia indirecta (IFI)) (Sánchez-Saldaña, et al., 2004). También están la aglutinación directa (DAT) y las pruebas inmunocromatográficas, que utilizan el antígeno rK39 (en un formato de tira reactiva), han demostrado tener una alta

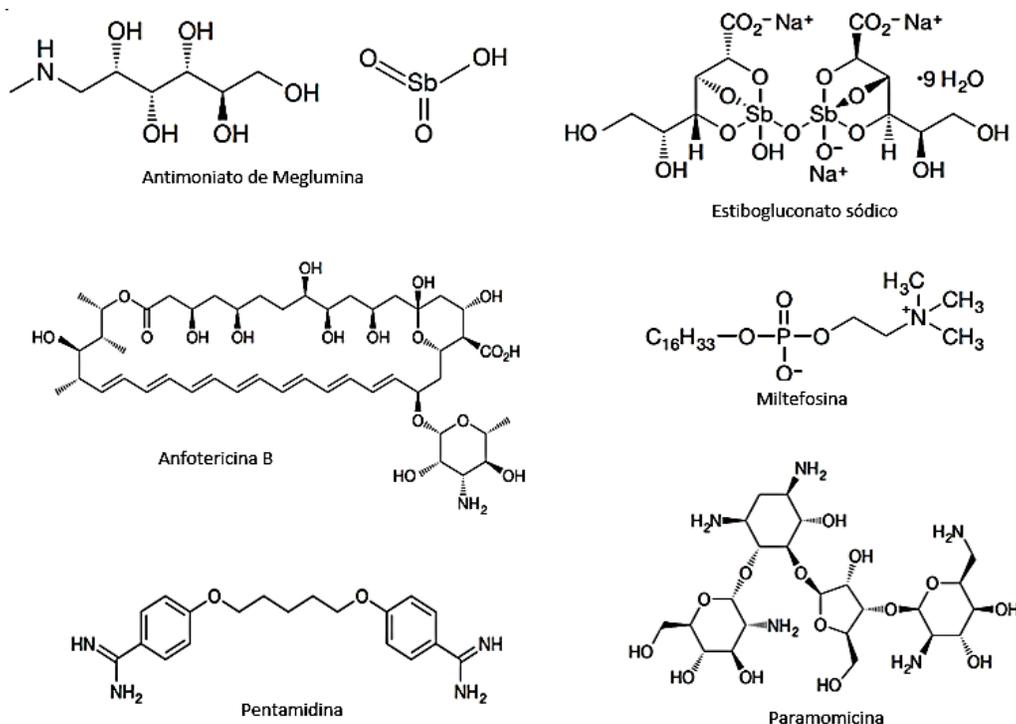
sensibilidad y especificidad y se traducen fácilmente en centros de salud periféricos. Las pruebas serológicas tienen limitaciones ya que los anticuerpos específicos permanecen detectables durante varios años después de la cura, por lo que existe la necesidad de una prueba de antígeno adaptada al campo (Barrett & Croft, 2012).

Pruebas moleculares, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite aislar y caracterizar a la *Leishmania spp.*, es más sensible que el examen microscópico y se ha convertido en la prueba de primera línea en hospitales de referencia y centros de investigación. La PCR cuantitativa permite un diagnóstico preciso en muestras de sangre venosa, con ello se evita la aspiración medular poco sensible, sin embargo, son pruebas más costosas y necesitan equipo y personal capacitado (Sánchez-Saldaña, et al., 2004).

#### **6.1.1.5. Tratamiento.**

El estudio de la biología, la bioquímica y la patogénesis del parásito *Leishmania spp.* ha permitido desarrollar fármacos con blancos de acción específicos, sin embargo, algunos de los fármacos actuales se han vuelto ineficaces en varios países y presentan alta toxicidad. Hasta ahora no se han aprobado vacunas para uso humano; la quimioterapia sigue siendo la principal herramienta para controlar la enfermedad (Vermelho, et al., 2017).

El tratamiento de primera línea para la mayoría de las formas de leishmaniasis siguen siendo los fármacos basados en **antimonio pentavalente** como el antimoniato de meglumina (nombre comercial Glucantime) y el estibogluconato sódico (Pentostam) (Figura 15). Son de uso parenteral, ya sea intravenoso o intramuscular, con efectos secundarios adversos y desarrollo de resistencia. En forma local intralesional tiene efectos menos tóxicos (Hailu, et al., 2016).



**Figura 15:** Drogas utilizadas para leishmaniasis (Field, et al., 2017)

La **Anfotericina B** (Ver Figura 15) (desoxicolato convencional o liposómica) es un agente antifúngico utilizado por vía parenteral, es la segunda línea de tratamiento con altas tasas de curación. Dados los efectos adversos de la forma convencional se empezó a usar la formulación lipídica (AmBisome), favorable en regiones donde la resistencia es común; es más eficaz, con menor toxicidad y mejor distribución tisular (Barberis & Vélez, 2014).

La **Pentamidina**, la **Miltefosina** y la **Paramomicina** completan el arsenal de fármacos actuales aprobados para el tratamiento de la leishmaniasis (Ver Figura 15). La **Pentamidina** (Pentacrinat y Pentam) es una diamidina aromática, con vía de administración parenteral para LC y LMC (McGwire & Satoskar, 2014). La **Miltefosina** (Impavido y Miltex) es análogo sintético de la fosfatidilcolina, originalmente investigado como un agente antineoplásico, con actividad antiprotozoaria, antiviral e inmunomoduladora. Es la “única” droga de administración oral para la LV, aunque también se vio su eficacia en LC, este fármaco es bien tolerado con efectos adversos de origen gastrointestinal, contraindicado en el embarazo por ser teratogénico (Barberis & Vélez, 2014; McGwire & Satoskar, 2014). En estudios realizados en Bolivia para la LMC causada por *L.*

*braziliensis* se observó una tasa de curación para la Miltefosina de hasta el 88% en seis meses de tratamiento (Soto, et al., 2008). Finalmente, el aminoglucósido **Paromomicina**, antibiótico de amplio espectro, puede administrarse por vía intravenosa o tópica, haciéndola adecuada para el tratamiento de los casos LV y LC como ungüento o crema, no está indicada en los casos de LMC (Rodrigues, et al., 2015).

En general todos estos medicamentos han demostrado resultados notables en la matanza de los parásitos, pero su uso es limitado debido a: la vía de administración que requiere hospitalización con largos periodos de tratamientos; las resistencias cada vez más frecuentes; las diferentes especies de *Leishmania spp.*; elevados costos; inaccesibilidad a los tratamientos; los efectos tóxicos y adversos que pueden ser desde leves hasta muy severos (náuseas, vómitos, diarrea, gusto metálico, dolor abdominal, fiebre, escalofríos, cefalea, rash, intolerancia, artralgias, mialgias, hipoglucemia, cardiotoxicidad, neurotoxicidad, elevación de la enzimas hepáticas y pancreáticas, anomalías electrolíticas, nefrotoxicidad, ototoxicidad, pancitopenia, inestabilidad vestibular); algunos son teratogénicos y de categoría B y C para el embarazo y la lactancia; llevando a la interrupción de los tratamientos (Barberis & Vélez, 2014; McGwire & Satoskar, 2014; Vermelho, et al., 2017).

Otros fármacos para la LV son el Oxaborol DNDi-6148 y el Nitroimidazol DNDi-0690 los cuales se encuentran en fase preclínica, y en estudios clínicos fase 1 se encuentra una combinación de Fexinidazol-Miltefosina (Ver Figura 16) (Field, et al., 2017).



**Figura 16:** Estructura química del Fexinidazol (Bahia, et al., 2012)

### **6.1.2. Síntesis de fármacos a partir de plantas.**

Las tres principales vías de obtención de fármacos son actualmente la naturaleza, la síntesis química y la biotecnología que permite el hallazgo de moléculas mediante técnicas de ingeniería genética. Una revisión desde 1981 sugiere que, de 847 fármacos basados en moléculas pequeñas, 43 eran productos naturales, 232 derivados de productos naturales y semisintéticos; y 572 moléculas sintéticas, sin embargo, 262 de estas tenían un farmacóforo inspirado en un producto natural o eran análogos de productos naturales. En el área del cáncer los productos naturales siguen produciendo un gran impacto, de los 155 fármacos anticancerosos desarrollados desde 1940, solo el 27% no pertenecían a productos naturales, y el 47% eran producto natural o una derivación directa de los mismos (Schmidt, et al., 2008). Entre 2000-2006, 26 productos naturales derivados de plantas estaban en alguna etapa de desarrollo en drogas, en 2005 los medicamentos derivados de plantas se vendieron por un valor estimado de \$18 billones (Lachance, Wetzel, Kumar, & Waldmann, 2012).

### **6.1.3. Género *Galipea*.**

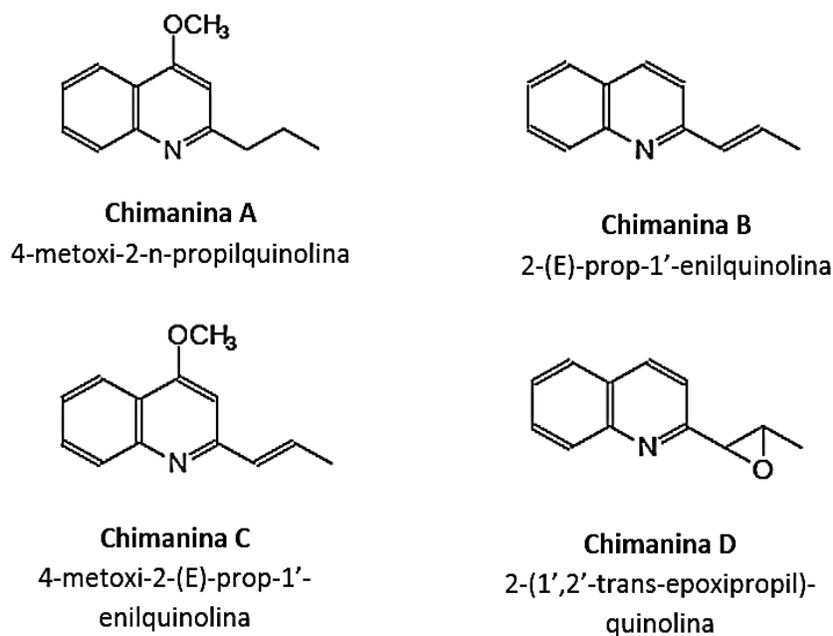
*Galipea* es un género de la familia Rutaceae, con aproximadamente 60 especies indexadas, de las cuales la mitad aproximadamente se encuentran distribuidas en centro América y América del sur, desde Panamá hasta el sur de la amazonia de Brasil y el noreste de Bolivia. En Bolivia la especie *G. longiflora* Krause (sinónimo *Angostura longiflora* (Krause) Kallunki) es empleada por las étnicas Tacana, Mosekene y Tsimane y conocida por los Tacana como Evanta o Yuruma Huana Epuna, se la encuentra en los bosques tropicales con elevada humedad (entre 350 – 600 msnm) de los departamentos de La Paz y Beni. Es un árbol de hasta 12 m de altura, con hojas trifoliadas alternas o superpuestas sobre la misma rama con un peciolo frecuentemente alado, sus flores aparecen en forma de racimos.

Para el tratamiento de la leishmaniasis, la gente de la etnia Tacana utiliza la corteza de Evanta bien seca y pulverizada, aplicándola como cataplasma directamente sobre la úlcera, además de beber decocciones de la misma durante tres días. En forma de decocción es utilizado para diarreas

causadas por parásitos intestinales y como fortificante para niños y adultos (Quenevo, Bourdy, & Giménez, 1999).

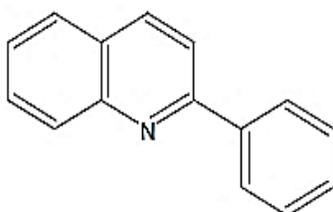
### 6.1.3.1. Estudios de *Galipea longiflora* (Krause) Kallunki.

En los años 1985-1991 un grupo de investigadores Franco-Boliviano, confirmó la actividad antiparasitaria de la Evanta, planta medicinal utilizada por el pueblo Tsimane (Fournet, 1991; Fournet, et al., 1994). Se estudió la composición química de la *G. longiflora*, centrándose en los productos responsables de la actividad antiparasitaria de la corteza de tronco, de raíz y hojas, aislándose e identificándose 13 alcaloides quinolínicos de los cuales 4 eran nuevas moléculas, a las que llamaron Chimanina A, B, C y D quinolinas 2-sustituidas por una cadena de propilo (Ver Figura 17). Debido a la eficacia demostrada en modelos *in vitro* contra diferentes especies de *Leishmania spp.* y clones de *T. cruzi* además de presentar baja toxicidad determinada en modelos *in vivo* fueron patentadas (Fournet, Vagneur, Richomme, & Bruneton, 1989; Fournet, et al., 1993a, 1993b), sin resultados tangibles hasta la fecha.



**Figura 17:** Estructuras de las Chimaninas (Fournet, et al., 1993b)

Fournet et al. (1994) observaron que la 2-fenilquinolina (2FQ) alcaloide mayoritario de *G. longiflora*, se encuentra en un 48% del total del extracto crudo de alcaloides en corteza de tronco, 67% en corteza de raíz y 29% en hojas. La 2FQ presentó actividad leishmanicida en modelos *in vivo* en ratones BALB/c reduciendo la severidad de las lesiones cutáneas (Ver Figura 18).



**Figura 18:** Estructura química de la 2FQ

La Evanta ha sido extensamente estudiada en el IIFB-UMSA desde 1993, seleccionada de entre más de 800 extractos evaluados *in vitro*, de donde se obtuvieron los Alcaloides Totales de Corteza (CAT) de Evanta. Se realizaron estudios químicos con diferentes métodos de extracción además del aislamiento y caracterización de alcaloides quinolínicos de la corteza y hojas de Evanta (Espinoza, 2011; Giménez, et al., 2005; Llanos, et al., 2009; Ticona, 2008).

Se demostró la actividad leishmanicida de CAT contra diferentes cepas de *Leishmania spp.* en promastigotes (Giménez, et al., 2005) y en amastigotes axénicos; tripanocida frente a epimastigotes de *T. cruzi*; actividad contra *Plasmodium falciparum* (Salamanca, 2008); amebicida contra *Acanthamoeba castellanii* y *A. polyfaga* (Salamanca, et al., 2013); actividad antibacteriana (Rodríguez, 1999, 2001); y actividad gastroprotectora tanto de CAT como de 2FQ (Zanatta, et al., 2009), se estudió el mecanismo gastroprotector y las propiedades antisecretoras de la 2FQ (Breviglieri, et al., 2017). Se reportó un efecto antinociceptivo de CAT y 2FQ en ratones (Campos-Buzzi, et al., 2010).

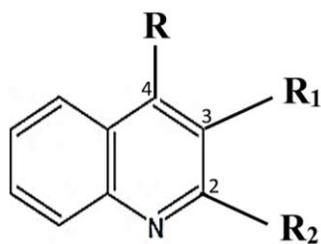
Se desarrollaron formulaciones farmacéuticas tópicas, emulsión crema y lipogel al 5 % (Rodríguez, 2006) y orales al 1.2, 2 y 5 % de CAT (Ticona, 2008); demostrándose buena eficacia, con cerca del 70 % de curación en pacientes con LC en el Hospital de Palos Blancos (Magariños, 2012) y en la eliminación de parásitos intestinales (Limachi, 2013), respectivamente.

Se llevaron a cabo, estudios pre-clínicos del extracto crudo de corteza de Evanta, mediante modelos toxicocinéticos en ratones BALB/c y ratas Wistar de los parámetros farmacocinéticos pruebas de toxicidad aguda (Rodríguez, 2001) y subcrónica, además pruebas hematológicas e histopatológicas, evidenciándose que el extracto no presenta toxicidad por vía oral. El CAT tampoco presentó toxicidad aguda en modelos *in vivo* en ratones Swis albinos por vía oral (Herrera, 2008). Se evidenció ausencia de genotoxicidad directa e indirecta, así como de actividad pro-mutagénica, en *Drosophila melanogaster* (Mamani, Gonzales, Pillco, Giménez, & Gonzales, 2006). En pruebas gastroprotectoras en modelos *in vivo* se observó que la 2FQ no presenta citotoxicidad (Breviglieri, et al., 2017).

Se realizaron sistemas de cultivo semi-continuo y en suspensión de células de Evanta, obteniéndose callos friables, para incrementar el contenido de alcaloides (Guarachi, et al., 2008a; Guarachi M. , Paz, Terrazas, & Giménez, 2008b; Paz, Vázquez, Chuqui, Sauvain, & Giménez, 2007).

En estudios inmunológicos se vio que el CAT puede contribuir a controlar la reacción inflamatoria crónica, debido a una reducción de la proliferación celular *in vitro* e *in vivo* de células T (Calla-Magarinos, Giménez, Troye-Blomberg, & Fernández, 2009; Calla-Magariños, Fernández, Troye-Blomberg, & Freysdottir, 2013a; Calla-Magariños, et al., 2013b). Pruebas en macrófagos murinos mostraron que la capacidad infectiva de promastigotes y amastigotes de *L. braziliensis* se ve reducida en presencia de CAT (Quispe, 2012).

La exploración sistemática de la relación estructura-actividad de los productos naturales ha llevado a una variedad de esfuerzos semisintéticos, donde los farmacóforos naturales definidos proporcionaron un pedestal para la manipulación sintética y se aprovecharon para mejorar el potencial del compuesto (Nagle, et al., 2014). Es así que, en este capítulo diferentes compuestos fueron derivatizados sintéticamente de la cabeza de serie 2FQ (Ver Figura 19), para su análisis biológico *in vitro* frente a diferentes cepas de *Leishmania spp.* en busca de un mejor leishmanicida (Ver Anexo 7).



**Figura 19:** Diferentes derivatizaciones en la 2FQ

## 6.2. Resultados y Discusiones

En este capítulo se realizaron evaluaciones biológicas *in vitro* de 23 derivados sintéticos de la 2-fenilquinolina (cabeza de serie) contra promastigotes de *L. (L.) amazonensis* (Lma), *L. (L.) aethiopica* (L.ae), *L. (V.) braziliensis* (M2904 y L.bG, cepa nativa) y *L. (V.) lainsoni* (L.lan, cepa nativa) y células HeLa; para determinar su actividad leishmanicida y citotóxica, los valores obtenidos fueron comparados con los de la cabeza de serie.

### 6.2.1. Compuestos sintéticos.

En la Tabla 11 a continuación, se encuentran los compuestos sintéticos con sus fórmulas y pesos moleculares, los cuales fueron obtenidos y proporcionados por Ivan Limachi durante su proceso de doctorado en la Universidad de Lund, Suecia. Incluye a Miltefocina y Anfotericina B drogas de referencia utilizadas en este trabajo. La SQ1 (2FQ sintética), es la cabeza de serie.

**Tabla 11:** Descripción de los compuestos sintéticos. C.S = Cabeza de serie; C = Control

N°	Código	Fórmula Molecular	Peso Molecular	N°	Código	Fórmula Molecular	Peso Molecular
<b>C.S</b>	SQ1	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> N	205.25	<b>13</b>	SQ20	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	229.28
<b>1</b>	SQ2	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> N	219.28	<b>14</b>	SQ21	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	291.35
<b>2</b>	SQ3	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> NO	235.29	<b>15</b>	SQ22	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> N	185.27
<b>3</b>	SQ5	C <sub>21</sub> H <sub>15</sub> N	281.35	<b>16</b>	SQ23	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N	199.3
<b>4</b>	SQ6	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO	249.31	<b>17</b>	SQ24	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> N	264.37
<b>5</b>	SQ9	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> NO	311.38	<b>18</b>	SQ33	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO	249.31
<b>6</b>	SQ13	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	265.31	<b>19</b>	SQ34	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> NO	311.38
<b>7</b>	SQ14	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	279.33	<b>20</b>	SQ35	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> NO	235.29
<b>8</b>	SQ15	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>2</sub>	341.4	<b>21</b>	SQ39	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> NO	311.38
<b>9</b>	SQ16	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	201.23	<b>22</b>	SQ43	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> NO	235.28
<b>10</b>	SQ17	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	215.25	<b>23</b>	SQ44	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> NO	221.2
<b>11</b>	SQ18	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	277.32	<b>C</b>	Miltefosina	C <sub>21</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>4</sub> P	407.568
<b>12</b>	SQ19	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	215.25	<b>C</b>	Anfo B	C <sub>47</sub> H <sub>73</sub> NO <sub>17</sub>	924.079
<b>Peso molecular [g/mol]</b>							

### 6.2.2. Actividad Leishmanicida y Citotóxica *In Vitro*.

De una bioprospección anterior se eligió a la Evanta, especie medicinal antiparasitaria utilizada por distintas etnias en la amazonia boliviana. De esta se aisló la 2FQ (alcaloide mayoritario) y se la derivatizó para ver si es fuente o no de mejores antiparasitarios, evaluándose 23 derivados sintéticos y la 2FQ tanto natural como sintética (SQ1), contra las 5 cepas de *Leishmania spp.* antes mencionadas (Ver Anexo 7).

Es sabido que tanto el pronóstico como el tratamiento de la leishmaniasis depende de la especie involucrada en la enfermedad, esto debido a que hay diferencias en la sensibilidad de las especies (Minodier & Parola, 2007). Durante este estudio la especie más susceptible fue *L. braziliensis*, lo cual fue reportado también por Antinarelli, et al. (2015), otros autores informaron diferencias en la sensibilidad de las especies de *Leishmania spp.* a diferentes drogas de referencia, incluyendo antimoniales pentavalentes (Tempone, et al., 2011); Anfotericina B (Fabri, et al., 2012); Miltefosina (de Morais-Teixeira, et al., 2011) y extractos vegetales crudos o purificados (Braga, et al., 2007).

Por lo tanto, se esperaba una sensibilidad diferente de estos parásitos a los compuestos ensayados, lo que dificulta el análisis general. Para facilitar e interpretar mejor el efecto global, planteamos el cálculo de la actividad leishmanicida media (ML), un valor promedio de las  $CI_{50}$  frente a todas las cepas de *Leishmania spp.*, como un indicador general para entender si hemos mejorado la actividad biológica y algunos otros parámetros en función a la cabeza de serie, obteniendo o no mejores leishmanicidas. Así, por ejemplo, los resultados obtenidos para las drogas patrón en este estudio muestran un comportamiento heterogéneo contra las diferentes cepas. Al calcular la ML para Miltefosina se obtuvo un valor de  $18.7 \pm 11.0 \mu\text{M}$  y  $0.12 \pm 0.05 \mu\text{M}$  para Anfotericina B (Ver Tabla 12).

**Tabla 12:** Actividad biológica de las drogas control contra todas las cepas de *Leishmania spp.*

Código	Lma	L.ae	M2904	L.bG	L.lan	ML
	CI <sub>50</sub> μM					
Milte	22.1±3.7	6.1±0.2	18.8±4.4	37.4±6.8	9.2±0.02	18.7±11.0
Anfo B	0.22±0.05	0.11±0.06	0.11±0.05	0.06±0.01	0.11±0.06	0.12±0.05

De igual forma se observó diferencias en la sensibilidad de las distintas cepas a la 2FQ natural y sintética, obteniéndose una ML de 119.9 μM para la natural (2FQ) y de 126.4 μM para la SQ1, con una variación de error del 5%, mostrando un comportamiento general semejante (Ver Tabla 13).

**Tabla 13:** Actividad biológica contra las cepas de *Leishmania spp.* de 2FQ y SQ1, con la ML

Código	Lma	L.ae	M2904	L.bG	L.lan	ML
	CI <sub>50</sub> μM					
SQ1	174.3±43.9	68.7±23.5	149.5±71.6	94.7±4.4	144.8±43.8	126.4±38.7
2FQ	115.6±23.5	123.9±42.4	129.6±35.0	106.7±40.1	123.9±30.6	119.9±8.0

Al tratarse de compuestos sintéticos, los resultados serán comparados con la SQ1, considerándose mejor compuesto a aquel que tenga un valor de ML menor a 126.4 μM.

De los 23 derivados sintéticos 12 dieron una mejor ML lo que representa el 52.2% (Ver Tabla 14), estos serán el foco de atención en el posterior análisis, y 11 compuestos presentaron una ML superior a la de SQ1 (Ver Anexo 7 y 8).

Además, se calculó un Índice de Actividad Leishmanicida (IAL) (Legarda-Ceballos, et al., 2015) dividiendo el valor de la ML de SQ1 entre las ML de los diferentes compuestos para ver cuántas veces mejoraron en relación al SQ1. El compuesto más potente fue el SQ34 con una ML de 13.1±4.1 μM y un IAL de 9.6 respecto a la SQ1. Seguido por el SQ15, que mejoró en un factor de 6.3 veces con una ML = 20.2±5.0 μM próximo a la Miltefosina; y el SQ39 con un IAL

de 4.8 y una ML =  $26.4 \pm 1.6 \mu\text{M}$ . El SQ13 fue el compuesto con la menor mejora, con una ML =  $106.6 \mu\text{M}$  y un IAL de 1.2 (Ver Tabla 14).

**Tabla 14:** Compuestos que mejoraron su ML en relación a la SQ1

N°	Código	ML	IAL
		CI <sub>50</sub> $\mu\text{M}$	(SQ1/SQ)
	SQ1	$126.4 \pm 38.7$	1.0
1	SQ34	$13.1 \pm 4.1$	9.6
2	SQ15	$20.2 \pm 5.0$	6.3
3	SQ39	$26.4 \pm 1.6$	4.8
4	SQ9	$27.3 \pm 5.9$	4.6
5	SQ5	$37.5 \pm 5.2$	3.4
6	SQ21	$46.8 \pm 19.8$	2.7
7	SQ18	$49.8 \pm 13.6$	2.5
8	SQ2	$52.8 \pm 12.5$	2.4
9	SQ43	$56.7 \pm 16.8$	2.2
10	SQ33	$61.5 \pm 16.9$	2.1
11	SQ14	$62.6 \pm 39.0$	2.0
12	SQ13	$106.6 \pm 44.5$	1.2
	Milte	$18.7 \pm 11.0$	6.8
	Anfo B	$0.12 \pm 0.05$	1053.3

Posteriormente se realizaron pruebas de citotoxicidad contra células HeLa y se calcularon los valores de IS. Algunos autores manejan valores de  $\text{IS} > 6$  para antiparasitarios en compuestos sintéticos (Leal, et al., 2013), para los cuales el valor de IS de la SQ1 sería tóxico. En Bolivia se ha usado la Evanta en tratamientos de LC en humanos. Se sabe que funciona y no se reportaron efectos colaterales o reacciones adversas. Además, *Leishmania spp.* es un parásito intracelular obligado; cualquier leishmanicida prometedor deberá pasar primero por la célula antes de llegar al parásito (Sánchez, 2011).

El valor de  $\text{DL}_{50}$  para SQ1 fue  $> 400 \mu\text{M}$ , lo que indica que este compuesto no es citotóxico para HeLa, con un  $\text{IS} > 3.2$ , por lo tanto, un IS alrededor de 3 para este estudio es aceptado. Los compuestos que tengan tanto una mejor ML como IS son considerados mejores leishmanicidas que la cabeza de serie SQ1 (Ver Tabla 15).

**Tabla 15:** Resultados de los compuestos más activos con IS

N°	Código	ML	HeLa	I.S.
		CI <sub>50</sub> $\mu$ M	DL <sub>50</sub> $\mu$ M	
	SQ1	126.4 $\pm$ 38.7	>400	>3.2
1	SQ34	13.1 $\pm$ 4.1	34.2 $\pm$ 11.2	2.6
2	SQ15	20.2 $\pm$ 5.0	54.6 $\pm$ 10.4	2.7
3	SQ39	26.4 $\pm$ 1.6	67.4 $\pm$ 28.6	2.6
4	SQ9	27.3 $\pm$ 5.9	>400	>14.7
5	SQ5	37.5 $\pm$ 5.2	>400	>10.7
6	SQ21	46.8 $\pm$ 19.8	58.3 $\pm$ 13.4	1.2
7	SQ18	49.8 $\pm$ 13.6	132.9 $\pm$ 10.3	2.7
8	SQ2	52.8 $\pm$ 12.5	149.0 $\pm$ 25.5	2.8
9	SQ43	56.7 $\pm$ 16.8	114.1 $\pm$ 24.6	2.0
10	SQ33	61.5 $\pm$ 16.9	174.8 $\pm$ 49.4	2.8
11	SQ14	62.6 $\pm$ 39.0	>400	>6.4
12	SQ13	106.6 $\pm$ 44.5	323.0 $\pm$ 26.8	3.0
	Milte	18.7 $\pm$ 11.0	44.4 $\pm$ 14.1	2.4
	Anfo B	0.12 $\pm$ 0.05	38.2 $\pm$ 16.5	381.5

Tanto la SQ1 (2-fenilquinolina) como la SQ43 (4-metoxi 2-fenilquinolina) son alcaloides que se encuentran en la planta *G. longiflora* en forma natural (Ver Figura 20). El SQ43 es más activo en un factor de 2.2 veces que la SQ1, sin embargo, más citotóxico con un IS = 2.0.

Se planteó sustituir el protón de la SQ1 en la posición 4 por un grupo metilo (SQ2) observándose una mejora semejante a la SQ43 con relación a la SQ1, con un factor de 2.4 veces, sin embargo, aún es un compuesto citotóxico con un IS de 2.8. Al sustituir el protón por un fenilo (SQ5) en la posición 4 la actividad mejora mucho más con un IAL de 3.4 y un IS>10.7. El cambio de protón por fenilo vuelve al compuesto más potente y más selectivo, convirtiéndolo en mejor leishmanicida (Ver tabla 15 y Figura 20).

Posteriormente se insertó un grupo metoxilo en el fenilo de la posición 2 esto aumentó la actividad incluso por encima de la del SQ5, también se observó que la posición del metoxilo (para-SQ9, orto-SQ34 o meta-SQ39) influye en la mejora de la actividad. La sustitución en “orto” incrementa la actividad 9.6 veces con relación a la SQ1; y en posición para o meta

aumenta en aproximadamente 5 veces. Sin embargo, no parece haber una mejora significativa en cuanto a la citotoxicidad en los compuestos SQ34 y SQ39. La sustitución en la posición “para” (SQ9) mejoró 5 veces tanto la actividad como la selectividad, convirtiéndolo en el mejor compuesto leishmanicida. De los 12 compuestos seleccionados el SQ9 fue el más selectivo con el valor más alto de  $IS > 14.7$  (Ver Tabla 15 y Figura 20).

En los análogos con metilo en la posición 4 se pudo apreciar mejor el hecho de que la posición del metoxilo (para-SQ6 y orto-SQ33) en el fenilo de la posición 2 hace que haya una diferencia de actividad entre los compuestos. El SQ6 (equivalente al SQ9) fue inactivo con una ML de  $217.7 \pm 56.7 \mu\text{M}$  y presentó citotoxicidad con un  $IS = 1.3$  (Ver Anexo 7 y 8), siendo un peor compuesto en relación a SQ1. El SQ33 (homólogo del compuesto más potente el SQ34) tuvo una mejora en la actividad con un IAL de 2.1 veces en relación al SQ1, pero mucho más débil que SQ34, y fue tan citotóxico como el SQ34. Esto nos muestra que la inserción de metilo en posición 4 disminuye la actividad, lo contrario al insertar un fenilo incrementa la actividad lo cual es importante para llegar a mejores compuestos antiparasitarios (Ver Tabla 15 y Figura 20).

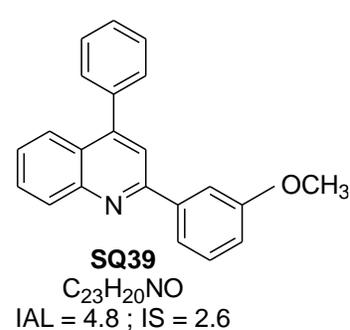
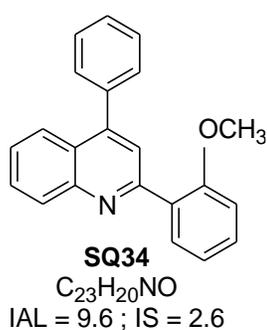
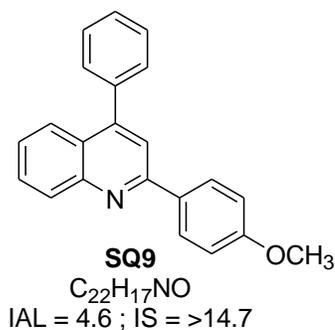
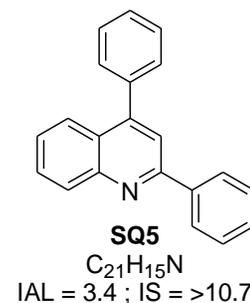
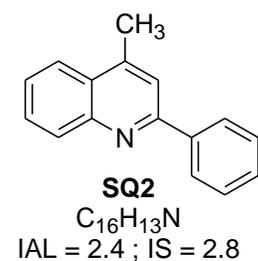
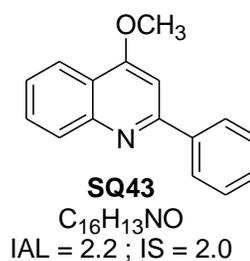
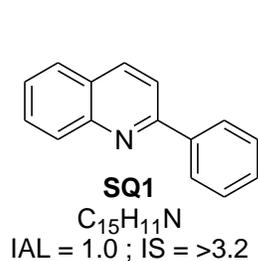
Al insertar 2 grupos metoxilo en posición di-orto en el fenilo de la posición 2, se pudo observar en SQ15 una buena actividad con un  $IAL = 6.3$ , pero menor en relación a SQ34 que tiene un solo grupo metoxilo, y con similar citotoxicidad. El SQ14 se volvió 2 veces más activo y 2 veces menos citotóxico, o sea que cuando reemplazamos el fenilo de la posición 4 por metilo y se tienen 2 metoxilos en posición di-orto del otro anillo, se mejora el IS, pero disminuye la actividad biológica (Ver Tabla 15 y Figura 20).

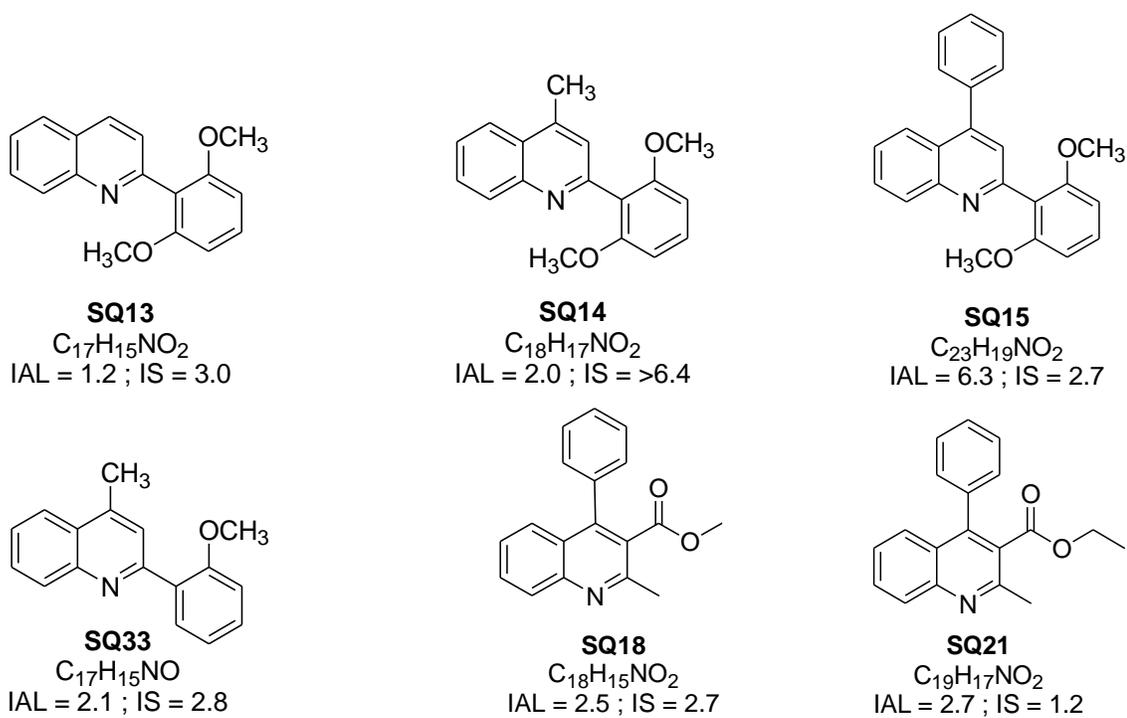
Los compuestos 2, 3 sustituidos fueron inactivos (Ver anexo 7 y 8). De los compuestos 2, 3, 4 sustituidos, los con fenilo en posición 4 (SQ18 y SQ21) fueron activos (Ver Figura 20).

Varios derivados de quinolina aislados de recursos naturales o preparados sintéticamente son significativos con respecto a la química médica y el uso biomédico mostrando diversas actividades como antitumoral (Bassyouni, Abu-Baker, Mahmoud, & Moharam, 2014; Caprio, et al., 2000; Mikata, et al., 1998); antifúngica (Kouznetsov, et al., 2012; Musiol, et al., 2006; Vargas, et al., 2003); antimicrobiana (Eswaran, Adhikari, & Shetty, 2009; Musiol, Magdziarz, &

Kurczyk, 2011; Narender, et al., 2006); antituberculosa (Nayyar, Monga, Malde, Coutinho, & Jain, 2007; Senthilkumar, et al., 2009) antipalúdica (Franck, et al., 2004; Mullié, et al., 2014); anticonvulsiónante (Guo, Wei, Jia, Zhao, & Quan, 2009; Muruganatham, Sivakumar, Anbalagan, Gunasekaran, & Leonard, 2004); y antiinflamatoria (Calhoun, et al., 1995; Clemence, et al., 1988) entre otras.

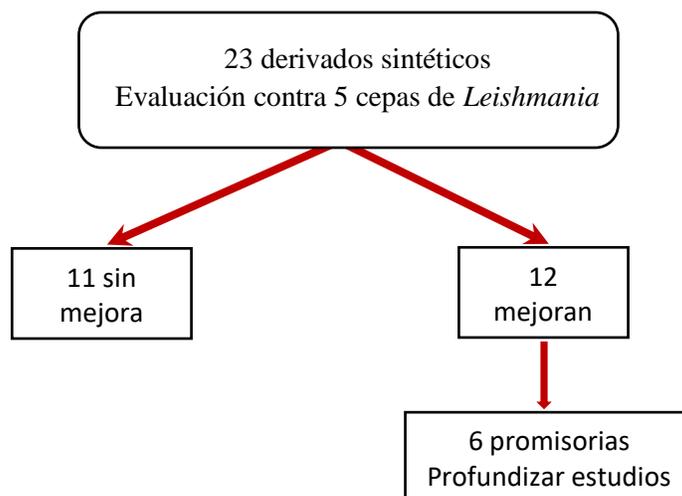
Hay varios reportes de actividad leishmanicida de quinolinas 2 sustituidas: contra promastigotes de *L. donovani* (Desrivot, et al., 2007; Vieira, et al., 2008); 6-etil-2-fenilquinolina contra amastigotes de *L. braziliensis* (Bompart, et al., 2013); y contra promastigotes y amastigotes de *L. amazonensis* (Coimbra, et al., 2016), y en modelos *in vivo* (Fournet, et al., 1996).





**Figura 20:** Estructura química de los derivados sintéticos más activos

### 6.3. Conclusiones



Para los 23 derivados sintéticos se calculó el Índice de Actividad Leishmanicida (IAL) para ver la mejora en relación a la 2-fenilquinolina (SQ1) cabeza de serie, 12 compuestos mejoraron la actividad, lo que representa el 52.2 %; siendo los tres compuestos más importantes el SQ34 con un IAL de 9.6 y un IS de 2.6; el SQ15 con un IAL de 6.3 y un IS de 2.7; y el SQ39 con un IAL de 4.8 y un IS de 2.6. Por lo general, las quinolinas activas fueron las 2,4-sustituídas, y principalmente las con fenilo en la posición 4. La mayoría de las sustituciones 2,3 y 2,3,4 dieron compuestos inactivos.

Sobre la base del Índice de Selectividad (IS) fueron elegidos otros 3 compuestos (13 %) que mejoraron también su actividad, pero sobre todo su selectividad: el SQ5 con un IAL de 3.4 y un IS > 10.67; el SQ9 con un IAL = 4.6 y un IS > 14.65; y el SQ14 con un IAL de 2 y un IS > 6.4.

Se recomienda realizar estudios más profundos con estas 6 moléculas en amastigotes intracelulares y en modelos *in vivo*; así como, estudios en cuanto a sus posibles mecanismos de acción, farmacocinética y farmacodinamia, debido a que son moléculas prometedoras para el tratamiento de las leishmaniasis.

## **7. Referencias Bibliográficas**

- Abdullah, Y., Schneider, B., & Petersen, M. (2008). Occurrence of rosmarinic acid, chlorogenic acid and rutin in Marantaceae species. *Phytochemistry Letters*, 1(4), 199-203. doi:10.1016/j.phytol.2008.09.010
- Ahmed, M., & Jakupovic, J. (1990). Diterpenoids from *Scoparia Dulcis*. *Phytochemistry*, 29(9), 3035-3037. doi:10.1016/0031-9422(90)87133-F
- Ahsan, M., Haque, M. R., Islam, S., Gray, A. I., & Hasan, C. M. (2012). New labdane diterpenes from the aerial parts of *Scoparia dulcis* L. *Phytochemistry Letters*, 5(3), 609-612. doi:10.1016/j.phytol.2012.06.005
- Ahsan, M., Islam, S. K., Gray, A. I., & Stimson, W. H. (2003). Cytotoxic diterpenes from *Scoparia dulcis*. *Journal of Natural Products*, 66(7), 958-961. doi:10.1021/np020356j
- Aly, A. A. (2010). Biosynthesis of phenolic compounds and water soluble vitamins in culantro (*Eryngium foetidum* L.) plantlets as affected by low doses of gamma irradiation. *Analele Universitatii din Oradea - Fascicula Biologie*, 17(2), 356-361. Obtenido de [http://www.researchgate.net/publication/49584396\\_Biosynthesis\\_of\\_phenolic\\_compounds\\_and\\_water\\_soluble\\_vitamins\\_in\\_culantro\\_Eryngium\\_foetidum\\_L\\_plantlets\\_as\\_affected\\_by\\_low\\_doses\\_of\\_gamma\\_irradiation](http://www.researchgate.net/publication/49584396_Biosynthesis_of_phenolic_compounds_and_water_soluble_vitamins_in_culantro_Eryngium_foetidum_L_plantlets_as_affected_by_low_doses_of_gamma_irradiation)
- Andrade-Narvaez, F. J., Loría-Cervera, E. N., Sosa-Bibiano, E. I., & Van Wynsberghe, N. R. (2016). Asymptomatic infection with American cutaneous leishmaniasis: Epidemiological and immunological studies. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(10), 599-604. doi:10.1590/0074-02760160138
- Antinarelli, L. M., Pinto, N. C., Scio, E., & Coimbra, E. S. (2015). Antileishmanial activity of some Brazilian plants, with particular reference to *Casearia sylvestris*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(2), 733-742. doi:10.1590/0001-3765201520140288
- Babincová, M., Schronerová, K., & Sourivong, P. (2008). Antiulcer activity of water extract of *Scoparia dulcis*. *Fitoterapia*, 79, 587-588. doi:10.1016/j.fitote.2008.05.001
- Bahia, M., de Andrade, I., Martins, T., do Nascimento, Á., Diniz, L. F., Caldas, I., . . . Ribeiro, I. (2012). Fexinidazole: A potential new drug candidate for Chagas disease. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 6(11). doi:10.1371/journal.pntd.0001870
- Barberis, F., & Vélez, I. D. (2014). Opciones terapéuticas para el manejo de la leishmaniasis cutánea americana. *Revista Panamericana de Infectología*, 16(2), 113-122. Obtenido de [http://www.revistaapi.com/wp-content/uploads/2014/09/API-vol-16-n.2\\_mat-F\\_p.113-122.pdf](http://www.revistaapi.com/wp-content/uploads/2014/09/API-vol-16-n.2_mat-F_p.113-122.pdf)
- Barnes, C. J., Maldonado, C., Froslev, T. G., Antonelli, A., & Ronsterd, N. (2016). Unexpectedly high beta-diversity of root-associated fungal communities in the Bolivian Andes. *Frontiers in Microbiology*, 7(1377). doi:10.3389/fmicb.2016.01377
- Barrett, M. P., & Croft, S. L. (2012). Management of trypanosomiasis and leishmaniasis. *British Medical Bulletin*, 104, 175-196. doi:10.1093/bmb/lds031

- Bassyouni, F. A., Abu-Baker, S. M., Mahmoud, K., & Moharam, M. (2014). Synthesis and biological evaluation of some new triazolo[1,5-a]quinoline derivatives as anticancer and antimicrobial agents. *Royal Society of Chemistry Advances*, 4, 24131–24141. doi:10.1039/C3RA46961A
- Bello Corassa, R., Aceijas, C., Brito Alves, P. A., & Garelick, H. (2016). Evolution of Chagas' disease in Brazil. Epidemiological perspective and challenges for the future: a critical review. *Perspectives in Public Health*. doi:10.1177/1757913916671160
- Bilbao-Ramos, P., Dea-Ayuela, M. A., Cardenas-Alegría, O., Salamanca, E., Santalla-Vargas, J. A., Benito, C., . . . Bolás-Fernández, F. (2017). Leishmaniasis in the major endemic region of Plurinational State of Bolivia: species identification, phylogeography and drug susceptibility implications. *Acta Tropica*, 176, 150-161. doi:10.1016/j.actatropica.2017.07.026
- Blunden, G., Yanga, M.-h., Janicsáka, G., Máthéa, I., & Carabot-Cuervo, A. (1999). Betaine distribution in the Amaranthaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27(1), 87-92. doi:10.1016/S0305-1978(98)00072-6
- Bompart, D., Núñez-Durán, J., Rodríguez, D., Kouznetsov, V. V., Meléndez Gómez, C. M., Sojo, F., . . . García-Marchán, Y. (2013). Anti-leishmanial evaluation of C2-aryl quinolines: mechanistic insight on bioenergetics and sterol biosynthetic pathway of *Leishmania braziliensis*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21(14), 4426-4431. doi:10.1016/j.bmc.2013.04.063
- Borghi, S. M., Fattori, V., Conchon-Costa, I., Pinge-Filho, P., Pavanelli, W. R., & Verri, W. A. (2017). *Leishmania* infection: painful or painless? *Parasitology Research*, 116(2), 465-475. doi:10.1007/s00436-016-5340-7
- Borra, R., Lotufo, M., Gagiotti, S., Barros, F., & Andrade, P. (2009). A simple method to measure cell viability in proliferation and cytotoxicity assays. *Brazilian Oral Research*, 23(3), 255-262. Obtenido de <http://www.scielo.br/pdf/bor/v23n3/06.pdf>
- Boscardin, S. B., Troccoli Torrecilhas, A. C., Manarin, R., Revelli, S., Gonzalez Rey, E., Rosito Tonelli, R., & Silber, A. M. (2010). Chagas' disease: An update on immune mechanisms and therapeutic strategies. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(6B), 1373-1384. doi:10.1111/j.1582-4934.2010.01007.x
- Bourdy, G., DeWalt, S., Chávez de Michel, L., Roca, A., Deharo, E., Muñoz, V., . . . Gimenez, A. (2000). Medicinal plants uses of the Tacana, an Amazonian Bolivian ethnic group. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(2), 87-109. doi:10.1016/S0378-8741(99)00158-0
- Braga, F. G., Bouzada, M. L., Fabri, R. L., de O. Matos, M., O. Moreira, F., Scio, E., & Coimbra, E. S. (2007). Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 396-402. doi:10.1016/j.jep.2006.12.006

- Breviglieri, E., Mota da Silva, L., Boeing, T., Somensi, L. B., Cury, B. J., Gimenez, A., . . . de Andrade, S. F. (2017). Gastroprotective and anti-secretory mechanisms of 2-phenylquinoline, an alkaloid isolated from *Galipea longiflora*. *Phytomedicine*, *25*, 61-70. doi:10.1016/j.phymed.2016.12.016
- Bussmann, R. W. (2013). The globalization of traditional medicine in northern Peru: from Shamanism to molecules. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi:10.1155/2013/291903
- Calderón, A. I., Romero, L. I., Ortega-Barría, E., Solís, P. N., Zacchino, S., Gimenez, A., . . . Gupta, M. P. (2010). Screening of Latin American plants for antiparasitic activities against malaria, Chagas disease, and leishmaniasis. *Pharmaceutical Biology*, *48*(5), 545-553. doi:10.3109/13880200903193344
- Calhoun, W., Carlson, R. P., Crossley, R., Datko, L. J., Dietrich, S., Heatherington, K., . . . Shepherd, R. G. (1995). Synthesis and antiinflammatory activity of certain 5,6,7,8-tetrahydroquinolines and related compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*, *38*(9), 1473-1481. doi:10.1021/jm00009a008
- Calla-Magarinos, J., Giménez, A., Troye-Blomberg, M., & Fernández, C. (2009). An alkaloid extract of *Evanta*, traditionally used as anti-*Leishmania* agent in Bolivia, inhibits cellular proliferation and interferon-gamma production in polyclonally activated cells. *Scandinavian Journal of Immunology*, *69*(3), 251-258. doi:10.1111/j.1365-3083.2008.02219.x
- Calla-Magariños, J., Fernández, C., Troye-Blomberg, M., & Freysdottir, J. (2013a). Alkaloids from *Galipea longiflora* Krause modify the maturation of human dendritic cells and their ability to stimulate allogeneic CD4<sup>+</sup> T cells. *International Immunopharmacology*, *16*(1), 79-84. doi:10.1016/j.intimp.2013.03.022
- Calla-Magariños, J., Quispe, T., Giménez, A., Freysdottir, J., Troye-Blomberg, M., & Fernández, C. (2013b). Quinolinic alkaloids from *Galipea longiflora* Krause suppress production of proinflammatory cytokines in vitro and control inflammation in vivo upon *Leishmania* infection in mice. *Scandinavian Journal of Immunology*, *77*(1), 30-38. doi:10.1111/sji.12010
- Campos, A. M., Oliveira, F. S., Machado, M. I., Matos, F. J., & Braz-Filho, R. (1991). Triterpenes from *Cedrela odorata*. *Phytochemistry*, *30*(4), 1225-1229. doi:10.1016/S0031-9422(00)95206-3
- Campos-Buzzi, F., Fracasso, M., Clasen, B., Ticona, J., Gimenez, A., & Cechinel-Filho, V. (2010). Evaluation of antinociceptive effects of *Galipea longiflora* alkaloid extract and major alkaloid 2-phenylquinoline. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, *32*(10), 707-711. doi:10.1358/mf.2010.32.10.1516692
- Caprio, V., Guyen, B., Opoku-Boahen, Y., Mann, J., Gowan, S. M., Kelland, L. M., . . . Neidle, S. (2000). A novel inhibitor of human telomerase derived from 10H-indolo[3,2-

- b]quinoline. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 10(18), 2063-2066.  
doi:10.1016/S0960-894X(00)00378-4
- Cardozo, E., Rubio, M., Rojas, L. B., & Usubillaga, A. (2004). Composition of the essential oil from the leaves of *Eryngium foetidum* L. from the Venezuelan Andes. *Journal of Essential Oil Research*, 16(1), 33-34. doi:10.1080/10412905.2004.9698645
- Carniel, N., Dallago, R. M., Dariva, C., Bender, J. P., Nunes, A. L., Zanella, O., . . . Luiz Priamo, W. (2017). Microwave-assisted extraction of phenolic acids and flavonoids from *Physalis angulata*. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3). doi:10.1111/jfpe.12433
- CDC. (2017). *www.cdc.gov*. Obtenido de <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>
- Céspedes, C. L., Calderón, J. S., Lina, L., & Aranda, E. (2000). Growth inhibitory effects on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* of some limonoids isolated from *Cedrela* spp. (Meliaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1903-1908. doi:10.1021/jf990443q
- Chatelain, E. (2017). Chagas disease research and development: Is there light at the end of the tunnel? *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 15, 98-103. doi:10.1016/j.csbj.2016.12.002
- Chatterjee, A., Chakraborty, T., & Chandrasekharan, S. (1971). Chemical investigation of *Cedrela toona*. *Phytochemistry*, 10(10), 2533-2535. doi:10.1016/S0031-9422(00)89902-1
- CIPTA, & CIMPTA. (2014). *Plan de gestión territorial indígena del pueblo Tacana, Kema ejudhes'a jakuastas'iati s'aidha enime (el mandato de mi pueblo para vivir en armonía) 2015-2025. Consejo Indígena de los Pueblos Tacana (CIPTA), Consejo Indígena de Mujeres Tacana (CIMTA) y WSC (1ra edición ed.)*. Tumupasa, La Paz, Bolivia.
- Clemence, F., Le Martret, O., Delevallee, F., Benzoni, J., Jouanen, A., Jouquey, S., . . . Deraedt, R. (1988). 4-Hydroxy-3-quinolinecarboxamides with antiarthritic and analgesic activities. *Journal of Medicinal Chemistry*, 31(7), 1453-1462. doi:10.1021/jm00402a034
- Coaquira, D. (2016). *Fraccionamiento fitoquímico, perfiles cromatográficos por HPLC y actividad biológica de Plantas Tacana (Parte 4)*. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz-Bolivia: (Infome internado rotatorio).
- Cobaleda-Velasco, M., Alanis-Bañuelo, R. E., Almaraz-Abarca, N., Rojas-López, M., González-Valdez, L. S., Ávila-Reyes, J. A., & Rodrigo, S. (2017). Phenolic profiles and antioxidant properties of *Physalis angulata* L. as quality indicators. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 5(2), 114-128. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/311969744\\_Phenolic\\_profiles\\_and\\_antioxidant\\_properties\\_of\\_Physalis\\_angulata\\_L\\_as\\_quality\\_indicators\\_Perfiles\\_fenolicos\\_y\\_propiedades\\_antioxidantes\\_de\\_extractos\\_de\\_Physalis\\_angulata\\_L\\_como\\_indicadores\\_de\\_calidad](https://www.researchgate.net/publication/311969744_Phenolic_profiles_and_antioxidant_properties_of_Physalis_angulata_L_as_quality_indicators_Perfiles_fenolicos_y_propiedades_antioxidantes_de_extractos_de_Physalis_angulata_L_como_indicadores_de_calidad)
- Coimbra, E. S., Antinarelli, L. M., Silva, N. P., Souza, I. O., Meinel, R. S., Rocha, M. N., . . . da Silva, A. D. (2016). Quinoline derivatives: Synthesis, leishmanicidal activity and

- involvement of mitochondrial oxidative stress as mechanism of action. *Chemico-Biological Interactions*, 260, 50-57. doi:10.1016/j.cbi.2016.10.017
- Cometa, M. F., Fortuna, S., Palazzino, G., Volpe, M. T., Rengifo, E., Nicoletti, M., & Tomassini, L. (2012). New cholinesterase inhibiting bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Abuta grandifolia*. *Fitoterapia*, 83(3), 476-480. doi:10.1016/j.fitote.2011.12.015
- Cos, P., Hermans, N., De Bruyne, T., Apers, S., Sindambiwe, J. B., Vanden, D., . . . Vlietinck, A. J. (2002). Further evaluation of Rwandan medicinal plant extracts for their antimicrobial and antiviral activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(2), 155-163. doi:10.1016/S0378-8741(01)00362-2
- Coulibaly, A. Y., Kiendrebeogo, M., Kehoe, P. G., Sombie, P., Lamien, C. E., Millogo, J. F., & Nacoulma, O. (2011). Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Scoparia dulcis* L. *Journal of Medicinal Food*, 14(12), 1576-1582. doi:10.1089/jmf.2010.0191
- Cucunubá, Z. M., Manne-Goehler, J. M., Díaz, D., Nouvellet, P., Bernal, O., Marchiol, A., . . . Conteh, L. (2017). How universal is coverage and access to diagnosis and treatment for Chagas disease in Colombia? A health systems analysis. *Social Science & Medicine*, 175, 187-198. doi:10.1016/j.socscimed.2017.01.002
- Da Silva, B. J., Da Silva, R. R., Rodrigues, A. P., Farias, L. H., Do Nascimento, J. L., & Silva, E. O. (2016). *Physalis angulata* induces death of promastigotes and amastigotes of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* via the generation of reactive oxygen species. *Micron*, 82, 25-32. doi:10.1016/j.micron.2015.12.001
- Da Silva, F. M., Paz, W. H., Vasconcelos, L.-S. F., da Silva, A. L., da Silva-Filho, F. A., de Almeida, R. A., . . . Koolen, H. H. (2016). Chemical constituents from *Salacia impressifolia* (Miers) A. C. Smith collected at the Amazon rainforest. *Biochemical Systematics and Ecology*, 68, 77-80. doi:10.1016/j.bse.2016.07.004
- Da Silva, R. R., Da Silva, B. J., R. A., Farias, L. H., da Silva, M. N., Alves, D. T., . . . Silva, E. O. (2015). In vitro biological action of aqueous extract from roots of *Physalis angulata* against *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 249. doi:10.1186/s12906-015-0717-1
- Dawilai, S., Muangnoi, C., Praengamthanachoti, P., & Tuntipopipat, S. (2013). Anti-inflammatory activity of bioaccessible fraction from *Eryngium foetidum* leaves. *BioMed Research International*. doi:10.1155/2013/958567
- de Farias, S. M., da Silva, J. A., Lapa, A. J., Souccar, C., & Brandão, L. M. (1993). Analgesic and antiinflammatory properties of *Scoparia dulcis* L. extracts and glutinol in rodents. *Phytotherapy Research*, 7(6), 408-414. doi:10.1002/ptr.2650070605
- de Moraes-Teixeira, E., Souza, Q., Kolos, M., Romanha, A. J., & Rabello, A. (2011). The in vitro leishmanicidal activity of hexadecylphosphocholine (miltefosine) against four medically

- relevant Leishmania species of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106(4), 475-478. doi:10.1590/S0074-02762011000400015
- de Souza, W., Ulisses de Carvalho, T. M., & Santos Barrias, E. (2010). Review on Trypanosoma cruzi: Host cell interaction. *International Journal of Cell Biology*. doi:10.1155/2010/295394
- Desrivot, J., Herrenknecht, C., Ponchel, G., Garbi, N., Prina, E., Fournet, A., . . . Loiseau, P. M. (2007). Antileishmanial 2-substituted quinolines: in vitro behaviour towards biological components. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 61(7), 441-450. doi:10.1016/j.biopha.2007.03.004
- Djerassi, C., Sengupta, P., Herran, J., & Walls, F. (1954). Terpenoids. V. The isolation of Iresin, a new sesquiterpene lactone. *Journal of the American Chemical Society*, 76(11), 2966-2968. doi:10.1021/ja01640a032
- Dos-Santos, A., Carvalho-Kelly, L., Dick, C., & Meyer-Fernandes, J. (2016). Innate immunomodulation to trypanosomatid parasite infections. *Experimental Parasitology*, 167, 67-75. doi:10.1016/j.exppara.2016.05.005
- Espinoza, B. M. (2011). Estudio de plantas antiparasitarias de farmacopeas tradicionales de Bolivia Galipea longiflora Krause y Piper hispidum Swartz. (Tesis de Maestría), Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia.
- Eswaran, S., Adhikari, A. V., & Shetty, N. S. (2009). Synthesis and antimicrobial activities of novel quinoline derivatives carrying 1,2,4-triazole moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(11), 4637-4647. doi:10.1016/j.ejmech.2009.06.031
- Eto, M., Masuoka, C., Yamasaki, T., Harano, K., & Ono, M. (2008). Molecular orbital analysis of antioxidative activity of phenolics from Tessaria integrifolia and Piper elongatum. *Food Science and Technology Research*, 14(4), 415-420. doi:10.3136/fstr.14.415
- Fabri, R. L., Coimbra, E. S., Almeida, A. C., Siqueira, E. P., Alves, T. M., Zani, C. L., & Scio, E. (2012). Essential oil of Mitracarpus frigidus as a potent source of bioactive compounds. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 84(4), 1073-1080. doi:10.1590/S0001-37652012000400021
- Field, M. C., Horn, D., Fairlamb, A. H., Ferguson, M. A., Gray, D. W., Read, K. D., . . . Gilbert, I. H. (2017). Anti-trypanosomatid drug discovery: An ongoing challenge and a continuing need. *Nature Reviews Microbiology*, 15(4), 217-231. doi:10.1038/nrmicro.2016.193
- Filigheddu, M. T., Górgolas, M., & Ramos, J. M. (2017). Enfermedad de Chagas de transmisión oral. *Medicina Clínica*, 142(3), 125-131. doi:10.1016/j.medcli.2016.10.038
- Forbes, W. M., Gallimore, W. A., Mansingh, A., Reese, P. B., & Robinson, R. D. (2014). Eryngial (trans-2-dodecenal), a bioactive compound from Eryngium foetidum: its identification, chemical isolation, characterization and comparison with ivermectin in vitro. *Parasitology*, 141(2), 269-278. doi:10.1017/S003118201300156X

- Fournet, A. (1991). Plantes médicinales boliviennes antiparasitaires (leishmaniose et maladie de Chagas): *Galipea longiflora* (Rutaceae), *Pera benensis* (Euphorbiaceae) et *Ampelocera edentula* (Ulmaceae). (Doctoral Thesis), University of Paris-Sud, France. Obtenido de [http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/doc34-01/38117.pdf](http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/doc34-01/38117.pdf)
- Fournet, A., Angelo Barrios, A., Muñoz, V., Hocquemiller, R., Roblot, F., Cavé, A., . . . Bruneton, J. (1994). Antiprotozoal activity of quinoline alkaloids isolated from *Galipea longiflora*, a Bolivian plant used as a treatment for cutaneous leishmaniasis. *Phytotherapy Research*, 8, 174-178. doi:10.1002/ptr.2650080312
- Fournet, A., Barrios, A., Muñoz, V., Hocquemiller, R., Cavé, A., & Bruneton, J. (1993a). 2-substituted quinoline alkaloids as potential antileishmanial drugs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37(4), 859-863. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC187784/pdf/aac00026-0267.pdf>
- Fournet, A., Ferreira, M. E., Rojas, A., Torres, S., Fuentes, S., Nakayama, H., . . . Hocquemiller, R. (1996). In vivo efficacy of oral and intralesional administration of 2-substituted quinolines in experimental treatment of new world cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania amazonensis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(11), 2447-2451. Obtenido de [http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/pleins\\_textes\\_6/b\\_fdi\\_45-46/010009661.pdf](http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_6/b_fdi_45-46/010009661.pdf)
- Fournet, A., Hocquemiller, R., Roblot, F., Cavé, A., Richomme, P., & Bruneton, J. (1993b). Chimanines: New 2-substituted quinoline alkaloids, isolated from an antiparasitic Bolivian plant, *Galipea longiflora*. *Journal of Natural Products*, 56(9), 1547-1552. doi:10.1021/np50099a013
- Fournet, A., Vagneur, B., Richomme, P., & Bruneton, J. (1989). Aryl-2 et alkyl-2 quinoléines nouvelles isolées d'une Rutacée bolivienne : *Galipea longiflora*. *Canadian Journal of Chemistry*, 67, 2116-2118. doi:[http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/pleins\\_textes\\_5/b\\_fdi\\_23-25/30886.pdf](http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_5/b_fdi_23-25/30886.pdf)
- Franck, X., Fournet, A., Prina, E., Mahieux, R., Hocquemiller, R., & Figadère, B. (2004). Biological evaluation of substituted quinolines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14(14), 3635-3638. doi:10.1016/j.bmcl.2004.05.026
- Freire, S. M., Torres, L. M., Roque, N. F., Souccar, C., & Lapa, A. J. (1991). Analgesic activity of a triterpene isolated from *Scoparia dulcis* L. (Vassourinha). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86(2), 149-151. Obtenido de [http://www.scielo.br/pdf/mioc/v86s2/vol86\(fsup2\)\\_142-144.pdf](http://www.scielo.br/pdf/mioc/v86s2/vol86(fsup2)_142-144.pdf)
- Gachet, M. S., & Schühly, W. (2009). Jacaranda--an ethnopharmacological and phytochemical review. *Journal of Ethnopharmacology*, 121(1), 14-27. doi:10.1016/j.jep.2008.10.015
- Gachet, M. S., Kunert, O., Kaiser, M., Brun, R., Muñoz, R. A., Bauer, R., & Schühly, W. (2010b). Jacaranone-derived glucosidic esters from *Jacaranda glabra* and their activity

- against *Plasmodium falciparum*. *Journal of Natural Products*, 73(4), 553-556.  
doi:10.1021/np900528m
- Gachet, M. S., Lecaro, J. S., Kaiser, M., Brun, R., Navarrete, H., Muñoz, R. A., . . . Schühly, W. (2010a). Assessment of anti-protozoal activity of plants traditionally used in Ecuador in the treatment of leishmaniasis. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(1), 184-197.  
doi:10.1016/j.jep.2010.01.007
- Gao, C., Li, R., Zhou, M., Yang, Y., Kong, L., & Luo, J. (2017). Cytotoxic withanolides from *Physalis angulata*. *Natural Product Research*. doi:10.1080/14786419.2017.1338281
- García, M. D., Sáenz, M. T., Gómez, M. A., & Fernández, M. A. (1999). Topical antiinflammatory activity of phytosterols isolated from *Eryngium foetidum* on chronic and acute inflammation models. *Phytotherapy Research*, 13(1), 78-80.  
doi:10.1002/(SICI)1099-1573(199902)13:1<78::AID-PTR384>3.0.CO;2-F
- Garnica, D. (2016). *Fraccionamiento fitoquímico, perfiles cromatográficos por HPLC y actividad biológica de Plantas Tacana-IIFB (Parte 2)*. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz-Bolivia: (Informe internado rotatorio).
- Gil-Jaramillo, N., Motta, F. N., Favali, C. B., Bastos, I. M., & Santana, J. M. (2016). Dendritic cells: A double-edged sword in immune responses during Chagas disease. *Frontiers in Microbiology*, 7. doi:10.3389/fmicb.2016.01076
- Giménez, A., Avila, J. A., Ruiz, G., Paz, M., Udaeta, E., Ticona, J. C., . . . Bascope, M. (2005). Estudios químicos, biológicos y farmacológicos de *Galipea longiflora*, Krause. *Revista Boliviana de Química*, 22(1), 94-107. Obtenido de [http://www.bolivianchemistryjournal.org/QUIMICA%202005%20PDF/15\\_ESTUDIOS%20QUIMICOS%20BIOLOGICOS%20Y%20FARMACOLOGICOS.pdf](http://www.bolivianchemistryjournal.org/QUIMICA%202005%20PDF/15_ESTUDIOS%20QUIMICOS%20BIOLOGICOS%20Y%20FARMACOLOGICOS.pdf)
- Gonçalves de Oliveira, L. F., Santini Pereira, B. A., Gilbert, B., Corrêa, A. L., Rocha, L., & Alves, C. R. (2017). Natural products and phytotherapy: an innovative perspective in leishmaniasis treatment. *Phytochemistry Reviews*, 16(2), 219-233. doi:10.1007/s11101-016-9471-3
- González-Coloma, A., Reina, M., Sáenz, C., Lacret, R., Ruiz-Mesia, L., Arán, V. J., . . . Martínez-Díaz, R. A. (2012). Antileishmanial, antitrypanosomal, and cytotoxic screening of ethnopharmacologically selected Peruvian plants. *Parasitology Research*, 110(4), 1381-1392. doi:10.1007/s00436-011-2638-3
- Gossage, S. M., Rogers, M. E., & Bates, P. A. (2003). Two separate growth phases during the development of *Leishmania* in sand flies: implications for understanding the life cycle. *International Journal for Parasitology*, 33(10), 1027-1034. doi:10.1016/S0020-7519(03)00142-5
- Griewank, K., Gazeau, C., Eichhorn, A., & von Stebut, E. (2010). Miltefosine efficiently eliminates *Leishmania major* amastigotes from infected murine dendritic cells without

- altering their immune functions. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(2), 652-659. doi:10.1128/AAC.01014-09
- Guarachi, M., Paz, M., Chuqui, R., Sauvain, M., Flores, N., Alvarez, M. T., & Giménez, A. (2008a). In vitro production of leishmanicidal alkaloid 2-phenyl-quinoline by *Angostura longiflora* Krause A. *Revista Boliviana de Química*, 25(1), 10-13. Obtenido de <http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v25n1/v25n1a03.pdf>
- Guarachi, M., Paz, M., Terrazas, E., & Giménez, A. (2008b). Crecimiento, actividad oxidasa y peroxidasa en callos de *Galipea longiflora* K. cultivadas en medio Ms, con variación en la concentración de sacarosa, nitrógeno y fosfato. *Biofarbo*, 16(1), 42-46. Obtenido de <http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/rbfb/v16n1/v16n1a08.pdf>
- Guerreiro, E., Pestchanker, M., Vitto, L., & Giordano, O. (1990). Sesquiterpenes and flavonoids from *Tessaria* species. *Phytochemistry*, 29(3), 877-879. doi:10.1016/0031-9422(90)80037-H
- Guo, L.-J., Wei, C.-X., Jia, J.-H., Zhao, L.-M., & Quan, Z.-S. (2009). Design and synthesis of 5-alkoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinoline derivatives with anticonvulsant activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(3), 954-958. doi:10.1016/j.ejmech.2008.07.010
- Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: Traditions of yesterday. *Molecular Aspects of Medicine*, 27, 1-93. doi:10.1016/j.mam.2005.07.008
- Hailu, T., Yimer, M., Mulu, W., & Abera, B. (2016). Challenges in visceral leishmaniasis control and elimination in the developing countries: A review. *Journal of Vector Borne Diseases*, 53(3), 193-198. Obtenido de <http://www.nimr.org.in/assets/533193.pdf>
- Hayashi, K., Hayashi, T., & Morita, N. (1992). Cytotoxic and antitumor activity of scopadulcic acid from *Scoparia dulcis* L. *Phytotherapy Research*, 6(1), 6-9. doi:10.1002/ptr.2650060103
- Hayashi, K., Niwayama, S., Hayashi, T., Nago, R., Ochiai, H., & Morita, N. (1988). In vitro and in vivo antiviral activity of scopadulcic acid B from *Scoparia dulcis*, Scrophulariaceae, against herpes simplex virus type 1. *Antiviral Research*, 9(6), 345-354. doi:doi.org/10.1016/0166-3542(88)90036-8
- Herndon, C. N., Uiterloo, M., Uremaru, A., Plotkin, M. J., Emanuels-Smith, G., & Jitan, J. (2009). Disease concepts and treatment by tribal healers of an Amazonian forest culture. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. doi:10.1186/1746-4269-5-27
- Herrera, V. C. (2008). Toxicidad del extracto de alcaloides totales de la *Galipea longiflora* Krause Kallunki (Evanta) en fase preclínica. (Tesis de Maestría), Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia.
- Ibisch, P. L. (2001). Bolivia is a megadiversity country and a developing country. En W. Barthlott, M. Winiger, & N. Biedinger, *Biodiversity: A challenge for development*

- research and policy* (págs. 213-241). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.  
doi:10.1007/978-3-662-06071-1
- IIDH, & OPS. (2006). *Medicina indígena tradicional y medicina convencional, módulo borrador*. San José - Costa Rica. Obtenido de <http://www.bvsde.paho.org/bvsapi/e/proyectreg2/paises/costarica/medicina.pdf>
- Imbenzi, P. S., He, Y.-z., Yan, Z.-x., Osoro, E. K., & Cheplogoi, P. K. (2014). Chemical constituents in extracts from leaves of *Lantana trifolia* and their in vitro anti-oxidative activity. *Chinese Herbal Medicines*, 6(3), 242-246. doi:10.1016/S1674-6384(14)60035-6
- Inbar, E., Hughitt, V. K., Dillon, L. A., Ghosh, K., El-Sayed, N. M., & Sacksa, D. L. (2017). The transcriptome of *Leishmania major* developmental stages in their natural sand fly vector. *Microbial Biosphere*, 8(2). doi:10.1128/mBio.00029-17
- InfoChagas. (2017). [www.infochagas.org](http://www.infochagas.org). Obtenido de <http://www.infochagas.org/en-que-paises-hay-chagas>
- Jakupovic, J., Misra, L. N., Chau Thi, T. V., Bohlmann, F., & Castro, V. (1985). Cuauthemone derivatives from *Tessaria integrifolia* and *Pluchea symphytifolia*. *Phytochemistry*, 24(12), 3053-3055. doi:10.1016/0031-9422(85)80057-1
- Janwitthayanuchit, K., Kupradinun, P., Rungsipipat, A., Kettawan, A., & Butryee, C. (2016). A 24-weeks toxicity study of *Eryngium foetidum* Linn. leaves in mice. *Toxicological Research*, 32(3), 231-237. doi:10.5487/TR.2016.32.3.231
- Jorgensen, P. M., Nee, M. H., & Georg, B. S. (2014). Catálogo de las plantas vasculares de Bolivia, Monographs in systematic botany from the Missouri Botanical Garden. *Missouri Botanical Garden Press*(127(1-2): i-viii), 1-1744. Obtenido de <http://www.tropicos.org/Project/BC>
- Joshi, B., Hendrickx, S., Bahadur Magar, L., Parajuli, N., Dorny, P., & Maes, L. (2016). In vitro antileishmanial and antimalarial activity of selected plants of Nepal. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(4), 383-389. doi:10.5455/jice.20160728031236
- Julião, L., Leitão, S. G., Lotti, C., Picinelli, A. L., Rastrelli, L., Fernandes, P. D., . . . Leitão, G. G. (2010). Flavones and phenylpropanoids from a sedative extract of *Lantana trifolia* L. *Phytochemistry*, 71, 294-300. doi:10.1016/j.phytochem.2009.10.007
- Justi, S. A., & Galvão, C. (2017). The evolutionary origin of diversity in Chagas disease vectors. *Trends in Parasitology*, 33(1), 42-52. doi:10.1016/j.pt.2016.11.002
- Justil, C., Angulo, P., Justil, H., & Arroyo, J. (2015). Evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en ratas con diabetes inducida por aloxano. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 26(2), 206-212. doi:10.15381/rivep.v26i2.11008

- Kipassa, N. T., Iwagawa, T., Okamura, H., Doe, M., Morimoto, Y., & Nakatani, M. (2008). Limonoids from the stem bark of *Cedrela odorata*. *Phytochemistry*, *69*(8), 1782-1787. doi:10.1016/j.phytochem.2007.12.015
- Kouitcheu, L., Bille, B., & Nguépi, E. (2016). In vitro and in vivo Anti-Helicobacter activities of *Eryngium foetidum* (Apiaceae), *Bidens pilosa* (Asteraceae), and *Galinsoga ciliata* (Asteraceae) against *Helicobacter pylori*. *BioMed Research International*. doi:10.1155/2016/2171032
- Kouznetsov, V. V., Meléndez Gómez, C. M., Derita, M. G., Svetaz, L., del Olmo, E., & Zacchino, S. A. (2012). Synthesis and antifungal activity of diverse C-2 pyridinyl and pyridinylvinyl substituted quinolines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *20*(21), 6506-6512. doi:10.1016/j.bmc.2012.08.036
- Lachance, H., Wetzel, S., Kumar, K., & Waldmann, H. (2012). Charting, navigating, and populating natural product chemical space for drug discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*, *55*(13), 5989-6001. doi:10.1021/jm300288g
- Lagnika, L., Attioua, B., Weniger, B., Kaiser, M., Sanni, A., & Vonthron-Senecheau, C. (2008). Phytochemical study and antiprotozoal activity of compounds isolated from *Thalia geniculata*. *Pharmaceutical Biology*, *46*(3), 162-165. doi:10.1080/13880200701499000
- Lardeux, F., Depickére, S., Aliaga, C., Chavez, T., & Zambrana, L. (2015). Experimental control of *Triatoma infestans* in poor rural villages of Bolivia through community participation. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *109*(2), 150-158. doi:10.1093/trstmh/tru205
- Latha, M., Ramkumar, K. M., Pari, L., Damodaran, P. N., Rajeshkannan, V., & Suresh, T. (2006). Phytochemical and antimicrobial study of an antidiabetic plant: *Scoparia dulcis* L. *Journal of Medicinal Food*, *9*(3), 391-394. doi:10.1089/jmf.2006.9.391
- Lavie, D., Levy, E. C., Rosito, C., & Zelnik, R. (1970). Studies on tetranortriterpenoids from *Cedrela augustifolia* Sessée and Moc. *Tetrahedron*, *26*(1), 219-226. doi:10.1016/0040-4020(70)85021-9
- Leal, S. M., Amado, D. F., Kouznetsov, V. V., & Escobar, P. (2013). In vitro antileishmanial, trypanocidal, and mammalian cell activities of diverse N,N'-dihetaryl substituted diamines and related compounds. *Scientia Pharmaceutica*, *81*, 43-55. doi:10.3797/scipharm.1205-14
- Leclercq, P. A., Duñg, N. X., Lô, V. N., & Toanh, N. V. (1992). Composition of the essential oil of *Eryngium foetidum* L. from Vietnam. *Journal of Essential Oil Research*, *4*(4), 423-424. doi:10.1080/10412905.1992.9698097
- Legarda-Ceballos, A. L., del Olmo, E., López-Abán, J., Escarcena, R., Bustos, L. A., Fonseca-Berzal, C., . . . Muro, A. (2015). Trypanocidal activity of long chain diamines and aminoalcohols. *Molecules*, *20*(6), 11554-11568. doi:10.3390/molecules200611554

- Li, J., Zheng, Z.-W., Natarajan, G., Chen, Q.-W., Chen, D.-L., & Chen, J.-P. (2017). The first successful report of the in vitro life cycle of Chinese Leishmania: the in vitro conversion of Leishmania amastigotes has been raised to 94% by testing 216 culture medium compound. *Acta Parasitologica*, 62(1), 154-163. doi:10.1515/ap-2017-0018
- Limache, A. (2016). *Fraccionamiento fitoquímico, perfiles cromatográficos por HPLC y actividad biológica de Plantas Tacana-IIFB (Parte 1)*. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz-Bolivia: (Informe internado rotatorio).
- Limachi, I. (2013). Estudio químico cuantitativo y el uso como antiparasitario, del extracto etanólico de la corteza de Galipea longiflora (Evanta). (Tesis de Maestría), Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia.
- Liu, Q., Yang, Q. M., Hu, H. J., Yang, L., Yang, Y. B., Chou, G. X., & Wang, Z. T. (2014). Bioactive Diterpenoids and Flavonoids from the Aerial Parts of Scoparia dulcis. *Journal of Natural Products*, 77(7), 1594-1600. doi:10.1021/np500150f
- Llanos, F., Espinoza, B., Salamanca, E., Chuqui, R., Flores, N., & Giménez, A. (2009). Extracción acuosa de corteza de Galipea longiflora y su actividad leishmanicida. *Biofarbo*, 17(2), 32-38. Obtenido de [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=s1813-53632009000200005&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=s1813-53632009000200005&script=sci_arttext)
- Luna, K. P., Hernández, I. P., Rueda, C. M., Zorro, M. M., Croft, S. L., & Escobar, P. (2009). In vitro susceptibility of Trypanosoma cruzi strains from Santander, Colombia, to hexadecylphosphocholine (miltefosine), nifurtimox and benznidazole. *Biomédica*, 29(3), 448-455. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v29n3/v29n3a13.pdf>
- Magariños, W. (2012). Comunicación personal del Dr. Walter Magariños dermatólogo responsable del proyecto “Enfermedades infecciosas Nuevas Terapias Alternativas: Evanta en el Tratamiento de Leishmaniasis Cutánea” 2008-2009.
- Mahato, S. B., Das, M. C., & Sahu, N. P. (1981). Triterpenoids of Scoparia dulcis. *Phytochemistry*, 20(1), 171-173. doi:doi.org/10.1016/0031-9422(81)85243-0
- Mamani, P. L., Gonzales, M., Pillco, A., Giménez, A., & Gonzales, E. L. (2006). Determinación genotóxica del extracto total diclorometánico de corteza de Galipea lingiflora Krause, mediante el test de mutación y recombinación somática (SMART). *Revista Boliviana de Química*, 23(1). Obtenido de [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0250-54602006000100011](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602006000100011)
- Martínez, I., Cervantes-Landín, A., & Espinoza, B. (2013). Diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas. *Gaceta Médica de México*, 149(3), 363-365. Obtenido de <http://biblat.unam.mx/es/revista/gaceta-medica-de-mexico/articulo/diagnostico-molecular-de-la-enfermedad-de-chagas>

- Martins, A. P., Salgueiro, L. R., Proença da Cunha, A., Vila, R., Cañigüeral, S., Tomi, F., & Casanova, J. (2003). Essential oil composition of *Eryngium foetidum* from S. Tomé e Príncipe. *Journal of Essential Oil Research*, *15*(2), 93-95.  
doi:10.1080/10412905.2003.9712077
- McGwire, B., & Satoskar, A. (2014). Leishmaniasis: Clinical syndromes and treatment. *Quarterly Journal of Medicine*, *107*(1), 7-14. doi:10.1093/qjmed/hct116
- Megadiverse-Countries. (2005). New Delhi ministerial declaration of like minded Megadiverse Countries on access and benefit sharing. Obtenido de [http://paisismegadiversos.org/wp-content/uploads/2016/02/newdelhi\\_declarationaccess\\_benefitsharing-1.pdf](http://paisismegadiversos.org/wp-content/uploads/2016/02/newdelhi_declarationaccess_benefitsharing-1.pdf)
- Meira, C. S., Guimarães, E. T., Dos Santos, J. A., Moreira, D. R., Nogueira, R. C., Tomassini, T. C., . . . Soares, M. B. (2015). In vitro and in vivo antiparasitic activity of *Physalis angulata* L. concentrated ethanolic extract against *Trypanosoma cruzi*. *Phytomedicine*, *22*(11), 969-974. doi:10.1016/j.phymed.2015.07.004
- Mekhora, C., Muangnoi, C., Chingsuwanrote, P., Dawilai, S., Svasti, S., Chasri, K., & Tuntipopipat, S. (2012). *Eryngium foetidum* suppresses inflammatory mediators produced by macrophages. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *13*, 653-664.  
doi:10.7314/APJCP.2012.13.2.653
- Men, R. Z., Li, N., Ding, W. J., Hu, Z. J., Ma, Z. J., & Cheng, L. (2014). Unprecedented aminophysalin from *Physalis angulata*. *Steroids*, *88*, 60-64.  
doi:10.1016/j.steroids.2014.06.016
- Mesía-Vela, S., Bielavsky, M., Torres, L. M., Freire, S. M., Lima-Landman, M. T., Souccar, C., & Lapa, A. J. (2007). In vivo inhibition of gastric acid secretion by the aqueous extract of *Scoparia dulcis* L. in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, *111*(2), 403-408.  
doi:10.1016/j.jep.2006.12.009
- Mikata, Y., Yokoyama, M., Ogura, S., Okura, I., Kawasaki, M., Maeda, M., & Yano, S. (1998). Effect of side chain location in (2-aminoethyl)-aminomethyl-2-phenylquinolines as antitumor agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *8*(10), 1243-1248.  
doi:10.1016/S0960-894X(98)00192-9
- Minodier, P., & Parola, P. (2007). Cutaneous leishmaniasis treatment. *Travel Medicine and Infectious Disease*, *5*(3), 150-158. doi:10.1016/j.tmaid.2006.09.004
- Mitsui, K., Maejima, M., Fukaya, H., Hitotsuyanagi, Y., & Takeya, K. (2004). Limonoids from *Cedrela sinensis*. *Phytochemistry*, *65*(23), 3075-3081.  
doi:10.1016/j.phytochem.2004.08.041
- Mitsui, K., Maejima, M., Saito, H., Fukaya, H., Hitotsuyanagi, Y., & Takeya, K. (2005). Triterpenoids from *Cedrela sinensis*. *Tetrahedron*, *61*(44), 10569-10582.  
doi:10.1016/j.tet.2005.08.044

- Mitsui, K., Saito, H., Yamamura, R., Fukaya, H., Hitotsuyanagi, Y., & Takeya, K. (2006). Hydroxylated Gedunin Derivatives from *Cedrela sinensis*. *Journal of Natural Products*, 69(9), 1310-1314. doi:10.1021/np068021f
- Molina, I., Salvador, F., & Sánchez-Montalvá, A. (2016). Actualización en enfermedad de Chagas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(2), 132-138. doi:10.1016/j.eimc.2015.12.008
- Moreira, R. R., Martins, G. Z., Magalhaes, N. O., Almeida, A. E., Pietro, R. C., Silva, F. A., & Cicarelli, R. M. (2013). In vitro trypanocidal activity of solamargine and extracts from *Solanum palinacanthum* and *Solanum lycocarpum* of brazilian cerrado. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 85(3), 903-907. Obtenido de <http://www.scielo.br/pdf/aabc/v85n3/0001-3765-aabc-85-03-903.pdf>
- Moshi, M. J., Innocent, E., Magadula, J. J., Otieno, D. F., Weisheit, A., Mbabazi, P. K., & Nondo, R. S. (2010). Brine shrimp toxicity of some plants used as traditional medicines in Kagera Region, north western Tanzania. *Tanzania Journal of Health Research*, 12(1), 63-67. doi:10.4314/thrb.v12i1.56287
- Moshi, M. J., Otieno, D. F., Mbabazi, P. K., & Weisheit, A. (2009). The ethnomedicine of the Haya people of Bugabo ward, Kagera Region, north western Tanzania. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 5(24). doi:10.1186/1746-4269-5-24
- MSPS, FMC, & ILADIBA. (2013). *Enfermedad de Chagas: Memorias*. Bogota, Colombia: Editorial Maldonado S.A. Obtenido de [https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/Memorias\\_chagas.pdf](https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/Memorias_chagas.pdf)
- Mullié, C., Taudon, N., Degrouas, C., Jonet, A., Pascual, A., Agnamey, P., & Sonnet, P. (2014). Enantiomerically pure amino-alcohol quinolines: in vitro anti-malarial activity in combination with dihydroartemisinin, cytotoxicity and in vivo efficacy in a *Plasmodium berghei* mouse model. *Malaria Journal*, 13. doi:10.1186/1475-2875-13-407
- Muruganantham, N., Sivakumar, R., Anbalagan, N., Gunasekaran, V., & Leonard, J. T. (2004). Synthesis, anticonvulsant and antihypertensive activities of 8-substituted quinoline derivatives. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(10), 1683-1687. Obtenido de [http://www.academia.edu/4354140/Synthesis\\_Anticonvulsant\\_and\\_Antihypertensive\\_Activities\\_of\\_8-Substituted\\_Quinoline\\_Derivatives](http://www.academia.edu/4354140/Synthesis_Anticonvulsant_and_Antihypertensive_Activities_of_8-Substituted_Quinoline_Derivatives)
- Musiol, R., Jampilek, J., Buchta, V., Silva, L., Niedbala, H., Podeszwa, B., . . . Polanski, J. (2006). Antifungal properties of new series of quinoline derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(10), 3592-3598. doi:10.1016/j.bmc.2006.01.016
- Musiol, R., Magdziarz, T., & Kurczyk, A. (2011). Quinoline scaffold as a privileged substructure in antimicrobial drugs. In F. R. Center, *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances* (pp. 72-83). Obtenido de

[https://www.researchgate.net/publication/224054184\\_Quinoline\\_scaffold\\_as\\_a\\_privilege\\_d\\_substructure\\_in\\_antimicrobial\\_drugs](https://www.researchgate.net/publication/224054184_Quinoline_scaffold_as_a_privilege_d_substructure_in_antimicrobial_drugs)

- Nagle, A. S., Khare, S., Kumar, A. B., Supek, F., Buchynskyy, A., Mathison, C. J., . . . Molteni, V. (2014). Recent developments in drug discovery for leishmaniasis and human african trypanosomiasis. *Chemical Reviews*, *114*, 11305-11347. doi:10.1021/cr500365f
- Nalubega, R., Nyanzi, S. A., Nakavuma, J. L., & Kamatenesi-Mugisha, M. (2013). Ethnobotanical uses of *Lantana trifolia* L. and *Sida cuneifolia* Roxb. in Mukungwe and Wabinyonyi sub-counties of central Uganda. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, *2*(3), 155-164. doi:10.5455/jice.20130809114525
- Narender, P., Srinivas, U., Ravinder, M., Rao, B. A., Ramesh, C., Harakishore, K., . . . Rao, V. J. (2006). Synthesis of multisubstituted quinolines from Baylis-Hillman adducts obtained from substituted 2-chloronicotinaldehydes and their antimicrobial activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *14*(13), 4600-4609. doi:10.1016/j.bmc.2006.02.020
- Nayyar, A., Monga, V., Malde, A., Coutinho, E., & Jain, R. (2007). Synthesis, anti-tuberculosis activity, and 3D-QSAR study of 4-(adamantan-1-yl)-2-substituted quinolines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *15*(2), 626-640. doi:10.1016/j.bmc.2006.10.064
- Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, *70*, 461-477. doi:10.1021/np068054v
- Ocheng, F., Bwanga, F., Joloba, M., Borg-Karlson, A. K., Gustafsson, A., & Obua, C. (2014). Antibacterial activities of extracts from Ugandan medicinal plants used for oral care. *Journal of Ethnopharmacology*, *155*(1), 852-855. doi:10.1016/j.jep.2014.06.027
- Odonne, G., Houël, E., Bourdy, G., & Stien, D. (2017). Treating leishmaniasis in Amazonia: A review of ethnomedicinal concepts and pharmaco-chemical analysis of traditional treatments to inspire modern phytotherapies. *Journal of Ethnopharmacology*. doi:10.1016/j.jep.2017.01.048
- Oliveira de Albuquerque, K. C., Silva da Veiga, A. d., da Silva e Silva, J. V., Cordovil Brigido, H. P., dos Reis Ferreira, E. P., Souza Costa, E. V., . . . Dolabela, M. (2017). Brazilian amazon traditional medicine and the treatment of difficult to heal leishmaniasis wounds with *Copaifera*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi:10.1155/2017/8350320
- Oliveira, E. S., Amaral, A. C., Lima, E. S., & Rocha de A. Silva, J. (2014). Chemical composition and biological activities of *Bocageopsis multiflora* essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, *26*(3), 161-165. doi:10.1080/10412905.2013.840809
- OMS. (2010). Enfermedad de Chagas: control y eliminación. Informe de la secretaría A63/17. *63va Asamblea mundial de la salud*. Obtenido de [http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA63/A63\\_17-sp.pdf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63/A63_17-sp.pdf)

- OMS. (2012a). Research priorities for Chagas disease, human african trypanosomiasis and leishmaniasis. *WHO Technical Report Series 975*. Obtenido de [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77472/1/WHO\\_TRS\\_975\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77472/1/WHO_TRS_975_eng.pdf)
- OMS. (2012b). Control de la leishmaniasis. *OMS, Serie de Informes Técnicos 949*. Obtenido de [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO\\_TRS\\_949\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO_TRS_949_spa.pdf)
- OMS. (2013a). Producción de mapas: Control de enfermedades tropicales desatendidas LV. Obtenido de [http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Leishmaniasis\\_VL\\_2013.png](http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Leishmaniasis_VL_2013.png)
- OMS. (2013b). Producción de mapas: Control de enfermedades tropicales desatendidas LC. Obtenido de [http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Leishmaniasis\\_CL\\_2013.png](http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Leishmaniasis_CL_2013.png)
- OMS. (2013c). International nonproprietary names for pharmaceutical substances (INN) - Proposed INN: List 110. *WHO Drug Information*, 27(4). Obtenido de <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21316en/s21316en.pdf>
- OMS. (2017a). Neglected tropical disease program. Obtenido de [http://www.who.int/neglected\\_diseases/diseases/en/](http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/)
- OMS. (2017b). Sistema mundial de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, manual para la primera fase de implementación. Ginebra. Obtenido de <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/253135/1/9789243549408-spa.pdf?ua=1>
- OMS. (2017c). Respuesta mundial para el control de vectores 2017 - 2030. *Asamblea Mundial de la Salud en su 70va reunión*. Obtenido de [http://www.who.int/malaria/areas/vector\\_control/Draft-WHO-GVCR-2017-2030-esp.pdf?ua=1](http://www.who.int/malaria/areas/vector_control/Draft-WHO-GVCR-2017-2030-esp.pdf?ua=1)
- OMS. (2017d). Leishmaniasis. *Centro de Prensa - Nota Descriptiva*. Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/es/>
- OMS. (2017e). La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). *Centro de Prensa - Nota Descriptiva*. Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>
- Ono, M., Masuoka, C., Odake, Y., & Ito, Y. (2000b). Eudesmane derivatives from *Tessaria integrifolia*. *Phytochemistry*, 56(4), 479-484. doi:10.1016/S0031-9422(99)00580-4
- Ono, M., Masuoka, C., Odake, Y., Ikegashira, S., Ito, Y., & Nohara, T. (2000a). Antioxidative constituents from *Tessaria integrifolia*. *Food Science and Technology Research*, 6(2), 106-114. doi:10.3136/fstr.6.106
- OPS, & OMS. (2014). Día mundial de la salud: Picaduras pequeñas, grandes amenazas. *Boletín Informativo*. Obtenido de <http://www.paho.org/world-health-day-2014/wp-content/uploads/2014/02/Leishmaniasis-esp.pdf>

- OPS, & OMS. (2016). Geographic distribution of vector-borne diseases, 2013-2016. Obtenido de [http://ais.paho.org/hip/viz/cha\\_cd\\_vectorborndiseases.asp](http://ais.paho.org/hip/viz/cha_cd_vectorborndiseases.asp)
- OPS, & OMS. (2017). Informe epidemiológico de las Américas: Leishmaniasis. *Informe de Leishmaniasis N°5*. Obtenido de [http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/34111/informe\\_leishmaniasis\\_5\\_spa.pdf?sequence=5&isAllowed=y](http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/34111/informe_leishmaniasis_5_spa.pdf?sequence=5&isAllowed=y)
- Pace, D. (2014). Leishmaniasis. *Journal of Infection*. doi:10.1016/j.jinf.2014.07.016
- Palmezano, J. M., Plazas, L. K., Rivera, K. E., & Rueda, V. P. (2015). Enfermedad de Chagas: Realidad de una patología frecuente en Santander, Colombia. *Medicas UIS*, 28(1), 81-90. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/muis/v28n1/v28n1a08.pdf>
- Paul, J. H., Seaforth, C. E., & Tikasingh, T. (2011). *Eryngium foetidum* L.: A review. *Fitoterapia*, 82(3), 302-308. doi:10.1016/j.fitote.2010.11.010
- Paz, M., Vázquez, F., Chuqui, R., Sauvain, M., & Giménez, A. (2007). Establecimiento de cultivos in vitro de *Galipea longiflora*, una rutaceae de la Amazonia boliviana. *Latin American Journal of Pharmacy*, 26(1), 15-19. Obtenido de [http://www.latamjpharm.org/resumenes/26/1/LAJOP\\_26\\_1\\_1\\_3.pdf](http://www.latamjpharm.org/resumenes/26/1/LAJOP_26_1_1_3.pdf)
- Peluso, G., De Feo, V., De Simone, F., Bresciano, E., & Vuotto, M. L. (1995). Studies on the inhibitory effects of caffeoylquinic acids on monocyte migration and superoxide ion production. *Journal of Natural Products*, 58(5), 639-646. doi:10.1021/np50119a001
- Pino, J. A., Rosado, A., & Fuentes, V. (1997). Chemical composition of the seed oil of *Eryngium foetidum* L. from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 9(1), 123-124. doi:10.1080/10412905.1997.9700731
- Pinto, L. A., Meira, C. S., Villarreal, C. F., Vannier-Santos, M. A., de Souza, C. V., Ribeiro, I. M., . . . Grassi, M. F. (2016). Physalin F, a seco-steroid from *Physalis angulata* L., has immunosuppressive activity in peripheral blood mononuclear cells from patients with HTLV1-associated myelopathy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 79, 129-134. doi:10.1016/j.biopha.2016.01.041
- Polesna, L., Polesny, Z., Clavo, M. Z., Hansson, A., & Kokoska, L. (2011). Ethnopharmacological inventory of plants used in Coronel Portillo Province of Ucayali Department, Peru. *Pharmaceutical Biology*, 49(2), 125-136. doi:10.3109/13880209.2010.504927
- Promtes, K., Kupradinun, P., Rungsipipat, A., Tuntipopipat, S., & Butryee, C. (2016). Chemopreventive effects of *Eryngium foetidum* L. leaves on COX-2 reduction in mice induced colorectal carcinogenesis. *Nutrition and Cancer*, 68(1), 144-153. doi:10.1080/01635581.2016.1115103

- Quenevo, C., Bourdy, G., & Giménez, A. (1999). *Tacana: Conozcan nuestros árboles, nuestras hierbas*. (UMSA, CIPTA, IRD, FONAMA, & EIA, Edits.) La Paz. Obtenido de [http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/divers10-04/010018852.pdf](http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers10-04/010018852.pdf)
- Quispe, E. T. (2012). Efecto del extracto de alcaloides totales de *Evanta* sobre macrófagos murinos infectados con *Leishmania braziliensis* in-vitro. (Tesis de Especialidad), Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia.
- Rabito, M. F., Britta, E. A., Pelegrini, B. L., Scariot, D. B., Almeida, M. B., Nixdorf, S. L., . . . Ferreira, I. C. (2014). In vitro and in vivo antileishmanial activity of sesquiterpene lactone-rich dichloromethane fraction obtained from *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. *Experimental Parasitology*. doi:10.1016/j.exppara.2014.01.014
- Rajan, J. P., Singh, K. B., Kumar, S., & Mishra, R. K. (2014). Trace elements content in the selected medicinal plants traditionally used for curing skin diseases by the natives of Mizoram, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(S1), 410-414. doi:10.1016/S1995-7645(14)60267-4
- Ramírez, M. I. (2012). Búsqueda de nuevos fármacos de actividad antiparasitaria frente a *Leishmania* spp y *Trypanosoma cruzi*. (Tesis de Doctorado), Universidad de Granada Departamento de Parasitología, España. Obtenido de <http://digibug.ugr.es/handle/10481/21737#.WjGs3fnibIU>
- Ratnasooriya, W. D., Jayakody, J. R., Premakumara, G. A., & Ediriweera, E. R. (2005). Antioxidant activity of water extract of *Scoparia dulcis*. *Fitoterapia*, 76(2), 220-222. doi:10.1016/j.fitote.2004.06.012
- Rengifo, E., & Vargas, G. (2013). *Physalis angulata* L. (Bolsa Mullaca): A review of its traditional uses, chemistry and pharmacology. *Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 12(5), 431-445. Obtenido de <http://www.blacpma.usach.cl/revista-numero/physalis-angulata-l-bolsa-mullaca-revision-de-usos-tradicionales-quimica-y>
- Riel, M. A., Kyle, D. E., & Milhous, W. K. (2002). Efficacy of Scopadulcic Acid A against *Plasmodium falciparum* in Vitro. *Journal of Natural Products*, 65(4), 614-615. doi:10.1021/np0105275
- Rios, M., & Berber, L. (2005). 1H and 13C assignments of three new drimenes from *Iresine diffusa* Humb. & Bonpl. ex Willd. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 43(4), 339-342. doi:10.1002/mrc.1550
- Ripardo Filho, H. S., Costa, N. L., Pacheco, L. C., Andrade, E. S., Araújo, R. N., Mourao, R. H., . . . Santos, L. S. (2015). Chemical constituents of the stem of *Salacia impressifolia* (Miers) A. C. Smith. *Ewemen Journal of Natural Product Research*, 1(1). Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/298215291\\_CHEMICAL\\_CONSTITUENTS\\_OF\\_THE\\_STEM\\_OF\\_SALACIA\\_IMPRESSIFOLIA\\_MIERS\\_A\\_C\\_SMITH](https://www.researchgate.net/publication/298215291_CHEMICAL_CONSTITUENTS_OF_THE_STEM_OF_SALACIA_IMPRESSIFOLIA_MIERS_A_C_SMITH)

- Rivero, W. (2007). *Amazonía Boliviana*. Obtenido de Pueblos indígenas de Bolivia - Tacana: [http://amazoniabolivia.com/mas\\_detalle\\_proi.php?id\\_contenido=26](http://amazoniabolivia.com/mas_detalle_proi.php?id_contenido=26)
- Rodrigues, I. A., Mazotto, A. M., Cardoso, V., Alves, R. L., Amaral, A. C., Rocha de Andrade Silva, J., . . . Vermelho, A. B. (2015). Natural products: Insights into leishmaniasis inflammatory response. *Mediators of Inflammation*. doi:10.1155/2015/835910
- Rodríguez, B. A. (2006). Estudio de preformulación en una forma farmacéutica semisólida de uso tópico para el extracto orgánico y concentrado de alcaloides totales de la especie *Galipea longiflora* Krause Kallunki “Evanta”. (Tesis de Maestría), Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia.
- Rodriguez, J. B., Falcone, B. N., & Szajnman, S. H. (2016). Detection and treatment of *Trypanosoma cruzi*: a patent review (2011-2015). *Expert Opinion on Therapeutic Patents* . doi:10.1080/13543776.2016.1209487
- Rodríguez, M. N. (1999). Determinación de la actividad antibacteriana de especies guaraníes y evaluación de la toxicidad in vivo de la *Angostura longiflora* (Krause) Kallunki. (Tesis de Licenciatura), Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia.
- Rodríguez, M. N. (2001). Evaluación de la actividad biológica de plantines de la *Angostura longiflora* (Krause) Kallunki. (Tesis de Maestría), Universidad Mayor de San Andrés, La Paz- Bolivia.
- Rojas-Silva, P., Graziose, R., Vesely, B., Poulev, A., Mbeunkui, F., Grace, M. H., . . . Raskin, I. (2014). Leishmanicidal activity of a daucane sesquiterpene isolated from *Eryngium foetidum*. *Pharmaceutical Biology*, 52(3), 398-401. doi:10.3109/13880209.2013.837077
- Rojk. (2006). *Wikipedia la enciclopedia libre*. Obtenido de Pueblos originarios de Bolivia: [https://es.wikipedia.org/wiki/Pueblo\\_tacana](https://es.wikipedia.org/wiki/Pueblo_tacana)
- Ruani, A. P. (2014). Investigación fitoquímica e biológica da espécie vegetal *Salacia impressifolia*. (Tesis de Maestría), Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Obtenido de <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/123419>
- Sáenz, M. T., Fernández, M. A., & García, M. D. (1997). Antiinflammatory and analgesic properties from leaves of *Eryngium foetidum* L. (Apiaceae). *Phytotherapy Research*, 11(5), 380-383. doi:10.1002/(SICI)1099-1573(199708)11:5<380::AID-PTR116>3.0.CO;2-#
- Salamanca, E. (2008). Actividad antiparasitaria múltiple de Alcaloides Totales de Corteza de *Galipea longiflora* Krause Kallunki (Evanta). (Tesis de Maestría), Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia. Obtenido de <http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/228/TM622.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Salamanca, E., Flores, N., Ticona, J. C., Morales, L., Cabrera-Serra, M. G., Piñero, J., . . . Giménez, A. (2013). Actividad antiprotozoaria in vitro de alcaloides totales de corteza

- (CAT) de *Galipea longiflora* Krause Kallunki (evanta) sobre trofozoitos de 2 cepas de *Acanthamoeba*. *Revista Con-Ciencia*, 1(1). Obtenido de [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2310-02652013000100003&script=sci\\_arttext](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2310-02652013000100003&script=sci_arttext)
- Salazar, S. (2016). *Fraccionamiento fitoquímico, perfiles cromatográficos por HPLC y actividad biológica de Plantas Tacana (Parte 3)*. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz-Bolivia: (Infome internado rotatorio).
- Sánchez, J. F. (2011). *Efecto leishmanicida e inmunomodulador in vitro de extractos y compuestos de plantas colombianas de las familias Lauraceae y Rutaceae*. Universidad Nacional de Colombia: (Tesis de Maestría). Obtenido de <http://www.bdigital.unal.edu.co/4130/1/jeyssonfabianSanchezsuarez.2011.pdf>
- Sánchez-Saldaña, L., Sáenz-Anduaga, E., Pancorbo-Mendoza, J., Zegarra-Del-Carpio, R., Garcés-Velasco, N., & Regis-Roggero, A. (2004). Leishmaniasis. *Dermatología Peruana*, 14(2), 82-98. Obtenido de [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v14\\_n2/pdf/a02.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v14_n2/pdf/a02.pdf)
- Sandoval Hurtado, E., MMAyA, & CIPTA. (2015). Sub plan general de manejo forestal de Asaí (Euterpe precatória) Unidad de producción forestal Carmen Pecha. La Paz, Abel Iturralde, Bolivia. Obtenido de <https://info.undp.org/docs/pdc/Documents/BOL/79912ASAI.pdf>
- Sayagh, C., Long, C., Moretti, C., & Lavaud, C. (2012). Saponins and alkaloids from *Abuta grandifolia*. *Phytochemistry Letters*, 5(1), 188-193. doi:10.1016/j.phytol.2011.12.007
- Schmidt, B., Ribnicky, D. M., Poulev, A., Logendra, S., Cefalu, W. T., & Raskin, I. (2008). A natural history of botanical therapeutics. *Metabolism*, 57. doi:10.1016/j.metabol.2008.03.001
- Segura, R., Calderón, J., Toscano, R., Atilano, & Rachel. (1994). Cedrelanolide I, a new limonoid from *Cedrela salvadorensis*. *Tetrahedron Letters*, 35(21), 3427-3440. doi:10.1016/S0040-4039(00)73204-7
- Senthilkumar, P., Dinakaran, M., Yogeewari, P., Sriram, D., China, A., & Nagaraja, V. (2009). Synthesis and antimycobacterial activities of novel 6-nitroquinolone-3-carboxylic acids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(1), 345-358. doi:10.1016/j.ejmech.2008.02.031
- Silva, C., Cruzado, L., Gamarra, C., Caballero, O., & Mantilla, A. (2014). Efecto de *Tessaria integrifolia* R. et P. sobre úlceras gástricas inducidas en *Rattus rattus* var. *albinus*. *Revista Farmaciencia*, 2(1). Obtenido de <http://www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/653/599>
- Sindermann, H., Croft, S., Engel, K., Bommer, W., Eibl, H., Unger, C., & Engel, J. (2004). Miltefosine (Impavido): The first oral treatment against leishmaniasis. *Medical Microbiology and Immunology*, 193(4), 173-180. doi:10.1007/s00430-003-0201-2

- Soares, E. R., da Silva, F. M., de Almeida, R. A., de Lima, B. R., da Silva Filho, F. A., Barison, A., . . . de Souza, A. D. (2015a). Direct infusion ESI-IT-MSn alkaloid profile and isolation of tetrahydroharman and other alkaloids from *Bocageopsis pleiosperma maas* (Annonaceae). *Phytochemical Analysis*, 26(5), 339-345. doi:10.1002/pca.2568
- Soares, E. R., da Silva, F. M., de Almeida, R. A., de Lima, B. R., Koolen, H. H., Lourenço, C. C., . . . de Souza, A. D. (2015b). Chemical composition and antimicrobial evaluation of the essential oils of *Bocageopsis pleiosperma Maas*. *Natural Product Research*, 29(13), 1285-1288. doi:10.1080/14786419.2014.996148
- Soto, J., Rea, J., Balderrama, M., Toledo, J., Soto, P., Valda, L., & Berman, J. D. (2008). Short report: Efficacy of Miltefosine for Bolivian cutaneous leishmaniasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 78(2), 210-211. doi:10.4269/ajtmh.2008.78.210
- Steele, J. C., Simmonds, M. S., Veitch, N. C., & Warhurst, D. C. (1999). Evaluation of the anti-plasmodial activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Abuta grandifolia*. *Planta Medica*, 65(5), 413-416. doi:10.1055/s-1999-14017
- Steverding, D. (2017). The history of leishmaniasis. *Parasites & Vectors*. doi:10.1186/s13071-017-2028-5
- Sun, C. P., Qiu, C. Y., Yuan, T., Nie, X. F., Sun, H. X., Zhang, Q., . . . Qiu, F. (2016b). Antiproliferative and Anti-inflammatory Withanolides from *Physalis angulata*. *Journal of Natural Products*, 79(6), 1586-1597. doi:10.1021/acs.jnatprod.6b00094
- Sun, C.-P., Yuan, T., Wang, L., Kang, N., Zhao, F., Chen, L.-X., & Qiu, F. (2016a). Anti-inflammatory labdane-type diterpenoids from *Physalis angulata*. *Royal Society of Chemistry Advances*, 6(80), 76838. doi:10.1039/C6RA16424B
- Takahashi, M., Fuchino, H., Satake, M., Agatsuma, Y., & Sekita, S. (2004). In vitro screening of leishmanicidal activity in myanmar timber extracts. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(6), 921-925. doi:10.1248/bpb.27.921
- Tariq, A., Adnan, M., Amber, R., Pan, K., Mussarat, S., & Shinwari, Z. K. (2016). Ethnomedicines and anti-parasitic activities of Pakistani medicinal plants against Plasmodia and Leishmania parasites. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. doi:10.1186/s12941-016-0170-0
- Tempone, A. G., Martins de Oliveira, C., & Berlinck, R. G. (2011). Current approaches to discover marine antileishmanial natural products. *Planta Medica*, 77(6), 572-585. doi:10.1055/s-0030-1250663
- Thomas, P. S., Essien, E. E., Ntuk, S. J., & Choudhary, M. I. (2017). *Eryngium foetidum* L. essential oils: Chemical composition and antioxidant capacity. *Medicines*, 4(2). doi:10.3390/medicines4020024

- Ticona, J. C. (2008). Estudio químico de dos plantas bolivianas de la etnia Tacana: Galipea longiflora y Bowdichia virgilioides. (Tesis de Maestría), Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia.
- Toso, A. M., Vial, F. U., & Galanti, N. (2011). Transmisión de la enfermedad de Chagas por vía oral. *Revista Médica de Chile*, 139(2), 258-266. doi:10.4067/S0034-98872011000200017
- Tsai, J. C., Peng, W. H., Chiu, T. H., Lai, S. C., & Lee, C. Y. (2011). Anti-inflammatory effects of *Scoparia dulcis* L. and betulinic acid. *The American Journal of Chinese Medicine*, 39(5), 943-956. doi:10.1142/S0192415X11009329
- Uzcátegui, B., Avila, D., Suárez-Roca, H., Quintero, L., Ortega, J., & González, B. (2004). Anti-inflammatory, antinociceptive, and antipyretic effects of *Lantana trifolia* Linnaeus in experimental animals. *Investigacion Clinica*, 45(4), 317-322. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15602898>
- Valadeau, C., Pabon, A., Deharo, E., Albán-Castillo, J., Estevez, Y., Lores, F. A., . . . Bourdy, G. (2009). Medicinal plants from the Yanasha (Peru): evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(3), 413-422. doi:10.1016/j.jep.2009.03.041
- Van der Auwera, G., & Dujardin, J.-C. (2015). Species typing in dermal leishmaniasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(2), 265-294. doi:10.1128/CMR.00104-14
- Vargas, L. Y., Castelli, M. V., Kouznetsov, V. V., Urbina, J. M., López, S. N., Sortino, M., . . . Zacchino, S. (2003). In vitro antifungal activity of new series of homoallylamines and related compounds with inhibitory properties of the synthesis of fungal cell wall polymers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11(7), 1531-1550. doi:10.1016/S0968-0896(02)00605-3
- Vásquez-Ocmín, P., Cojean, S., Rengifo, E., Suyyagh-Albouz, S., Amasifuen, C. A., Pomel, S., . . . Maciuk, A. (2017). Antiprotozoal activity of medicinal plants used by Iquitos-Nauta road communities in Loreto (Peru). *Journal of Ethnopharmacology*. doi:10.1016/j.jep.2017.08.039
- Veitch, N. C., Wright, G. A., & Stevenson, P. C. (1999). Four new tetranortriterpenoids from *Cedrela odorata* associated with leaf rejection by *Exophthalmus jekelianus*. *Journal of Natural Products*, 62(9), 1260-1263. doi:10.1021/np990151j
- Vermelho, A. B., Capaci, G. R., Rodrigues, I. A., Cardoso, V. S., Mazotto, A. M., & Supuran, C. T. (2017). Carbonic anhydrases from *Trypanosoma* and *Leishmania* as anti-protozoan drug targets. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. doi:10.1016/j.bmc.2017.01.034
- Vidaurre de la Riva, P. J. (2006). Plantas medicinales en los Andes de Bolivia. En M. R. Moraes, L. P. Kvist, F. Borchsenius, & H. Balslev, *Botánica económica de los Andes Centrales* (págs. 268-284). La Paz, Bolivia. Obtenido de

[https://www.researchgate.net/publication/312313242\\_Botanica\\_Economica\\_de\\_los\\_Andes\\_Centrales](https://www.researchgate.net/publication/312313242_Botanica_Economica_de_los_Andes_Centrales)

- Vieira, N. C., Herrenknecht, C., Vacus, J., A., F., Bories, C., Figadère, B., . . . Loiseau, P. M. (2008). Selection of the most promising 2-substituted quinoline as antileishmanial candidate for clinical trials. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 62(10), 684-689. doi:10.1016/j.biopha.2008.09.002
- Vivot, E., Massa, R., Cruañes, M. J., Muñoz, J., Ferraro, G., Gutkind, G., & Martino, V. (2007). Actividad antimicrobiana in vitro de seis especies autóctonas de la flora de Entre Ríos (Argentina). *Latin American Journal of Pharmacy*, 26(4), 563-566. Obtenido de [http://www.latamjpharm.org/trabajos/26/4/LAJOP\\_26\\_4\\_2\\_3\\_T4B0W4Q6U6.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/26/4/LAJOP_26_4_2_3_T4B0W4Q6U6.pdf)
- Williams, C., Espinosa, O. A., Montenegro, H., Cubilla, L., Capson, T. L., Ortega-Barría, E., & Romero, L. I. (2003). Hydrosoluble formazan XTT: its application to natural products drug discovery for Leishmania. *Journal of Microbiological Methods*, 55(3), 813-816. doi:10.1016/j.mimet.2003.08.013
- Wong, K. C., Feng, M. C., Sam, T. W., & Tan, G. L. (1994). Composition of the leaf and root oils of *Eryngium foetidum* L. *Journal of Essential Oil Research*, 6(4), 369-374. doi:10.1080/10412905.1994.9698401
- Yeh, P.-H. (1974). Essential oils XVI oil of *Eryngium foetidum*, Linn. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 21(3), 139-147. doi:10.1002/jccs.197400019
- Zanatta, F., Gandolfi, R. B., Lemos, M., Carlos, T. J., Gimenez, A., Clasen, B. K., . . . de Andrade, S. F. (2009). Gastroprotective activity of alkaloid extract and 2-phenylquinoline obtained from the bark of *Galipea longiflora* Krause (Rutaceae). *Chemico-Biological Interactions*, 180(2), 312-317. doi:10.1016/j.cbi.2009.04.001
- Zelnik, R., & Rosito, C. (1971). Tetranortriterpenoids from *Cedrela fissilis*. *Phytochemistry*, 10(8), 1955-1956. doi:10.1016/S0031-9422(00)86479-1
- Zhang, W. N., & Tong, W. Y. (2016). Chemical Constituents and Biological Activities of Plants from the Genus *Physalis*. *Chemistry & Biodiversity*, 13(1), 48-65. doi:10.1002/cbdv.201400435

## **8. Anexos**

**Anexo 1:** Actividad antiprotozoaria de las 109 especies en estudio (202 extractos crudos) contra epimastigotes de *T. cruzi* y promastigotes de Lma: *L. amazonensis* y M2904: *L. braziliensis*. Los nombres científicos fueron confirmados en International Plant Name Index database (IPNI). Orden alfabético según Nombre Tacana.

N°	Nombre Tacana/ Voucher	Nombre Científico/ Familia	Uso Tacana	Sitio de colecta	Órgano evaluado	<i>T.cruzi</i>	Lma	M2904
						CI <sub>50</sub> µg/ml		
1	Acaranda AS-002	<i>Jacaranda cuspidifolia</i> Mart. Bignoniaceae	Infección urinaria.	S 14°21'917" W 67°33'781"	C	>100	>100	>100
2	Adjadja NM-060	<i>Urera laciniata</i> Wedd. Urticaceae	Reumatismo, resfrío y arrebatos.	S 14°22'619" W 67°33'906"	H, R	>100	>100	78.8±1.3
3	Adjadja tsey AS-022	<i>Solanum caricaefolium</i> Rusby Solanaceae	Granos en la piel.	S 14°21'970" W 67°34'083"	F	>100	>100	>100
4	Ahycha AS-079	<i>Smallanthus cf. siegesbeckia</i> (DC.) H. Rob. Asteraceae	Fiebre, malestar general, mal de ojos y dolor de estómago.	S 14°21'777" W 67°33'730"	Fl	>100	>100	>100
5	Ami jaja AS-103	<i>Neea cf. floribunda</i> Poepp. & Endl. Nyctaginaceae	Para teñir la piel y la ropa color violeta.	S 14°22'619" W 67°33'906"	F	>100	>100	>100
					R	>100	>100	>100
6	Aquí baba AS-005	<i>Himatanthus sukuuba</i> (Spruce) Woodson Apocynaceae	Dolor de músculos y heridas.	S 14°21'779" W 67°34'123"	C	96.9±3.1	>100	63.6±13.7
					H	>100	84.3±4.3	26.2±16.3
					H	>100	84.8±7.1	52.3±12.1
7	Aquí djabi AS-046	<i>Corchorus orinocensis</i> Kunth	Antidiarreico.	S 14°21'960" W 67°33'822"	T	>100	>100	>100
					R	>100	>100	>100

		Tiliaceae			Ra	>100	>100	>100
					H	>100	>100	>100
					I	>100	>100	>100
8	Aqui djawa AS-008	<i>Lantana cf. trifolia</i> L. Verbenaceae	Vómitos, pasmo y dolor de cadera.	S 14°21'794" W 67°33'755"	Ra	>100	>100	>100
					H	22.1±2.3	17.9±0.5	23.2±1.8
					T	>100	>100	>100
9	Aqui djewe AS-045	<i>Psychotria sp.</i> Rubiaceae	Epilepsia.	S 14°21'965" W 67°33'835"	H	>100	>100	>100
					R	>100	>100	>100
10	Aqui tima AS-007	<i>Myrcia sp</i> Myrataceae.	Dolor de estómago.	S 14°21'408" W 67°34'770"	H	>100	>100	>100
					R	>100	>100	>100
11	Aqui tseru AS-080	<i>Ouratea cf.</i> <i>flexuosa</i> Rusby Ochnaceae	Diarrea y dolor de estómago.	S 14°21'429" W 67°34'621"	H	>100	>100	>100
					R	>100	>100	>100
12	Arana aquí AS-053	<i>Schefflera</i> <i>morototoni</i> (Aubl.) Maguire, Steyerl. & Frodin Araliaceae	Hemorroides y dolor de cadera.	S 14°21'333" W 67°34'649"	C	>100	>100	>100
					H	50.0±13.9	76.8±3.9	43.7±16.2
13	Atarisi tse ai AS-001	<i>Cyathea sp.</i> Cyatheaceae	Heridas, diabetes y golpes.	S 14°22'650" W 67°34'403"	G	>100	>100	>100
14	Atarisi Huachidhi NM-054	<i>Adiantum cf.</i> <i>latifolium</i> Lam. Adiantaceae	Hongos de la piel y heridas.	S 14°22'538" W 67°33'880"	H, R, Ra	>100	78.4±3.3	25.0±2.2
					R	>100	>100	>100
15	Bacua etse AS-068	<i>Scoparia dulcis</i> L. Scrophulariaceae	Para tuberculosis, antiinflamatorio y para dolor de cabeza.	S 14°21'583" W 67°33'388"	H, F	40.8±4.0	23.9±4.1	25.1±1.2
					Ra	>100	>100	53.2±3.4
16	Bacua ina AS-011	<i>Pharus latifolius</i> L. Poaceae	Dolor de estómago, disentería y	S 14°21'408" W 67°34'770"	H	>100	>100	>100

			picadura de víbora.					
17	Bacua rudhu NM-061	<i>Hippeastrum puniceum</i> (Lam.) Kuntze Amaryllidaceae	Antifúngico.	S 14°22'154" W 67°34'218"	B	85.0±3.6	79.1±10.6	>100
						91.4±0.9	>100	>100
18	Bacua tidja AS-109	<i>Heliotropium indicum</i> L.  Boraginaceae	Infección urinaria y vómitos.	S 14°22'171" W 67°34'081"	H, T	>100	28.6±6.7	21.1±1.7
					I	>100	>100	>100
19	Bata	<i>Cochlospermum sp.</i> Cochlospermaceae	Fortificante de niños enfermos.	S 14°21'988" W 67°34'051"	C	>100	>100	>100
20	Batsuno tidja AS-035	<i>Andropogon bicornis</i> L. Poaceae	Antiinflamatorio y hernia.	S 14°21'974" W 67°34'112"	H	>100	>100	>100
					T	>100	>100	>100
					Ra	>100	>100	>100
					S	>100	>100	>100
21	Bechu ina AS-110	<i>Talinum paniculatum</i> (Jacq.) Gaertn. Portulacaceae	Fiebre y hongos de la piel.	S 14°21'967" W 67°33'764"	H	84.8±12.5	66.2±2.9	41.5±7.1
					R	>100	93.5±4.6	93.0±1.0
22	Bes'a bes'a ejije tara ina AS-096	<i>Alocasia macrorrhizos</i> (L.) G. Don Araceae	Hongos de la piel e inflamación.	S 14°21'949" W 67°33'753"	Ra	>100	>100	>100
23	Bi	<i>Genipa americana</i> L. Rubiaceae	Diarrea, tétanos, heridas, caries, para teñir la piel y ropa de color azul.	S 14°21'949" W 67°33'753"	C	>100	>100	>100
24	Buata AS-116	<i>Cydista sp.</i> Bignoniaceae	Mal de ojo e inflamación de amígdalas.	S 14°22'155" W 67°34'222"	H, T	>100	>100	>100
					Ra	>100	>100	>100

25	Budju budjui djewe AS-016	<i>Costus arabicus</i> L. Costaceae	Dolor de cabeza con fiebre e hinchazón.	S 14°21'967" W 67°33'764"	H	>100	69.6±0.4	83.1±16.9
					T	>100	>100	>100
26	Buinapaqui AS-051	<i>Guarea macrophylla</i> Vahl Meliaceae	Diabetes, diarrea y antiparasitario.	S 14°22'492" W 67°33'880"	C	69.2±17.5	52.2±4.0	38.4±1.7
27	Buwe aqui AS-114	<i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth.) Hook.f. ex K.Schum. Rubiaceae	Diarrea, acné y rasquiña.	S 14°21'299" W 67°34'623"	C	>100	>100	>100
28	Cawuara AS-014	<i>Tessaria integrifolia</i> Ruíz & Pav. Asteraceae	Picadura de raya y leishmaniasis.	S 14°22'048" W 67°34'064"	H	58.5±18.2	54.2±9.6	31.6±10.2
					R	>100	78.5±4.0	58.6±5.4
29	Cawuasha	Pendiente identificación botánica	Infección intestinal, dolor de estómago, cabeza, mal de ojo y fiebre amarilla.	S 14°21'716" W 67°33'632"	H	>100	95.4±2.9	88.3±9.5
					Ra	>100	>100	>100
30	Cawuasha baba NM-064	<i>Scleria cf. macrophylla</i> J.Presl & C.Presl Cyperaceae	Fiebre.	S 14°22'155" W 67°34'222"	H	>100	>100	>100
					Ra	>100	>100	>100
31	Cepa de caballo AS-021	<i>Heliocarpus americanus</i> L. Tiliaceae	Diarrea con sangre (resfrio), mordedura de serpiente y para pulmones.	S 14°22'154" W 67°34'218"	Ra	>100	>100	>100
32	Chadhi aqui shaka AS-023	<i>Hirtella bullata</i> Benth. Chrysobalanaceae	Carachas y sarpullido.	S 14°21'361" W 67°34'683"	C	>100	>100	>100

33	Chadhi ina NM-024	<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass. Asteraceae	Para caracha.	S 14°21'611" W 67°33'448"	H	>100	>100	>100
					T	>100	>100	>100
					Ra	>100	>100	>100
34	Cheperequi AS-120	<i>Jacaranda glabra</i> (DC.) Bureau & K.Schum. Bignoniaceae	Antiparasitario, dolor de estómago, sarna, rasquiña, leishmaniasis y carachas.	S 14°21'558" W 67°34'477"	C	81.6±4.6	29.8±3.6	17.4±2.7
35	Chiwuama AS-029	<i>Phytolacca rivinoides</i> Kunth & C.D.Bouché Phytolaccaceae	Verrugas.	S 14°21'994" W 67°34'053"	H, E	>100	58.2±7.7	41.2±0.1
					T	>100	>100	>100
					Ra	>100	>100	>100
36	Chuabarere ina AS-030	<i>Dioscorea sp.</i> Dioscoreaceae	Presión alta y mareo.	S 14°22'028" W 67°34'088"	H	>100	>100	>100
					T	>100	76.7±1.8	87.5±0.1
37	Cuatro cantos AS-038	<i>Pluchea sagittalis</i> Less. Asteraceae	Riñones, inflamación de hígado, corazón y vesícula.	S 14°22'048" W 67°34'064"	P	>100	37.9±2.9	33.7±11.6
					H	40.8±5.4	68.6±0.3	55.3±13.7
38	Dhiji AS-018	<i>Spondias sp.</i> Anacardiaceae	Próstata, sabañón y antiparasitario.	S 14°21'439" W 67°34'707"	C	>100	>100	>100
39	Dhutida AS-040	<i>Phlebodium decumanum</i> (Willd.) J. Sm. Polypodiaceae	Vesícula y cicatrizante	S 14°21'967" W 67°33'764"	L	>100	>100	>100
40	D'ije badju quid'a AS-026	<i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sarg. Ulmaceae	Antiinflamatorio , caracha, vesícula, hemorragia de la mujer y	S 14°22'048" W 67°33'764"	H	>100	59.3±3.6	76.8±10.0

fortificante post parto.								
41	Djeru ina AS-039	<i>Tilesia baccata</i> (L.) Pruski Asteraceae	Para orzuelo.	S 14°21'716" W 67°33'632"	H	>100	>100	92.7±1.3
					FI	>100	>100	>100
42	Djipicu AS-086	<i>Bocageopsis sp.</i> Annonaceae	Infecciones de la piel.	S 14°21'428" W 67°34'626"	H	28.3±0.4	37.9±6.2	19.1±2.3
43	Djududu huatsi AS-042	<i>Philodendron camposportoanum</i> G.M. Barroso Araceae	Inflamación de riñones.	S 14°21'299" W 67°34'623"	H	92.5±0.8	81.2±5.2	>100
44	Ebid'a jaja AS-009	<i>Euterpe longevaginata</i> Mart. Arecaceae	Antiparasitario, fortificante, para fiebre e hinchazón.	S 14°21'627" W 67°34'450"	Ra	>100	>100	>100
					H	>100	>100	>100
45	Ebus'a ina AS-043	<i>Porophyllum ruderale</i> (Jacq.) Cass. Asteraceae	Hongos, granos de la cara y leishmaniasis (ulceras).	S 14°21'820" W 67°33'692"	H, P	>100	>100	83.8±3.0
					R	>100	>100	>100
46	Ejije bid'u AS-003	Pendiente Euphorbiaceae	Para dolores musculares, quemaduras, rasquiña y cicatrizante.	S 14°21'299" W 67°34'623"	R	>100	>100	30.6±7.8
					H	12.4±0.5	17.8±0.4	13.3±4.1
47	Enredadera AS-047	Pendiente Leg.papilionoideae	Hongos.	S 14°21'904" W 67°33'827"	Ra	99.9±0.1	>100	>100
48	Etid'equi AS-102	<i>Vitex cymosa</i> Bert. ex Spreng. Lamiaceae	Antidiarreico y coqueluche.	S 14°21'428" W 67°34'626"	H	>100	>100	59.3±1.1
					R	>100	>100	39.0±30.6
49	Etsau ina AS-095	<i>Asplenium serra</i> Langsd. & Fisch. Aspleniaceae	Para fractura de huesos.	S 14°21'439" W 67°34'681"	T	>100	>100	>100

50	Evanta dheja AS-127	Pendiente identificación botánica	Antiparasitario.	S 14°21'790" W 67°34'108"	C	67.5±7.6	68.8±9.2	57.7±13.0
51	Guapurosillo AS-052	<i>Solanum americanum</i> Mill. Solanaceae	Infección estomacal y enema.	S 14°21'969" W 67°33'764"	H	>100	>100	86.0±0.4
					T	>100	>100	>100
					F	>100	>100	>100
52	Hierba de la suerte AS-056	<i>Ocotea sp.</i> Lauraceae	Várices.	S 14°21'465" W 67°34'467"	H	>100	74.4±10.4	79.4±9.9
					C	>100	>100	>100
53	Huabu Quere Ina AS-057	<i>Erythrochiton fallax</i> Kallunki Rutaceae	Infecciones de la piel en perros.	S 14°21'434" W 67°34'744"	C	>100	>100	>100
					H	85.8±8.7	>100	55.5±16.2
54	Huacanqui NM-113	<i>Asemeia acuminata</i> (Willd.) J.F.B.Pastore & J.R.Abbott Polygalaceae	Para nervios, tranquilizante.	S 14°21'996" W 67°34'037"	H	97.7±2.3	62.0±0.3	46.2±0.5
					Ra	91.5±1.9	>100	>100
					T	>100	>100	>100
					Fl	>100	>100	>100
55	Huanu Huanu equi AS-050	<i>Siparuna sp.</i> Monimiaceae	Diarrea, coqueluche y tos.	S 14°21'931" W 67°33'761"	C	>100	>100	>100
56	Hueruru AS-115	<i>Lunania parviflora</i> Spruce ex Benth. Flacourtiaceae	Infecciones de la piel.	S 14°21'299" W 67°34'623"	H	>100	>100	>100
					R	>100	>100	>100
57	Huiru huiru AS-112	<i>Stachytarpheta cayennensis</i> (Rich.) Vahl Verbenaceae	Hongos de la piel, diarrea y vómitos.	S 14°21'820" W 67°33'692"	T	>100	>100	>100
					Ra	>100	28.2±3.0	65.6±19.0
58	Id'ene eidhue AS-055	<i>Hyptis brevipes</i> Poit. Lamiaceae	Antiparasitario.	S 14°21'630" W 67°33'496"	H	14.6±3.2	13.1±1.0	5.3±0.4
59	Id'ene shaka AS-006	<i>Croton hirtus</i> L'Her. Euphorbiaceae	Dolor de dientes.	S 14°21'715" W 67°33'629"	H	>100	>100	>100

60	Ina Paque AS-044	<i>Senna hirsuta</i> (L.) H.S.Irwin & Barneby Caesalpiniaceae	Antiparasitario.	S 14°21'660" W 67°33'540"	H	>100	>100	>100
					T	>100	>100	48.3±7.7
61	Inama aquí AS-069	<i>Senna hirsuta</i> (L.) H.S.Irwin & Barneby Caesalpiniaceae	Hongos de la piel, pitai y próstata.	S 14°21'843" W 67°34'106"	H	92.4±7.7	67.8±0.6	62.0±14.8
62	Inama ina AS-058	<i>Senna pendula</i> (Willd.) H.S.Irwin & Barneby Caesalpiniaceae	Hongos de la piel.	S 14°21'820" W 67°33'692"	H	>100	>100	87.6±6.2
					Ra	>100	>100	>100
63	Japauro AS-083	<i>Thalia geniculata</i> L. Marantaceae	Para diarreas, pasmos y cicatrizante.	S 14°22'688" W 67°33'957"	T	45.4±3.9	57.7±7.5	22.7±2.3
					Ra	29.0±5.1	29.5±5.1	17.6±0.8
64	Jariri djere AS-015	<i>Stigmaphyllon</i> <i>strigosum</i> A.Juss. Malpighiaceae	Ardor estomacal.	S 14°21'907" W 67°33'745"	Ci	82.3±17.7	>100	>100
65	Junu Huidudu AS-063	<i>Macfadyena uncatata</i> (Andrews) Sprague & Sandwith Bignoniaceae	Diarrea con sangre (resfrio) y mal de ojo.	S 14°21'636" W 67°34'236"	H	>100	>100	>100
					R	>100	78.0±8.2	>100
66	Juracua yana equi AS-066	<i>Swartzia myrtifolia</i> Sm. Caesalpiniaceae	Hernia.	S 14°21'404" W 67°34'758"	H	>100	>100	83.6±7.3
					C	>100	>100	>100
67	Kipabi tid'i AS-048	<i>Aspidosperma</i> sp. Apocynaceae	Rasquiña, golpes, paludismo y hemorragias.	S 14°21'583" W 67°33'388"	C	>100	>100	>100
68	Kuabadhu AS-019	<i>Cedrela</i> sp. Meliaceae	Antiparasitario, caracha, para el sobrepardo y/o	S 14°21'917" W 67°33'781"	C	59.0±24.0	36.8±2.8	18.2±1.5

			hemorragia de la mujer.					
69	Kuatsui AS-020	<i>Erythrina sp.</i> Fabaceae	Hemorroides e infección del recto.	S 14°21'967" W 67°33'764"	C	70.9±5.4	28.6±3.8	30.5±7.9
70	Majo AS-067	<i>Oenocarpus sp.</i> Arecaceae	Amebiasis, mal de pulmón, hígado, fiebre y para el cabello.	S 14°21'434" W 67°34'744"	H	>100	>100	>100
71	Maransera AS-071	<i>Erechtites hieraciifolius</i> var. <i>cacalioides</i> (Fisch. ex Spreng.) Griseb. Asteraceae	Cicatrizante y para madurar granos.	S 14°21'820" W 67°33'692"	H	>100	75.9±2.2	84.0±5.2
					Ra	>100	>100	>100
					P	>100	>100	>100
					T	>100	>100	>100
72	Midha dhahua AS-072	<i>Nectandra sp.</i> Lauraceae	Cólico de niños y fortificante.	S 14°21'299" W 67°34'623"	H	>100	>100	>100
73	Mue sumo ina AS-075	<i>Eryngium foetidum</i> L. Apiaceae	Para arritmias, heridas, cortaduras y picadura de raya.	S 14°21'966" W 67°33'767"	Ra	53.4±15.6	30.5±3.3	13.4±2.3
					H, T	33.1±9.0	11.7±0.01	37.6±4.6
74	Mutiru ina AS-097	<i>Anthurium croatii</i> Madison Araceae	Para que los niños aprendan a caminar.	S 14°21'949" W 67°33'753"	Ra	>100	>100	>100
75	Nahuarau AS-077	<i>Ocimum micranthum</i> Willd. Lamiaceae	Mocheo, fiebre, carnosidad de ojo y estimulante de leche.	S 14°22'155" W 67°34'222"	H	>100	63.9±2.4	14.1±3.9
					T	>100	25.8±6.6	9.8±1.2
					Ra	99.2±0.8	28.8±8.7	12.5±1.5
76	Naiqui, Naiki AS-049	<i>Otoba cf. parvifolia</i> (Markgr.) A.H.Gentry	Cicatrizante y para mordedura	S 14°21'949" W 67°33'753"	C	>100	>100	>100

		Myristicaceae	de animales en perros.					
77	Naru naru id'ene AS-076	<i>Amaranthus spinosus</i> L. Amaranthaceae	Hongos de la piel e inflamación.	S 14°22'035" W 67°34'010"	T, H	>100	>100	>100
					H	>100	>100	>100
					I	>100	>100	>100
					T, R	>100	>100	>100
					Ra	>100	>100	31.7±12.6
78	Nuriri ina NM-078	<i>Chamaesyce hyssopifolia</i> (L.) Small Euphorbiaceae	Conjuntivitis y cataratas.	S 14°21'611" W 67°33'448"	H, R	>100	>100	63.7±23.0
79	Nuriri jaja AS-087	<i>Abuta grandifolia</i> (Mart.) Sandwith Menispermaceae	Infección intestinal y de la piel.	S 14°21'434" W 67°34'744"	T	>100	>100	>100
					H	52.8±34.4	38.3±4.2	31.1±13.1
80	Paja jaja AS-081	<i>Carica microcarpa</i> Jacq. Caricaceae	Vómitos y tullidos.	S 14°22'647" W 67°33'935"	T, Ra	>100	>100	>100
81	Panu AS-031	<i>Salacia impressifolia</i> (Miers) A.C.Sm. Celastraceae	Reumatismo, resfrio, calambres e impotencia masculina.	S 14°22'410" W 67°34'203"	Ra	35.5±11.9	21.6±1.6	9.3±0.2
					C	>100	>100	81.6±5.2
82	Papa huana AS-012	<i>Smilax fluminensis</i> Steud. Smilacaceae	Para riñones, vesícula y pulmones.	S 14°21'934" W 67°34'103"	Rp	>100	>100	>100
83	Penoco	Pendiente identificación botánica	Hongos de la piel.	S 14°21'969" W 67°33'746"	C	>100	>100	>100
84	Quid'i juno AS-065	<i>Iresine diffusa</i> Humb. & Bonpl. ex Willd. Amaranthaceae	Hongos de la piel.	S 14°22'035" W 67°34'010"	I	19.2±5.1	30.5±7.1	11.1±2.5
					T, R	>100	>100	>100
					Ra	>100	>100	>100

					H	34.2±9.9	37.3±1.4	29.4±2.5
85	Rauqui AS-013	<i>Chomelia sp.</i> Rubiaceae	Infección urinaria.	S 14°21'763" W 67°34'070"	H, R	>100	>100	>100
86	R'i baba, ridha ridhaAS-089	<i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. Verbenaceae	Picadura de insectos.	S 14°22'619" W 67°33'906"	H T	15.4±3.0 >100	13.9±3.0 >100	16.0±1.4 >100
87	Riba ribayAS-090	<i>Priva lappulacea</i> (L.) Pers. Verbenaceae	Para diarrea con sangre y vesícula.	S 14°22'155" W 67°34'222"	Pe	>100	>100	>100
88	R'idha r'idha de otro tipo AS-091	<i>Hybanthus biacuminatus</i> (Rusby) Schulze-Menz Violaceae	Dolor de espalda.	S 14°22'155" W 67°34'222"	H, R Ra	>100 >100	>100 >100	>100 >100
89	S'apuraquina AS-092	Pendiente Sapotaceae	Infección intestinal.	S 14°21'438" W 67°34'728"	C	>100	98.4±1.1	>100
90	Sauce AS-093	<i>Salix humboldtiana</i> Willd. Salicaceae	Picadura de raya.	S 14°22'048" W 67°34'064"	H R	>100 >100	>100 >100	>100 >100
91	S'aute UjaAS-085	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe Zingiberaceae	Antiparasitario, diarrea con sangre (resfrio), calambres y dolor de estómago.	S 14°22'099" W 67°34'113"	Rz	>100	>100	>100
92	Siringuero ina AS-094	<i>Vitex sp.</i> Lamiaceae	Infecciones de la piel.	S 14°21'441" W 67°34'711"	H H	>100 76.0±0.3	14.8±2.4 37.7±3.3	93.0±4.4 79.7±14.9
93	Stite midja AS-033	<i>Ficus coerulescens</i> (Rusby) Rossberg Mooraceae	Quebradura de huesos,	S 14°21'969" W 67°33'764"	H R	>100 34.0±1.6	>100 23.6±3.8	>100 84.5±15.6

				hinchazón y hernia.				
94	Stite tidha AS-034	<i>Stachytarpheta cayennensis</i> (Rich.) Vahl Verbenaceae	Riñones, orina color café, dolor de cabeza, fiebre y arrebatos.	S 14°22'155" W 67°34'222"	H	>100	>100	97.0±3.1
					I, R	>100	77.8±9.2	>100
					Ra	>100	>100	>100
95	Sujo AS-098	<i>Imperata sp.</i> Poaceae	Mal de oídos.	S 14°22'099" W 67°34'113"	T	>100	>100	>100
					P	>100	>100	>100
96	Tahua midha AS-004	<i>Cecropia cf. concolor</i> Willd. Urticaceae	Carachas.	S 14°22'678" W 67°34'398"	H	>100	97.4±3.2	88.4±11.0
					T, R	>100	>100	>100
97	Tanuri nuri AS-101	<i>Chamaesyce hirta</i> (L.) Millsp. Euphorbiaceae	Conjuntivitis, cataratas y diarrea con sangre.	S 14°21'847" W 67°33'828"	H	>100	>100	75.1±11.6
					T, R	>100	55.5±14.6	38.9±4.1
98	Tapacha ina AS-088	<i>Hyptis mutabilis</i> (Rich.) Briq. Lamiaceae	Infección urinaria, próstata, caracha, leishmaniasis, vómitos, diarrea y arrebatos.	S 14°22'007" W 67°34'004"	H	22.5±6.8	29.7±1.1	9.8±0.8
					T	>100	>100	92.2±7.9
					Ra	>100	97.8±2.3	>100
99	Tara AS-036	<i>Jatropha curcas</i> L. Euphorbiaceae	Empeine y sarna.	S 14°22'492" W 67°33'880"	H	>100	69.4±6.1	51.8±12.9
					T, Ra	>100	>100	>100
100	Teini tumati AS-105	<i>Physalis angulata</i> L. Solanaceae	Malaria, fiebre y caracha.	S 14°21'967" W 67°33'764"	F	38.5±2.4	17.6±1.8	43.5±0.3
					H, R	34.9±6.3	43.0±3.1	52.4±6.8
					Ra	>100	>100	>100
					H	55.9±8.6	72.4±10.1	41.3±0.4
101	Toronjil AS-106	<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson	Presión alta y dolor de estómago.	S 14°22'124" W 67°34'161"	H	88.3±9.0	>100	34.6±0.2
					T	>100	>100	>100
					I	>100	96.6±3.5	79.4±20.6

		Verbenaceae			Ra	83.7±3.2	18.9±5.7	13.8±2.1	
102	Tsame ina AS-025	<i>Justicia cf. comata</i> (L.) Lam. Acanthaceae	Diarrea y vómitos.	S 14°22'196" W 67°33'903"	H	>100	>100	>100	
					R	>100	>100	>100	
					Ra	>100	>100	>100	
103	Tsiqui AS-037	<i>Scleria arguta</i> (Nees) Steud. Cyperaceae	Calambres y para esterilizar mujeres.	S 14°21'974" W 67°34'112"	T	>100	>100	>100	
					Ra	>100	>100	>100	
104	Tumi	Pendiente Palmae	Antiparasitario y fortificante.	S 14°21'967" W 67°33'764"	Re	>100	>100	>100	
					Ri	>100	>100	>100	
105	Tumu juno NM-074	<i>Geophila macropoda</i> (Ruiz & Pav.) DC. Rubiaceae	Infecciones de la uña.	S 14°21'966" W 67°33'766"	H	>100	>100	>100	
					T, Ra	>100	>100	>100	
106	Turu id'ene AS-107	<i>Iresine diffusa</i> Humb. & Bonpl. ex Willd. Amaranthaceae	Para niños con dificultad de caminar.	S 14°21'691" W 67°34'132"	H	>100	>100	84.4±1.9	
					T	>100	>100	>100	
					Ra	>100	>100	>100	
107	Udhuriqui idhiria AS-100	<i>Tabebuia serratifolia</i> (Vahl) G.Nicholson Bignoniaceae	Fortificante	S 14°21'434" W 67°34'744"	H	>100	>100	73.8±11.6	
					T	>100	>100	45.6±38.8	
108	Umas'a ina AS-099	<i>Nicotiana cf. tabacum</i> L. Solanaceae	Para madurar granos.	S 14°21'949" W 67°33'753"	Pe	>100	>100	>100	
109	Yuhua equi AS-059	<i>Astronium sp.</i> Anacardiaceae	Para el aire de ojo.	S 14°22'370" W 67°34'251"	C	>100	>100	>100	
<b>Drogas de referencia y controles naturales</b>									
						Nifurtimox	1.8±0.2	ND	ND
						Benznidazol	10.5±2.5	ND	ND

Alcaloides Totales de Corteza (CAT) de Evanta	19.3±3.1	20.1±2.5	18.6±2.2
2-fenilquinolina (2FQ)	25.6±5.7	23.7±5.9	26.6±8.8
Miltefosina	ND	10.0±2.4	6.7±1.8
Anfotericina B	ND	0.2±0.1	0.15±0.03

ND = No Determinado

Nota: B: Bulbo; C: Corteza; Ci: Corteza interna; E: Espinas; F: Frutos; Fl: Flores; G: Guía interna; H: Hojas; I: Inflorescencia; L: Liana; Pe: Planta entera; P: Polen; R: Ramas; Ra: Raíz; Re: Raíz externa; Ri: Raíz interna; Rz: Rizoma; Rp: Raíz con púas; S: Semillas; T: Tallo

**Anexo 2:** Especies vegetales activas para *Trypanosoma cruzi*, N° proviene de Anexo 1.

N°	Nombre Tacana	Nombre Científico	Órgano evaluado	T.cruzi CI <sub>50</sub> µg/ml
<b>Especies vegetales muy activas</b>				
8	Aqui djawa	<i>Lantana cf. trifolia</i>	H	22.1±2.3
46	Ejije bid'u	Pendiente	H	12.4±0.5
58	Id'ene eidhue	<i>Hyptis brevipes</i>	H	14.6±3.2
84	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	I	19.2±5.1
86	R'i baba, ridha ridha	<i>Priva lappulacea</i>	H	16.0±1.4
98	Tapacha ina	<i>Hyptis mutabilis</i>	H	22.5±6.8
<b>Especies vegetales con moderada actividad</b>				
12	Arana aquí	<i>Schefflera morototoni</i>	H	50.0±13.9
15	Bacua etse	<i>Scoparia dulcis</i>	H, F	40.8±4.0
37	Cuatro cantos	<i>Pluchea sagittalis</i>	H	40.8±5.4
42	Djipicu	<i>Bocageopsis sp.</i>	H	28.3±0.4
63	Japauro	<i>Thalia geniculata</i>	T	45.4±3.9
			Ra	29.0±5.1
73	Mue sumo ina	<i>Eryngium foetidum</i>	H, T	33.1±9.0
81	Panu	<i>Salacia impressifolia</i>	Ra	35.5±11.9
84	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	H	34.2±9.9
100	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>	F	38.5±2.4
			H, R	34.9±6.3
		Nifurtimox		1.8±0.2
		Benznidazol		10.5±2.5
		CAT		19.3±3.1
		2FQ		25.6±5.7

**Anexo 3:** Especies vegetales activas para *L. amazonensis* (Lma), N° proviene de Anexo 1.

N°	Nombre Tacana	Nombre Científico	Órgano evaluado	Lma
				CI <sub>50</sub> µg/ml
<b>Especies vegetales muy activas</b>				
8	Aqui djawa	<i>Lantana cf. trifolia</i>	H	17.9±0.5
15	Bacua etse	<i>Scoparia dulcis</i>	H, F	23.9±4.1
46	Ejije bid'u	Pendiente	H	17.8±0.4
58	Id'ene eidhue	<i>Hyptis brevipes</i>	H	13.1±1.0
73	Mue sumo ina	<i>Eryngium foetidum</i>	H, T	11.7±0.01
81	Panu	<i>Salacia impressifolia</i>	Ra	21.6±1.6
86	R'i baba, ridha ridha	<i>Priva lappulacea</i>	H	15.4±3.0
100	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>	F	17.6±1.8
101	Toronjil	<i>Lippia alba</i>	Ra	18.9±5.7
<b>Especies vegetales con moderada actividad</b>				
18	Bacua tidja	<i>Heliotropium indicum</i>	H, T	28.6±6.7
34	Cheperequi	<i>Jacaranda glabra</i>	C	29.8±3.6
37	Cuatro cantos	<i>Pluchea sagittalis</i>	P	37.9±2.9
42	Djipicu	<i>Bocageopsis sp.</i>	H	37.9±6.2
57	Huira huira	<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Ra	28.2±3.0
63	Japauo	<i>Thalia geniculata</i>	Ra	29.5±5.1
68	Kuabadhu	<i>Cedrela sp.</i>	C	36.8±2.8
69	Kuatsui	<i>Erythrina sp.</i>	C	28.6±3.8
73	Mue sumo ina	<i>Eryngium foetidum</i>	Ra	30.5±3.3
75	Nahuarau	<i>Ocimum micranthum</i>	T	25.8±6.6
			Ra	28.8±8.7
79	Nuriri jaja	<i>Abuta grandifolia</i>	H	38.3±4.2
84	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	I	30.5±7.1
			H	37.3±1.4
93	Stite midja	<i>Ficus coerulescens</i>	R	34.0±1.6
98	Tapacha ina	<i>Hyptis mutabilis</i>	H	29.7±1.1
100	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>	H, R	43.0±3.1
		Miltefosina		10.0±2.4
		Anfotericina B		0.2±0.1
		CAT		20.1±2.5
		2FQ		23.7±5.9

**Anexo 4:** Especies vegetales activas para *L. braziliensis* (M2904), N° proviene de Anexo 1.

N°	Nombre Tacana	Nombre Científico	Órgano evaluado	M2904
				CI <sub>50</sub> µg/ml
<b>Especies vegetales muy activas</b>				
8	Aqui djawa	<i>Lantana cf. trifolia</i>	H	23.2±1.8
14	Atarisi Huachidhi	<i>Adiantum cf. latifolium</i>	H, R, Ra	25.0±2.2
18	Bacua tidja	<i>Heliotropium indicum</i>	H, T	21.1±1.7
34	Cheperequi	<i>Jacaranda glabra</i>	C	17.4±2.7
42	Djipicu	<i>Bocageopsis sp.</i>	H	19.1±2.3
46	Ejije bid'u	Pendiente	H	13.3±4.1
58	Id'ene eidhue	<i>Hyptis brevipes</i>	H	5.3±0.4
63	Japauo	<i>Thalia geniculata</i>	Ra	17.6±0.8
			T	22.7±2.3
68	Kuabadhu	<i>Cedrela sp.</i>	C	18.2±1.5
73	Mue sumo ina	<i>Eryngium foetidum</i>	Ra	13.4±2.3
75	Nahuarau	<i>Ocimum micranthum</i>	H	14.1±3.9
			T	9.8±1.2
			Ra	12.5±1.5
81	Panu	<i>Salacia impressifolia</i>	Ra	9.3±0.2
84	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	I	11.1±2.5
86	R'i baba, ridha ridha	<i>Priva lappulacea</i>	H	13.9±3.0
92	Siringuero ina	<i>Vitex sp.</i>	H	14.8±2.4
93	Stite midja	<i>Ficus coerulescens</i>	R	23.6±3.8
98	Tapacha ina	<i>Hyptis mutabilis</i>	H	9.8±0.8
101	Toronjil	<i>Lippia alba</i>	Ra	13.8±2.1
<b>Especies vegetales con moderada actividad</b>				
6	Aquí baba	<i>Himatanthus sucuuba</i>	H	26.2±16.3
12	Arana aquí	<i>Schefflera morototoni</i>	H	43.7±16.2
15	Bacua etse	<i>Scoparia dulcis</i>	H, F	25.1±1.2
21	Bechu ina	<i>Talinum paniculatum</i>	H	41.5±7.1
26	Buinapaqui	<i>Guarea macrophylla</i>	C	38.4±1.7
28	Cawuara	<i>Tessaria integrifolia</i>	H	31.6±10.2
35	Chiwuama	<i>Phytolacca rivinoides</i>	H, E	41.2±0.1
37	Cuatro cantos	<i>Pluchea sagittalis</i>	P	33.7±11.6
46	Ejije bid'u	Pendiente	R	30.6±7.8
48	Etid'equi	<i>Vitex cymosa</i>	R	39.0±30.6
54	Huacanqui	<i>Asemeia acuminata</i>	H	46.2±0.5
60	Ina Paque	<i>Senna hirsuta</i>	T	48.3±7.7
69	Kuatsui	<i>Erythrina sp.</i>	C	30.5±7.9

73	Mue sumo ina	<i>Eryngium foetidum</i>	H, T	37.6±4.6
77	Naru naru id'ene	<i>Amaranthus spinosus</i>	Ra	31.7±12.6
79	Nuriri jaja	<i>Abuta grandifolia</i>	H	31.1±13.1
84	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	H	29.4±2.5
92	Siringuero ina	<i>Vitex sp.</i>	H	37.7±3.3
97	Tanuri nuri	<i>Chamaesyce hyssopifolia</i>	T, R	38.9±4.1
100	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>	F	43.5±0.3
			H	41.3±0.4
101	Toronjil	<i>Lippia alba</i>	H	34.6±0.2
107	Udhuriqui idhiria	<i>Tabebuia serratifolia</i>	T	45.6±38.8
		Miltefosina		6.7±1.8
		Anfotericina B		0.15±0.03
		CAT		18.6±2.2
		2FQ		26.6±8.8

**Anexo 5:** Plantas con uso tradicional Tacana relacionado a la leishmaniasis, parte de la planta utilizada para el tratamiento y modo de preparación, y órgano colectado y evaluado contra Lma y M2904. Co: Cogollo; La: Látex; Rs: Resina

N°	Nombre Tacana	Nombre Científico	Uso Tacana/ Órgano utilizado	Modo de preparación y tratamiento	Órgano evaluado	Lma	M2904
						CI <sub>50</sub> µg/ml	
3	Adjadja tse ay	<i>Solanum caricaefolium</i>	Granos en la piel. F	Aplicar el estrujado del jugo de fruta sobre la parte afectada con una tela, dejar 15 min y lavar.	F	>100	>100
6	Aquí baba	<i>Himatanthus sucuuba</i>	Dolor de músculos y heridas. La	Beber una taza de agua fría con 3 gotas de látex, preparar un parche con el látex y colocar donde hay dolor, para dolores musculares. Aplicar el látex en el área afectada, para heridas.	H	84.3±4.3	26.2±16.3
13	Atarisi tse ai	<i>Cyathea sp.</i>	Heridas, diabetes y golpes. Co, G	Aplicar un cataplasma del cogollo tierno y rallado sobre heridas o golpes. Decocción de un puñado de la guía fresca en 2L de agua dejar disminuir hasta 1 L, beber 1 taza/día hasta mejora, para la diabetes (a menudo con savia de <i>Uncaria tomentosa</i> "uña de gato").	G	>100	>100
14	Atarisi Huachidhi	<i>Adiantum cf. Latifolium</i>	Hongos de la piel y heridas. Pe	Aplicar tópicamente el jugo del estrujado de la planta fresca el área afectada.	H, R, Ra	78.4±3.3	25.0±2.2
15	Bacua etse	<i>Scoparia dulcis</i>	Para tuberculosis, antiinflamatorio y para dolor de cabeza. Pe	Colocar un cataplasma de la planta entera estrujada en agua hervida, en la parte posterior de la espalda, y beber el estrujar de un puñado de planta entera en 1 L de agua, 1 taza/día en ayunas por 1 mes, para tratar la tuberculosis. Aplicar un cataplasma de la planta entera estrujada en agua hervida, en el	H, F	23.9±4.1	25.1±1.2

				área afectada como antiinflamatorio. Lavar la cabeza con el "serenado" de la planta entera estrujada en agua, para el dolor de cabeza.			
17	Bacua rudhu	<i>Hippeastrum puniceum</i>	Antifúngico. B	Aplicar la Savia del bulbo fresco raspado, en el área afectada.	B	79.1±10.6	>100
20	Batsuno tidja	<i>Andropogon bicornis</i>	Antiinflamatorio y hernia. Ra	Decocción de un puñado de raíz en 2 L de agua disminución hasta 1 L, beber 1 taza/día, durante dos semanas, para la inflamación y la hernia.	Ra	>100	>100
21	Bechu ina	<i>Talinum paniculatum</i>	Fiebre y hongos de la piel. H	Aplicar las hojas frescas empapado en aceite de "tumi" ( <i>Attalea phalerata</i> ) en la sien, para la fiebre. Aplicar las hojas frescas estrujadas en el área afectada hasta mejora, para los hongos.	H	66.2±2.9	41.5±7.1
22	Bes'a bes'a ejije taraina	<i>Alocasia macrorrhizos</i>	Hongos de la piel e inflamación. Ra, H	Aplicar un cataplasma de la raíz raspada en el área afectada, para hongos de la piel; y de las hojas tiernas, para la inflamación.	Ra	>100	>100
23	Bi	<i>Genipa americana</i>	Diarrea, tétanos, heridas, caries, para teñir la piel y ropa de color azul. C, F	Decocción de corteza en 2L de agua hasta 1L, beber 1 taza/día hasta mejora, para diarrea. Jarabe espeso de la decocción de corteza tomar 1 cucharilla/día hasta mejoría, para tétanos. Aplicar rodajas tiernas de fruto en la herida. Morder el fruto verde para evitar las caries. Se usa el fruto fresco para teñir piel y tela.	C	>100	>100
27	Buwe aqui	<i>Calycophyllum spruceanum</i>	Diarrea, acné y rasquiña. C	Decocción de un puñado de corteza en 2 L de agua hasta 1 L, beber 1 taza/3 veces/día hasta mejora, para la diarrea. Lavar con la decocción la cara o las áreas afectadas, para el acné y rasquiña.	C	>100	>100

28	Cawuara	<i>Tessaria integrifolia</i>	<b>Picadura de raya y leishmaniasis.</b> H	Aplicar cataplasma de hojas frescas y sal en la herida por picadura, para la picadura de raya. Limpiar la úlcera con estrujado de hojas frescas y después aplicar polvo de hojas secas como cataplasma, hasta que el cataplasma caiga, para la leishmaniasis.	H	54.2±9.6	31.6±10.2
32	Chadhi aqui shaka	<i>Hirtella bullata</i>	Carachas y sarpullido. H	Bañarse con aproximadamente 1 Kg de hojas frescas machacadas en agua en una bañera 3 veces/día/3 días (adultos y niños), para carachas y sarpullido.	C	>100	>100
33	Chadhi ina	<i>Porophyllum ruderale</i>	Para caracha. H	Aplicar el estrujado de hojas frescas sobre el área afectada.	H	>100	>100
34	Cheperequi	<i>Jacaranda glabra</i>	<b>Antiparasitario, dolor de estómago, sarna, rasquiña, leishmaniasis y carachas.</b> C, H, F	Beber la decocción de un puñado de corteza fresca en 2 L de agua hasta 1 L, 1 taza antes de comer, para el dolor de estómago y como antiparasitario. Aplicar hojas secas y trituradas en la zona afectada hasta mejora, para la sarna. Aplicar la savia del fruto estrujado sobre la úlcera, para leishmaniasis. Aplicar hojas frescas estrujadas en el área afectada hasta mejora, se obtienen mejores resultados tomando un baño con la decocción de un puñado de corteza y hojas frescas en 2 L de agua hasta 1 L, para rasquiña y caracha. El humo de las hojas quemadas es usado como repelente.	C	29.8±3.6	17.4±2.7

38	Dhiji	<i>Spondias sp.</i>	Próstata, sabañón y antiparasitario. C, F	Jarabe de 1 manojo de Corteza, en 2 L de agua hervir hasta espesar, beber en vez de agua hasta mejoría, para la próstata. Aplicar el fruto estrujado en las áreas afectadas, hasta mejorar, para sabañón. Beber la savia del estrujado de fruta hervida en 1 litro de agua, en lugar de agua como antiparasitario.	C	>100	>100
39	Dhutida	<i>Phlebodium decumanum</i>	Vesícula y cicatrizante. H, T, G	Decocción de hojas y tallo, beber 1 taza/ 3 veces/día hasta mejoría, para la vesícula biliar. Aplicar la guía del tallo fresco en el área afectada hasta mejoría, para cicatrización.	L	>100	>100
40	D'ije badju quid'a	<i>Celtis iguanaea</i>	Antiinflamatorio, caracha, vesícula, hemorragia de la mujer y fortificante post parto. H, F, C	Decocción de un puñado de hojas en 2L de agua hervir hasta 1 L, utilizarlo en un baño caliente y beber 1 taza caliente, como antiinflamatorio. Con el fruto estrujado frotar en el área afectada para la caracha. Beber la decocción de un puñado de corteza en 2L de agua hervir hasta 1L, 1 taza/3 veces/día, hasta detener el sangrado. Los frutos se comen después del parto, como fortificante.	H	59.3±3.6	76.8±10.0
41	Djeru ina	<i>Tilesia baccata</i>	Para orzuelo. F	Aplicar el fruto estrujado sobre el orzuelo en la noche antes de dormir.	Fl	>100	>100
42	Djipicu	<i>Bocageopsis sp.</i>	Infecciones de la piel. H	Aplicar las hojas estrujadas en el área afectada, 2 veces/día durante 5 días.	H	37.9±6.2	19.1±2.3
45	Ebus'a ina	<i>Porophyllum ruderale</i>	<b>Hongos, granos de la cara y leishmaniasis (ulceras).</b> H	Aplicar el estrujado de la hoja tierna sobre el área afectada, debe aplicarse en la luna nueva, para las espinillas y la infección de la piel. Aplicar las	H	>100	83.8±3.0

				hojas secas en polvo sobre la úlcera, para la leishmaniasis.			
46	Ejije bid'u	<b>Pendiente</b>	Para dolores musculares, quemaduras, rasquiña y cicatrizante. H, R	Baño caliente con infusión de hojas y ramas antes de acostarse, repita hasta que mejore, para el dolor muscular. Aplicar las hojas frescas estrujadas directamente sobre la herida y/o áreas afectadas, para quemaduras, rasquiña y cicatrización.	H	17.8±0.4	13.3±4.1
47	Enredadera	Pendiente	Hongos. H	Aplicar un cataplasma de hojas frescas lavadas en el área afectada, cambiar cada 15 min hasta curación.	Ra	>100	>100
53	Huabu Quere Ina	<i>Erythrochiton fallax</i>	Infecciones de la piel en perros. H	Aplicar las hojas frescas estrujadas en el área afectada, para la infección de piel en perros.	H	>100	55.5±16.2
56	Hueruru	<i>Lunania parviflora</i>	Infecciones de la piel. H	Aplicar las hojas frescas estrujadas en el área afectada, hasta mejoría.	H	>100	>100
57	Huiru huiru	<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Hongos de la piel, diarrea y vómitos. Ra, Fl, H	Aplicar el estrujado de raíz y/o flor en las áreas afectadas, 3 veces/día/3 días, para hongos de la piel. Beber la decocción de un puñado de raíz, flores y hojas en 2 L de agua hervir hasta 1 L, 1 taza/3 veces/día durante 3 días, para la diarrea. Beber de la misma decocción 1 cuchara para bebés y ½ taza para adultos, para vómitos.	Ra	28.2±3.0	65.6±19.0
61	Inama aquí	<i>Senna hirsuta</i>	Hongos de la piel, pitai y próstata. H, Ra	Aplicar el estrujado de hojas tiernas sobre el área afectada, para hongos de la piel y pitai. Beber la decocción de 4-5 puñados de raíz en 2 litros de agua hervir hasta 1 L, 1 taza/3 veces al día hasta mejoría, para la próstata.	H	67.8±0.6	62.0±14.8

62	Inama ina	<i>Senna pendula</i>	Hongos de la piel. H	Aplicar hojas machucadas en el área afectada.	H	>100	87.6±6.2
63	Japauro	<i>Thalia geniculata</i>	Para diarreas, pasmos y cicatrizante. Ra, Co	Beber la decocción de un puñado de raíz en 2L de agua hervir hasta 1L, 1 taza/día/3 días, para la diarrea. Aplicar el cataplasma del cogollo tierno con poca agua sobre la herida, para la cicatrización.	Ra	29.5±5.1	17.6±0.8
67	Kipabi tid'i	<i>Aspidosperma sp.</i>	Rasquiña, golpes, paludismo y hemorragias. C	Aplicar el polvo de la corteza seca en el área afectada, para rasquiña. Aplicar un cataplasma de corteza seca en el área afectada, para golpes. Bañarse con la decocción de un puñado de corteza en 2 L de agua hervir hasta 1 L, para el paludismo. Poner a hervir 1 cucharada de corteza en polvo en 1 L de agua y beber ¼ taza/día/3 días, para sangrado o dolor menstrual.	C	>100	>100
68	Kuabadhu	<i>Cedrela sp.</i>	Antiparasitario, caracha, para el sobrepardo y/o hemorragia de la mujer. C	Beber la decocción de un puñado de corteza en 2 L de agua hervir hasta 1 L, hasta la eliminación del parásito, como antiparasitario. La misma decocción se usa en un baño o se aplica en las áreas afectadas, para la caracha. Beber la decocción de 1 a 3 tazas/día hasta eliminar los coágulos después del parto o detener el sangrado.	C	36.8±2.8	18.2±1.5
71	Maransera	<i>Erechtites hieraciifolius</i>	Cicatrizante y para madurar granos. H	Calentar y mezclar hojas frescas en aceite y aplicar la hoja caliente en la herida, cambiar cada que se seque utilizar hasta mejoría, para la cicatrización y los granos.	H	75.9±2.2	84.0±5.2

73	Mue sumo ina	<i>Eryngium foetidum</i>	Para arritmias, heridas, cortaduras y picadura de raya. H, T	Beber la decocción de un puñado de hojas y tallos en 2 L de agua hervir hasta 1 L, 1 taza/día por un mes para las arritmias. Aplicar el tallo fresco raspado sobre las heridas, cortaduras o picadura de raya.	H, T	11.7±0.01	37.6±4.6
76	Naiqui, Naiki	<i>Otoba cf. Parvifolia</i>	Cicatrizante y para heridas en perros. Rs	Aplicar la resina fresca sobre la herida limpia.	C	>100	>100
77	Naru naru id'ene	<i>Amaranthus spinosus</i>	Hongos de la piel e inflamación. H, T	Aplicar la savia de las hojas machacadas tópicamente solo 2 veces/día/3 días, para los hongos de la piel. Llevar a ebullición un puñado de hojas y tallos en 1 L de agua, con el preparado tomar un baño caliente, y después beber 1 taza caliente, para la inflamación.	Ra	>100	31.7±12.6
79	Nuriri jaja	<i>Abuta grandifolia</i>	Infección intestinal y de la piel. C, H	Beber en ayunas la decocción de un puñado de corteza en 2 L de agua hervir hasta 1 L, 1 taza/día/8 días, para la infección intestinal. Aplicar las hojas tiernas estrujadas en el área afectada, para la infección de la piel.	H	38.3±4.2	31.1±13.1
83	Penoco	<b>Pendiente</b>	Hongos de la piel. C	Aplicar un cataplasma de corteza seca y pulverizada mezclada con aceite sobre la parte afectada.	C	>100	>100
84	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	Hongos de la piel. Ra	Aplicar la raíz fresca machucada en el área afectada, hasta mejoría.	H	37.3±1.4	29.4±2.5
92	Siringuero ina	<i>Vitex sp.</i>	Infecciones de la piel. H	Aplicar las hojas frescas estrujadas en las áreas afectadas, 1 vez/día/5 días.	H	>100	14.8±2.4

96	Tahua midha	<i>Cecropia cf. Concolor</i>	Carachas. C	Aplicar el líquido de la corteza fresca machacada en una pequeña cantidad de agua en el área afectada, 3 veces/día hasta mejoría.	H	97.4±3.2	88.4±11.0
98	Tapachaina	<i>Hyptis mutabilis</i>	<b>Infección urinaria, próstata, caracha, leishmaniasis, vómitos, diarrea y arrebató.</b> H, Ra	Beber en ayunas un puñado de hojas estrujadas en un vaso de agua fresca, 3 veces/día/8 días, para la infección urinaria y próstata. Aplicar el polvo de hojas secas y molidas en las úlceras limpias o en el área afectada hasta que mejore, para caracha y/o leishmaniasis. Beber la decocción de un puñado de raíz en 2 L de agua hervir hasta 1 L, sólo 1 taza, para los vómitos y la diarrea. Bañarse con la decocción de un puñado de hojas hasta 1 L, para el arrebató.	H	29.7±1.1	9.8±0.8
99	Tara	<i>Jatropha curcas</i>	Empeine y sarna. T, H	Hacer cocer el tallo fresco en agua hasta que ablande y estrujarlo caliente en el área afectada, para empeine. Aplicar las hojas frescas estrujadas en el área afectada, para la sarna.	H	69.4±6.1	51.8±12.9
100	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>	Malaria, fiebre y caracha. Pe	Beber el estrujado de la planta entera en 1 L de agua, 1 taza/día hasta mejoría, para Malaria y fiebre. Bañarse con el estrujado de 2 frutos en agua fría, para caracha.	F	17.6±1.8	43.5±0.3
108	Umas'aina	<i>Nicotiana cf. Tabacum</i>	Para madurar granos. G, H	Aplicar un cataplasma de guía y hojas frescas mezcladas en aceite en la zona afectada, cambiar de 3-4 veces/día.	Pe	>100	>100

**Anexo 6:** Especies seleccionadas para fraccionamiento y la actividad antiprotozoaria de los diferentes extractos crudos y sus principales fracciones, N° proviene de Anexo 1.

N°	Nombre Tacana	Nombre Científico	Órgano evaluado	Código	Rendimiento (%)	<i>T. cruzi</i>	Lma	M2904
						CI <sub>50</sub> µg/ml		
8	Aquí djawa	<i>Lantana cf. trifolia</i>	H	Crudo	6.0	22.1±2.3	17.9±0.5	23.2±1.8
				F2	2.5	22.8±4.4	88.0±12.1	68.8±7.1
				F3	14.9	20.8±2.6	50.1±4.2	24.6±1.8
				F4	5.7	52.3±5.9	66.1±22.2	28.1±9.6
15	Bacua etse	<i>Scoparia dulcis</i>	H, F	Crudo	10.4	40.8±4.0	23.9±4.1	25.1±1.2
				F2	4.5	33.0±0.3	37.4±2.5	43.5±0.9
				F3	22.4	20.5±0.3	20.4±4.0	25.4±4.5
				F4	21.6	18.5±1.0	9.1±2.9	12.0±2.6
28	Cawuara	<i>Tessaria integrifolia</i>	H	Crudo	4.3	58.5±18.2	54.2±9.6	31.6±10.2
				F2	7.9	>100	>100	>100
				F3	43.0	25.2±0.8	22.5±1.4	9.7±1.3
				F4	22.8	92.9±7.2	40.5±8.4	56.3±10.6
34	Cheperequi	<i>Jacaranda glabra</i>	C	Crudo	1.4	81.6±4.6	29.8±3.6	17.4±2.7
				F2	1.8	>100	>100	>100
				F3	12.4	50.7±11.4	22.1±3.0	5.6±0.6
				F4	7.3	>100	26.8±9.3	14.8±4.8
42	Djipicu	<i>Bocageopsis sp.</i>	H	Crudo	5.4	28.3±0.4	37.9±6.2	19.1±2.3
				F3	24.2	19.9±0.8	18.8±2.5	9.4±1.2
				F4	13.4	>100	>100	72.8±5.8
46	Ejije bid'u	Pendiente	Hojas	Crudo	23.6	12.4±0.5	17.8±0.4	13.3±4.1
				F3	43.4	8.7±0.5	12.5±4.6	10.2±2.8
				F4	10.5	82.2	23.9±4.0	8.9±2.6
63	Japauro	<i>Thalia geniculata</i>	Ra	Crudo	1.4	29.0±5.1	29.5±5.1	17.6±0.8

				F3	11.3	13.0±1.0	12.7±1.7	10.1±0.3
				F4	8.2	27.8	35.0±7.9	22.4±11.2
68	Kuabadhu	<i>Cedrela sp.</i>	C	Crudo	10.1	59.0±24.0	36.8±2.8	18.2±1.5
				F3	15.4	8.6±2.7	8.3±0.2	5.2±0.8
				F4	53.1	99.3±0.7	35.5±0.3	41.5±1.1
73	Mue sumo ina	<i>Eryngium foetidum</i>	H, T	Crudo	6.4	33.1±9.0	11.7±0.01	37.6±4.6
				F2	9.5	29.0±4.9	44.9±11.3	62.8±20.5
				F3	22.0	21.9±7.1	36.3±3.1	23.7±3.4
				F4	10.0	69.2±1.4	71.7±16.1	>100
79	Nuriri jaja	<i>Abuta grandifolia</i>	H	Crudo	9.4	52.8±34.4	38.3±4.2	31.1±13.1
				F2	4.9	70.3±4.4	43.9±2.4	57.9±17.5
				F3	25.7	27.0±20.6	14.9±3.4	10.9±0.9
				F4	8.1	>100	>100	67.2±15.7
81	Panu	<i>Salacia impressifolia</i>	Ra	Crudo	8.6	35.5±11.9	21.6±1.6	9.3±0.2
				F3	12.5	3.7±0.9	4.8±1.1	3.4±0.9
				F4	7.9	32.9±13.6	15.7±8.1	4.9±4.7
84	Quid'i juno	<i>Iresine diffusa</i>	H	Crudo	10.8	34.2±9.9	37.3±1.4	29.4±2.5
				F2	12.7	40.6±28.1	54.3±14.5	45.4±2.0
				F3	22.2	5.0±0.7	17.9±0.7	12.8±2.1
				F4	13.2	66.1±12.9	61.3±11.5	37.7±1.4
100	Teini tumati	<i>Physalis angulata</i>	H	Crudo	7.6	55.9±8.6	72.4±10.1	41.3±0.4
				F3	25.1	12.8±0.6	16.9±1.0	9.3±1.5
				F4	10.9	32.7	41.9±8.2	44.1±6.1

**Anexo 7:** Actividad biológica *in vitro* de los derivados sintéticos de la 2-fenilquinolina contra cepas de *Leishmania* y células HeLa, expresados en  $\mu\text{M}$ .

Código	Lma		L.ae		M2904		L.bG		L.lan		HeLa	ML	
	CI <sub>50</sub>	IS	DL <sub>50</sub>	CI <sub>50</sub>	IS								
SQ1	174.3 ±43.9	>2.3	68.7 ±23.5	>5.8	149.5 ±71.6	>2.7	94.7 ±4.4	>4.2	144.8 ±43.8	>2.8	>400	126.4 ±38.7	>3.2
SQ2	68.7 ±7.8	2.2	34.3 ±10.1	4.3	64.2 ±19.7	2.3	45.3 ±1.0	3.3	51.5 ±12.3	2.9	149.0 ±25.5	52.8 ±12.5	2.8
SQ3	>400		Poca muestra		>400		Poca muestra		Poca muestra		>400	>400	
SQ5	32.3 ±2.9	>12.4	Poca muestra		42.7 ±1.2	>9.4	Poca muestra		Poca muestra		>400	37.5 ±5.2	>10.7
SQ6	314.4 ±24.0	0.9	209.0 ±39.0	1.4	231.0 ±51.0	1.2	141.2 ±19.9	2.0	192.7 ±51.8	1.5	286.2 ±49.4	217.7 ±56.7	1.3
SQ9	23.4 ±2.2	>17.1	21.2 ±5.0	>18.9	31.9 ±2.5	>12.5	23.5 ±4.0	>17.0	36.6 ±14.7	>10.9	>400	27.3 ±5.9	>14.7
SQ13	166.5 ±46.4	1.9	115.3 ±32.4	2.8	136.2 ±33.0	2.4	74.3 ±5.2	4.4	41.0 ±0.3	7.9	323.0 ±26.8	106.6 ±44.5	3.0
SQ14	129.2 ±17.3	>3.1	39.8 ±3.4	>10.0	82.3 ±29.2	>4.9	41.8 ±8.2	>9.6	19.8 ±1.2	>20.2	>400	62.6 ±39.0	>6.4
SQ15	21.3 ±1.6	2.6	26.5 ±11.6	2.1	24.2 ±4.9	2.3	14.7 ±0.6	3.7	14.2 ±1.0	3.9	54.6 ±10.4	20.2 ±5.0	2.7
SQ16	>400		>400		>400		393.6 ±14.5	>1.0	353.0 ±104.7	>1.1	>400	389.3 ±18.3	>1.0
SQ17	>400		>400		333.1 ±104.3	>1.2	297.0 ±57.4	>1.4	168.6 ±14.4	>2.4	>400	319.7 ±85.3	>1.3
SQ18	48.8 ±17.3	2.7	71.4 ±30.3	1.9	32.2 ±3.7	4.1	40.0 ±7.7	3.3	56.6 ±10.3	2.3	132.9 ±10.3	49.8 ±13.6	2.7
SQ19	292.7 ±48.7	1.2	263.7 ±2.8	1.3	180.9 ±53.9	1.9	153.6 ±26.0	2.3	149.6 ±8.0	2.3	348.7 ±38.1	208.1 ±58.9	1.7
SQ20	316.8 ±51.0	1.0	338.0 ±31.9	1.0	144.2 ±68.3	2.3	166.1 ±20.8	2.0	180.5 ±27.4	1.8	324.9 ±26.7	229.1 ±81.4	1.4

SQ21	40.7 ±6.3	1.4	85.1 ±19.1	0.7	27.8 ±5.0	2.1	41.3± 10.4	1.4	39.1 ±3.4	1.5	58.3 ±13.4	46.8 ±19.8	1.3
SQ22	>400		390.0 ±14.3	>1.0	216.9 ±10.1	>1.8	170.8 ±24.9	>2.3	160.0 ±48.9	>2.5	>400	267.5 ±105.8	>1.5
SQ23	246.9 ±20.5	1.1	244.1 ±36.3	1.1	107.3 ±21.4	2.6	88.7 ±11.0	3.1	74.9 ±23.4	3.7	275.4 ±60.0	152.4 ±76.7	1.8
SQ24	>400				31.0 ±8.2	>12.9	125.8 ±82.1	>3.2	48.0 ±15.0	>8.3	>400	151.2 ±148.0	>2.6
SQ33	66.6 ±2.0	2.6	86.6 ±5.2	2.0	54.8 ±7.4	3.2	64.8 ±3.1	2.7	34.9 ±5.2	5.0	174.8 ±49.4	61.5 ±16.9	2.8
SQ34	16.1 ±0.5	2.1	19.3 ±2.4	1.8	12.7 ±1.2	2.7	8.7 ±1.3	3.9	9.0 ±2.9	3.8	34.2 ±11.2	13.1 ±4.1	2.6
SQ35	>400		>400		>400		>400		>400		>400	>400	
SQ39	24.7 ±1.8	2.7	26.2 ±2.2	2.6	25.9 ±2.5	2.6	29.6 ±0.5	2.3	25.9 ±7.1	2.6	67.4 ±28.6	26.4 ±1.6	2.6
SQ43	75.4 ±4.0	1.5	64.6 ±5.6	1.8	25.7 ±2.3	4.4	62.9 ±7.6	1.8	55.0 ±9.0	2.1	114.1 ±24.6	56.7 ±16.8	2.0
SQ44	>400		316.5 ±25.1	1.1	160.9 ±10.0	2.1	193.5 ±7.0	1.8	100.8 ±9.6	3.4	339.4 ±90.3	234.3 ±108.7	1.5
2FQ	115.6 ±23.5	>3.5	123.9 ±42.4	>3.2	129.6 ±35.0	>3.1	106.7 ±40.1	>3.8	123.9 ±30.6	>3.2	>400	119.9 ±8.0	>3.3
<b>Drogas de Referencia</b>													
Milte	22.1 ±3.7	2.0	6.1 ±0.2	7.2	18.8 ±4.4	2.4	37.4 ±6.8	1.2	9.2 ±0.02	4.8	44.4 ±14.1	18.7 ±11.0	2.4
Anfo B	0.22 ±0.05	173.4	0.11 ±0.06	346.8	0.11 ±0.05	346.8	0.06 ±0.01	635.8	0.11 ±0.06	346.8	38.2 ±16.5	0.12 ±0.05	318.3
CI <sub>50</sub> ; DL <sub>50</sub> [µM]													

**Anexo 8:** Estructuras químicas de los derivados sintéticos de la 2-fenilquinolina inactivos

