

Determinación de la capacidad antiparasitaria *contra Trypanosoma cruzi* de propóleos costarricenses y su relación con su composición química y su origen botánico

Erika Barrantes-Murillo^{1,2*}, Alejandro Alfaro-Alarcon³, Natalia Fallas-Matamoras⁴, Mariana Guevara-Gonzalez³, Victor Montenegro-Hidalgo³, Natalin Picado-Canales¹⁻², Luis Alejandro Sanchez-Chaves⁴, Andrea Segura-Viquez⁵, Roy Mario Soto-Fallas⁵, Sandra Valdes-Diaz⁵, Luis Zamora-Fallas⁴, Mónica Zamora-Rodríguez¹, Randall Loaiza-Montoya¹⁻⁶, Eduardo Umaña-Rojas⁴

1.Centro Nacional de Innovaciones Biotecnológicas (CENIBiot) Centro de Alta Tecnología (CeNAT-CONARE), Costa Rica, 2.Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Costa Rica, 3.Escuela Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Costa Rica, 4.Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), Universidad Nacional, Costa Rica, 5.Escuela de Química, Universidad Nacional, Costa Rica, 6.Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica.

Resumen

La enfermedad de Chagas afecta a millones de personas en 15 países distintos de Latinoamérica; por año se reportan más de 300 mil casos nuevos y 12 mil muertes a causa de esta enfermedad. La tripanosomiasis es producida por el parásito protozooario *Trypanosoma cruzi* y la búsqueda de una cura para esta enfermedad se ha vuelto una prioridad. Estudios previos han determinado que algunos extractos de propóleos con nemorosona cuentan con actividad tripanocida. También se ha identificado en la Región Sur de Costa Rica son una fuente rica de benzofenonas poliisopreniladas (BPI) tal como la nemorosona las cuales son abundantes en plantas del género *Clusia*. Este estudio propone evaluar el efecto antiparasitario de los propóleos de la Región Sur de Costa Rica contra *Trypanosoma cruzi*, mediante pruebas *in vitro* e *in vivo* y la relación con su origen botánico, para su potencial para evaluar su actividad contra la tripanosomiasis crónica experimental. Para la realización de este estudio se tomarán 20 muestras de propóleos de la Región Sur de Costa Rica, procedentes de 10 apiarios seleccionados al azar. En la purificación de las muestras se utilizarán las técnicas cromatográficas de mediana presión (MPLC) y la determinación de composición química se realizará mediante HPTLC (cromatografía de capa fina de alta resolución). A nivel *in vitro* se trabajará con la línea celular 3T3 para realizar las pruebas de citotoxicidad con el ensayo MTT; además, estas mismas pruebas serán realizadas con el clon Dm28c de *T. cruzi*. Seguidamente, se efectuarán curvas de dosis-respuestas para obtener la concentración citotóxica media (CC50), concentración inhibitoria media (IC50) y el índice de selectividad (IS) de las muestras de propóleo, con el fin de identificar los extractos o una fracción partir de estos que contenga mayor índice de selectividad. Posterior a la selección de dichos extractos o fracciones derivadas, se procederá a realizar las pruebas *in vivo* en los ratones C57B6/J, en los cuales se evaluará el comportamiento de los parásitos en la sangre (parasitemia) con el objetivo de evidenciar que los extractos elegidos si tiene efecto en el tejido cardiaco infectado (fase crónica).

Introducción

Los medicamentos disponibles en la actualidad para el tratamiento de la infección por *T. cruzi* tienen efecto tripanocida *in vitro* (Mady *et al.*, 2008, Mecca *et al.*, 2008), no obstante, en la práctica clínica se logra eficiencia solamente durante la fase aguda.

Estudios previos realizados por investigadores cubanos (Monzote *et al.*, 2012) se logró demostrar la existencia de actividad de extractos de propóleos contra la forma tisular de *T. cruzi*. En Costa Rica existen propóleos ricos en benzofenonas poliisopreniladas (BPI), tal como nemorosona (Umaña, 2013), en específico el género de plantas *Clusia* se caracteriza por producir resinas ricas en BPI.

Objetivo

Evaluar el efecto antiparasitario de los propóleos de la Región Sur de Costa Rica contra *Trypanosoma cruzi*, mediante pruebas *in vitro* e *in vivo*, y la relación con su origen botánico, para su potencial uso como tratamiento experimental en la tripanosomiasis crónica.

Metodología

Se recolectarán 20 muestras de propóleos de la Región Sur de Costa Rica, procedentes de 10 apiarios distintos seleccionados al azar.

En la purificación de las muestras se utilizarán las técnicas cromatográficas de mediana presión y para la determinación de composición química se realizará mediante HPTLC.

Con respecto al nivel *in vitro* se utilizará la línea celular 3T3 para realizar las pruebas de citotoxicidad con el ensayo MTT, estas mismas pruebas se realizarán con el clon Dm28c de *T. cruzi*. Seguidamente, se efectuarán curvas de dosis-respuestas para obtener la concentración citotóxica media (CC50), concentración inhibitoria media (IC50) y el índice de selectividad (IS) de las muestras de propóleo, con el fin de identificar los extractos o una fracción partir de estos que contenga mayor índice de selectividad.

Posterior a la selección de dichos extractos o fracciones derivadas, se procederá a realizar las pruebas *in vivo* en los ratones C57B6/J.



Figura 2. Flores del género *Clusia* en Cascadas del Toro, Eco Senderos, Bosques Rio Toro, Costa Rica. Imágenes recopiladas de la página Ecos del Bosque.

Figura 1. Recolección de propóleos y resinas que las abejas usaron para elaborar los propóleos en Limoncito, La Unión de Coto Brus, Costa Rica. Imagen recopilada del grupo de Centro de investigaciones apícola tropicales.



Referencias

- Mady, C., Ianni, B.M., de Souza, J.L. (2008). Benzimidazole and Chagas disease: can an old drug be the answer to an old problem? Expert Opinion Investigation Drugs 17, 1427-1433.
- Mecca, M.M., de Bartel, L.C.; Castro, C.R.; de Castro, J.A.(2008). Benzimidazole biotransformation in rat heart microsomal fraction without observable ultrastructural alterations: comparison to nifurtimox induced cardiac effects. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 103, 549-553.
- Monzote, L., Cuesta-Rubio, O., Fernandez, M.C., Hernandez, I.M., Fraga, J., Pérez, K., Kerstens, M., Maes, L., Cos, P. (2012). *In vitro* antimicrobial assessment of Cuban propolis extracts. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 107, (8), 978-984.
- Umaña, E. (2013). Análisis multivariado de huellas digitales de metabolitos secundarios mayoritarios de propóleos de Costa Rica empleando Resonancia Magnética Nuclear Protónica (1H-RMN). Tesis de Maestría Académica en Química, Sistema de Estudios de Posgrado (SEP), Universidad de Costa Rica, 90 pp.