

Acción inhibitoria del aceite esencial de *Plumbago scandens* L. en promastigotes de *Leishmania major* like

Inhibitory action of essential oil of *Plumbago scandens* L. on promastigotes of *Leishmania major* like

Acción inhibitoria del aceite esencial de Plumbago scandens L. en promastigotes de Leishmania major like

ARTÍCULO ORIGINAL



Escanea en tu dispositivo móvil
o revisa este artículo en:

<https://doi.org/10.33996/revistavive.v7i21.338>

Jorge David Puchaicela Quirola¹ 

david-14-m@hotmail.com

Vinicio Santillán¹ 

vinicio.santillanr@ucacue.edu.ec

Luis Alberto Morocho Yaguana² 

luis.morochoy@unl.edu.ec

¹Universidad Católica de Cuenca. Cuenca, Ecuador

²Universidad Nacional de Loja. Loja, Ecuador

Artículo recibido 17 de julio 2024 / Aceptado 26 de agosto 2024 / Publicado 27 de septiembre 2024

RESUMEN

Introducción: La leishmaniasis es una enfermedad parasitaria causada por protozoos del género *Leishmania*, transmitida por la picadura de insectos flebótomos. Esta enfermedad afecta a millones de personas en todo el mundo, especialmente en áreas tropicales y subtropicales. **Objetivo:** Evaluar el efecto leishmanicida del aceite esencial de *Plumbago scandens* L. en promastigotes axénicos de *Leishmania major* like. **Materiales y métodos:** Se llevó a cabo un estudio experimental donde primordialmente se obtuvieron cultivos de promastigotes de *L. major* like y el aceite esencial de *P. scandens* L, seguido a esto se realizaron 8 diluciones seriadas a probar con concentraciones de 120, 60, 30, 15, 7.5, 3.75, 1.87 y 0.9 µg/ml contra los promastigotes, la viabilidad parasitaria se midió por medio del ensayo de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol) y la confirmación de la viabilidad se realizó por microscopía. **Resultados:** El porcentaje de inhibición en las concentraciones N°3 (30 µg/ml) y N°4 (15 µg/ml) arrojaron resultados de 80, 7 y 85.1% respectivamente indicando que hay una elevada acción del aceite esencial usado contra los promastigotes de *Leishmania*, en cuanto a las demás concentraciones usadas. El resultado varió en un 70% a excepción de las primeras concentraciones N°1 y 2 que por la intensidad del aceite esencial se presentaron limitaciones técnicas con el uso de espectrofotómetro. **Conclusiones:** el aceite esencial de *P. scandens* L tuvo un efecto leishmanicida alto contra los promastigotes de *L. major* like teniendo un efecto positivo en cuanto a la realización de más estudios especializados.

Palabras clave: Aceite; Leishmaniasis; Naftoquinonas; *Plumbago*; Promastigotes

ABSTRACT

Introduction: Leishmaniasis is a parasitic disease caused by protozoa of the genus *Leishmania*, transmitted by the bite of sandflies. This disease affects millions of people worldwide, especially in tropical and subtropical areas. **Objective:** To evaluate the leishmanicidal effect of *Plumbago scandens* L. essential oil on axenic promastigotes of *Leishmania major* like. **Materials and methods:** An experimental study was carried out where primarily promastigote cultures of *L. major* like and the essential oil of *P. scandens* L were obtained, followed by this 8 serial dilutions were made to test with concentrations of 120, 60, 30, 15, 7.5, 3.75, 1.87 and 0.9 µg/ml against the promastigotes, the parasite viability was measured by means of the MTT assay (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazole bromide) and the viability confirmation was made by microscopy. **Results:** The percentage of inhibition in concentrations N°3 (30 µg/ml) and N°4 (15 µg/ml) yielded results of 80, 7 and 85.1% respectively, indicating that there is a high action of the essential oil used against *Leishmania* promastigotes, as for the other concentrations used. The result varied by 70% except for the first concentrations N°1 and 2, which due to the intensity of the essential oil presented technical limitations with the use of a spectrophotometer. **Conclusions:** the essential oil of *P. scandens* L had a high leishmanicidal effect against *L. major* like promastigotes, having a positive effect in terms of carrying out more specialized studies.

Key words: Oil; Leishmaniasis; Naphthoquinones; *Plumbago*; Promastigotes

RESUMO

Introdução: A leishmaniose é uma doença parasitária causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida pela picada de flebotomíneos. Esta doença afeta milhões de pessoas em todo o mundo, especialmente em áreas tropicais e subtropicais. **Objetivo:** Avaliar o efeito leishmanicida do óleo essencial de *Plumbago scandens* L sobre promastigotas axênicas de *Leishmania major* like. **Materiais e métodos:** Foi realizado um estudo experimental onde foram obtidas principalmente culturas promastigotas de *L. major* like e o óleo essencial de *P. scandens* L seguido de 8 diluições seriadas a serem testadas nas concentrações de 120 60 30 15 7,5, 3,75, 1,87 e 0,9 µg/ml contra promastigotas, a viabilidade do parasita foi medida por meio do ensaio MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol) e a confirmação da viabilidade foi realizada por microscopia. **Resultados:** O percentual de inibição nas concentrações N°3 (30 µg/ml) e N°4 (15 µg/ml) apresentou resultados de 80, 7 e 85,1% respectivamente, indicando que há alta ação do óleo essencial utilizado contra promastigotas de *Leishmania*. quanto às demais concentrações utilizadas. O resultado variou em 70% exceto para as primeiras concentrações n° 1 e 2, que devido à intensidade do óleo essencial apresentaram limitações técnicas com o uso de espectrofotômetro. **Conclusões:** o óleo essencial de *P. scandens* L apresentou alto efeito leishmanicida contra as promastigotas de *L. major*, bem como teve efeito positivo em termos de realização de estudos mais especializados.

Palavras-chave: Petróleo; Leishmaniose; Naftoquinonas; *Plumbago*; Promastigotas

INTRODUCCIÓN

La enfermedad parasitaria leishmaniasis afecta a millones de personas en todo el mundo, especialmente en regiones tropicales y subtropicales. La Organización Mundial de la Salud (OMS) (1), estima que hay entre 700,000 y 1 millón de nuevos casos de leishmaniasis cada año, lo que representa un desafío significativo para la salud pública global. La enfermedad es causada por diferentes especies del género *Leishmania*, que son transmitidas por la picadura de flebótomos infectados. A pesar de la disponibilidad de tratamientos farmacológicos, como los antimoniales pentavalentes, estos pueden presentar efectos secundarios graves y resistencia por parte del parásito. Por esta razón, existe un creciente interés en explorar alternativas terapéuticas basadas en productos naturales, como los aceites esenciales de plantas, que han demostrado tener propiedades leishmanicidas significativas.

En un estudio reciente ha evaluado la actividad leishmanicida del aceite esencial de *Plumbago scandens* L., mostrando resultados prometedores en la inhibición del crecimiento de *Leishmania major* en promastigotes. Según Puchaicela y Morocho (2), el aceite esencial extraído de las partes aéreas de esta planta mostró una inhibición del 85% del desarrollo del parásito a concentraciones de 15-30 µg/ml. Este estudio no solo resalta la eficacia del aceite esencial, sino que

también sugiere que podría ser una alternativa viable para el tratamiento de la leishmaniasis, abriendo nuevas vías para el desarrollo de medicamentos basados en extractos vegetales.

La Leishmaniasis es una enfermedad producida por parásitos del orden Kinetoplastida, familia Trypanosomatidae y género *Leishmania*. Morfológicamente consta de dos formas: amastigotes que corresponden a los géneros *Phlebotomus* (Viejo Mundo) y *Lutzomyia* (Nuevo Mundo), que inoculan promastigotes al huésped para transformarse en promastigotes metacíclicos y dar origen a los amastigotes nuevamente, formando su ciclo de vida (3). Su género se clasifica en dos subgéneros *Leishmania* (L.) y *Viannia* (V.) tomando en cuenta el sitio del intestino donde se desarrolla. El subgénero *Leishmania* se ubica en el área supra-pilórica del insecto; mientras que el subgénero *Viannia* se ubica en el intestino medio y posterior (4). Su transmisión ocurre por medio de picadura al hombre causándole una infección cutánea local. En ciertas ocasiones los protozoos son trasladados por los macrófagos a órganos ricos en tejido retículo endotelial como la médula ósea, hígado, bazo y ganglios linfáticos produciendo un cuadro de Leishmaniasis visceral caracterizado por hepato-esplenomegalia, anemia, leucopenia e hiper gammaglobulinemia afectando el estado general y fiebre (5).

Por otro lado, los tratamientos para los casos de Leishmaniasis no son fáciles, ya que no todos los medicamentos son eficaces contra

este parásito por la variabilidad en sus cepas. Otro problema frecuente es lo doloroso que son estos tratamientos al igual que su costo. El medicamento que se utiliza generalmente es el antimonio de meglumina (Glucantime), a pesar de presentar inconvenientes por su toxicidad moderada, administración a altas dosis y esquemas prolongados. Sin embargo, la diferente sensibilidad de las especies de *Leishmania* infectante y la aparición de resistencia del fármaco dada por el parásito inciden en la respuesta clínica al tratamiento (6). En algunos casos se menciona que hay una curación clínica, pero en casos crónicos es difícil de tratar la leishmaniasis por lo que puede existir una interacción entre el parásito y el sistema inmune (7).

Ante esta problemática, se han propuesto numerosas alternativas para el tratamiento de la enfermedad, una de las cuales es el uso de compuestos vegetales secundarios obtenidos por extracción, ya sea en su forma pura o cruda. Entre estos compuestos, los aceites esenciales han cobrado especial interés debido a su amplia variedad de propiedades farmacológicas, incluyendo actividad antiparasitaria. La presencia de numerosas moléculas con una variedad de actividades farmacéuticamente relevantes hace que los productos naturales y los compuestos derivados de ellos sean una valiosa fuente de productos farmacéuticos.

La emergencia de microorganismos resistentes a los medicamentos convencionales,

sumada a la toxicidad de estos y a la necesidad de tratamientos más accesibles, ha impulsado la búsqueda de alternativas terapéuticas naturales como los aceites esenciales. La emergencia de microorganismos resistentes a los medicamentos convencionales con alta toxicidad, las coinfecciones como VIH/*Leishmania* spp., el pequeño número de terapias disponibles para tratar la enfermedad y la baja inversión en el descubrimiento /desarrollo de nuevos medicamentos obligan a los investigadores de organismos internacionales de salud a buscar nuevas alternativas (8).

Conviene subrayar que, uno de los compuestos importantes de ciertas plantas son las naftoquinonas que son compuestos orgánicos de origen natural altamente reactivos pertenecientes al tipo de compuestos carbonílicos α , β -insaturados, dentro de los cuales se pueden mencionar la plumbagina y su derivado, 2-metoxi-1,4-naftoquinona, que a través de estudios realizados ha demostrado la inhibición de la enzima tripanotona reductasa importante para la supervivencia de la *Leishmania* (9). Además, la familia Plumbaginaceae se caracteriza por la presencia de compuestos bioactivos como naftoquinonas y flavonoides. En particular, las naftoquinonas, como la plumbagina (C₁₁H₈O₃), han demostrado tener un potente efecto antileishmanial. Estudios han revelado que la plumbagina inhibe el crecimiento del parásito *Leishmania*, lo que sugiere su potencial

como un nuevo fármaco para el tratamiento de la leishmaniasis (10).

Siguiendo el hilo conductor, la leishmaniasis representa un importante problema de salud pública en muchas regiones del mundo, incluyendo Ecuador. Sin embargo, la necesidad de desarrollar nuevas terapias sigue siendo imperante. En este sentido, numerosas investigaciones se han centrado en la identificación de compuestos naturales con actividad antileishmanial. Una revisión sistemática ha revelado que estructuras químicas como chalconas, pirazoles y alcaloides (incluyendo indol, quinolinas y quinazolininas) (11) presentan un prometedor potencial terapéutico. Estos hallazgos resaltan la importancia de continuar explorando fuentes naturales para encontrar nuevos fármacos más eficaces y seguros contra la leishmaniasis.

En este contexto, en el Ecuador en el año 2021 se reportaron 1251 casos confirmados de estos *L. cutánea* 1217 (97,2%) y 34 casos de *L. mucocutánea* (2,7%). En el año 2022 se reportaron 844 casos confirmados de estos *L. cutánea* 813 casos (96,3%) y 31 casos de *L. mucocutánea* (3,7%). En la SE2 del año 2023, se ha notificado 1 caso confirmado de *Leishmania* a nivel nacional (12). Por su parte, la Organización Mundial de la Salud (2006), informó que las necesidades de investigación más urgentes para *Leishmania* control son la búsqueda de medicamentos alternativos y baratos para administración oral, parenteral (inyecciones) o tópica en ciclos de tratamiento

más cortos, y la identificación de mecanismos para facilitar el acceso a las medidas de control existentes, incluida la reforma del sector de la salud en algunos países en desarrollo (13).

El género *Plumbago*, originario de las Indias Occidentales y ampliamente distribuido en regiones tropicales y subtropicales, que posee 24 géneros y 635 especies registradas caracterizado por arbustos escandentes anuales o perennes, hojas elípticas o lanceoladas, espigas delgadas, brácteas lanceoladas, lóbulos obovada, tubo delgado, perianto: cálices gamosépalos, flores actinomorfas e inflorescencia en espiga donde el color dependerá según la especie y la variedad, fruto cápsula o utrículo, rodeado por el cáliz (14), ha sido objeto de numerosos estudios debido a la presencia de plumbagina, un compuesto con propiedades antiparasitarias. Esta planta, caracterizada por sus flores vistosas y sus raíces profundas, crece en diversas condiciones ambientales, incluyendo bosques tropicales y matorrales xerófilos (15). Además de la plumbagina, se han identificado otros compuestos bioactivos en diferentes partes de la planta, como mono y triterpenos, aceites esenciales, aminoácidos, cumarinas y azúcares (16).

En atención a lo anterior, para evaluar el potencial antiparasitario de estos compuestos, se pueden emplear ensayos de viabilidad celular como el MTT. Esta técnica colorimétrica permite determinar el efecto de diferentes sustancias,

incluyendo la plumbagina y otros compuestos aislados de *Plumbago*, sobre la viabilidad de microorganismos como *Leishmania*. Además, el ensayo MTT permite evaluar la toxicidad de estos compuestos en células huésped, lo cual es fundamental para determinar su potencial terapéutico (17, 18).

Ahora bien, debido al aumento en los últimos años por la resistencia del microorganismo y del sistema inmunológico a diferentes fármacos convencionales se han iniciado búsquedas alternativas en cuanto a la extracción y uso de compuestos de plantas. Esta investigación se centra en medir el grado de actividad antiparasitaria que posee el aceite esencial de *P. scandens* L frente a promastigotes de *Leishmania major* like. Correspondiente a esto se preparó el Aceite esencial en ocho concentraciones diferentes a probar, cada ensayo constó del cultivo de promastigotes, el aceite esencial y el MTT, este último es un indicador colorimétrico de viabilidad parasitaria que se frente a un espectrómetro. Seguido a esto se obtuvieron varias absorbancias que se usaron para medir el porcentaje de inhibición correspondiente en el programa R-studio dando como resultado una efectividad moderada en cuanto a su acción leishmanicida. En cuanto se deduce que los compuestos químicos naturales y sus derivados han sido propuestos como alternativa. Con una actividad biológica considerable y propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitarias, potencial antiviral, anticancerígeno.

En consideración a la creciente resistencia de los parásitos de *Leishmania* a los fármacos actuales, es urgente buscar nuevas alternativas terapéuticas. Los compuestos naturales, como los aceites esenciales, han demostrado tener propiedades antiparasitarias y podrían representar una opción prometedora. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto leishmanicida del aceite esencial de *Plumbago scandens* L en promastigotes axénicos de *Leishmania major*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la investigación se realizó con un enfoque cuantitativo, un estudio experimental y prospectivo, para el universo se compuso de parásitos de *L. major* like los cuales fueron sometidos al estudio en el Laboratorio de Análisis Químico en la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional de Loja, Loja-Ecuador; la muestra estuvo constituida por promastigotes de *Leishmania major* like.

En cuanto a la ejecución del ensayo primeramente se recolectó la planta *Plumbago scandens* y mediante su procesamiento por arrastre de vapor se obtuvo el aceite esencial, que a través de procedimientos químicos como la cromatografía y separación por medio de hexano se logró obtener un producto puro para su uso. Seguido a esto se prepararon los medios de cultivo selectivos para las cepas de *Leishmania*: Medio NNN, Schneider *Drosophila*, RPMI y Suero fetal

bovino que serán importantes para su crecimiento y estabilidad en la cual se podrá obtener la forma de promastigote para su procesamiento.

Para la realización del ensayo, como requisito es necesario cuantificar los promastigotes de los cultivos realizados observando su motilidad y su morfología, en cuanto a esto se prepararon medios de cultivo en forma masiva hasta obtener un número adecuado, seguidamente se extrae una cantidad de parásitos para su conteo en los 10 cuadrantes de la cámara de Neubauer para calcular un aproximado de los parásitos/ml del cultivo.

Seguidamente, se prepararon diferentes concentraciones del aceite esencial de *Plumbago scandens* L en el medio de cultivo. Posteriormente, se inocularon promastigotes de *Leishmania major* en cada una de las concentraciones preparadas. Tras un período de incubación, se añadió la solución de MTT (Vybrant MTT Cell Proliferation Assay Kit) a cada pocillo. Luego, se solubilizó el formazán formado y se midió la absorbancia a 570 nm en un lector de microplacas. Los resultados obtenidos se expresaron como porcentaje de viabilidad celular en comparación con un control sin tratamiento.

Análisis de datos

El procesamiento de las muestras se las hizo por medio de espectrofotometría midiendo

las absorbancias de los ensayos a través de colorimetría, los datos obtenidos se procedieron primeramente a calcular por medio de formula del porcentaje de inhibición donde constan las absorbancias problema (A_p), blancos (A_b) y controles (A_c). Seguido a esto se realizó un análisis de varianza ANOVA y se calcularon las diferencias significativas honestas de Tukey, que crea un conjunto de intervalos de confianza sobre las diferencias entre las medias de los niveles de un factor con la probabilidad. Los intervalos se basan en la estadística de rango Studentizado. Para comparar la supervivencia en cuanto a la inhibición obtenida, se utilizaron modelos lineales. Luego se ajustaron los modelos con un enfoque de máxima verosimilitud asumiendo una distribución de error gaussiana. Utilizamos R v. 4.4.0 (R Development Core Team 2024) para todos los análisis estadísticos (19).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran el potencial leishmanicida del aceite esencial de *Plumbago scandens* L. A través del ensayo MTT, se evaluó el efecto de diferentes concentraciones del aceite esencial sobre la viabilidad de promastigotes de *Leishmania major*. A continuación, se presentan y discuten los resultados obtenidos, descripción de la Figura 1.

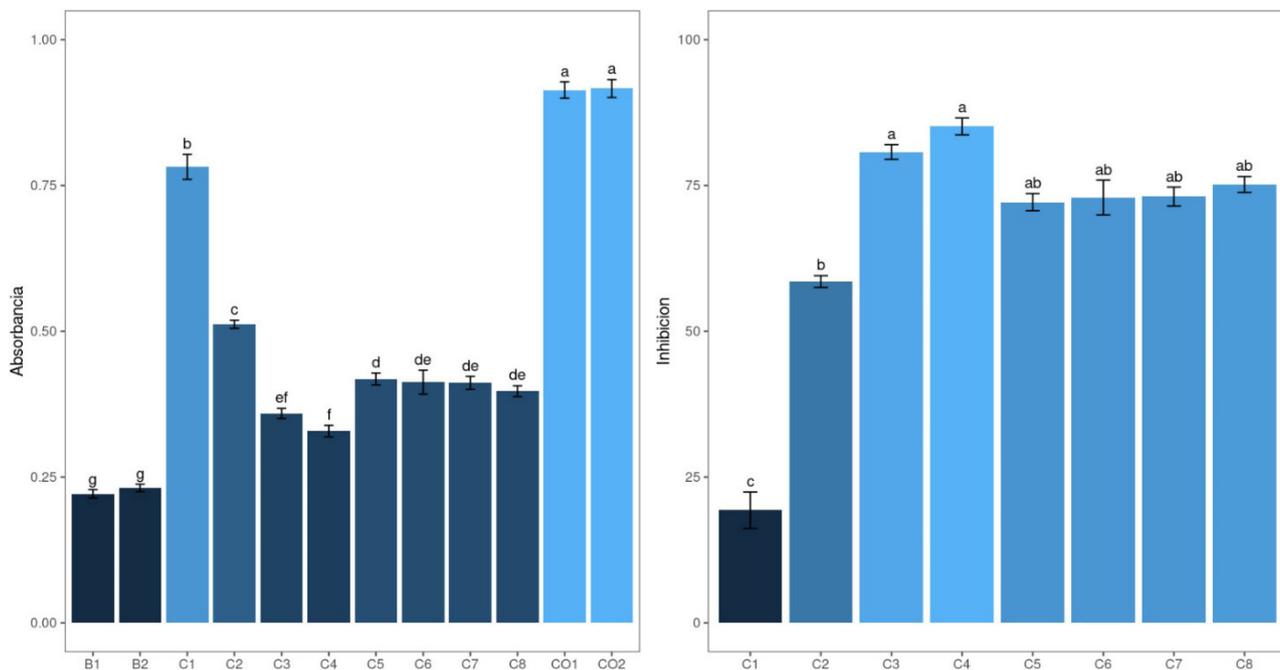


Figura 1. Expresión de absorbancias y concentraciones directamente a su porcentaje de inhibición.

La Figura 1, presenta los resultados del experimento de viabilidad celular utilizando la técnica del MTT para evaluar el efecto leishmanicida del aceite esencial de *Plumbago scandens* L sobre promastigotes de *Leishmania major*. Se evaluaron ocho concentraciones del aceite esencial, que iban desde 0.9 hasta 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (preparadas mediante diluciones seriadas a partir de una solución madre).

En la parte izquierda de la figura, se muestran los valores de absorbancia obtenidos en el ensayo MTT. Es importante destacar que las dos concentraciones más altas (120 y 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$) presentaron valores de absorbancia inesperadamente altos, lo que se tradujo en un bajo porcentaje de inhibición (19.4% y 58.5%,

respectivamente). Este resultado se atribuye a la interferencia causada por la oxidación del aceite esencial y/o del reactivo MTT, lo que afectó las lecturas espectrofotométricas y generó falsos negativos. Esta observación fue confirmada mediante observaciones microscópicas, donde se observaron parásitos vivos en estas muestras.

En contraste, las concentraciones de 30 y 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ mostraron los porcentajes de inhibición más elevados (80.7% y 85.1%, respectivamente), indicando una mayor efectividad leishmanicida. Las demás concentraciones evaluadas también mostraron una significativa inhibición de la viabilidad parasitaria, con valores que oscilaron entre 72.1% y 75.1%.

También, se resalta la inhibición de las concentraciones 3 y 4 donde el porcentaje es del 80,7 y 85,1% indicando ser las concentraciones con una inhibición más efectiva sobre el parásito

y centrado toda nuestra atención hacia ellas. En cuanto al resto de concentraciones el porcentaje de inhibición fue de un 72,1 – 75,1 % sobre la inhibición de la viabilidad del parásito Figura 2.

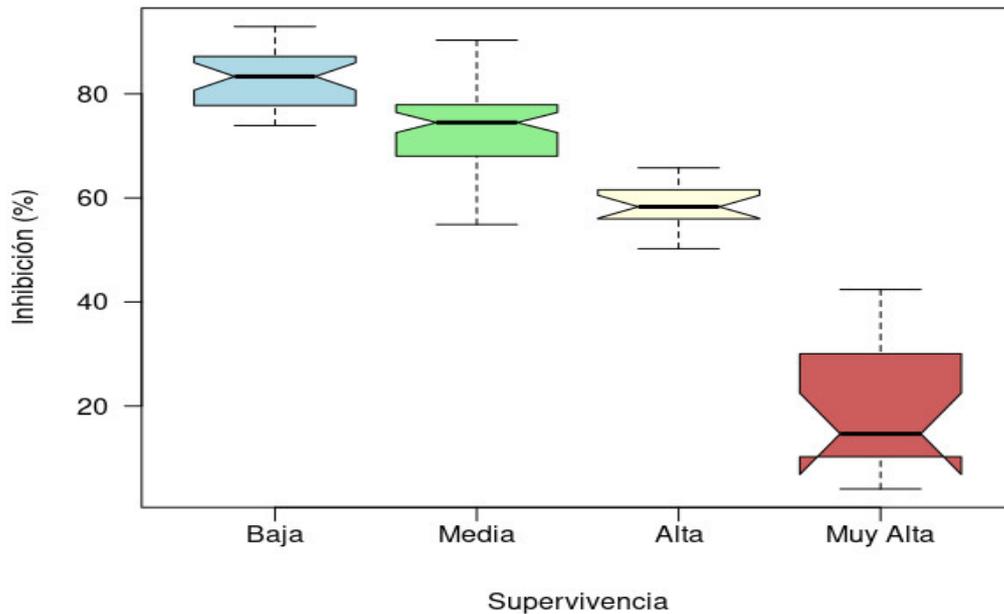


Figura 2. Relación de la supervivencia en cuanto a la inhibición obtenida.

En cuanto a la confirmación de la relación de inhibición y supervivencia del parásito se realizó una observación microscópica usando un microscopio invertido antes del ensayo y después del mismo, verificando el estado de la placa en cuanto a contaminación por agentes externos. La Figura 2, explica que mientras el porcentaje de inhibición sea alto la supervivencia es muy baja dado que se ejerce una mejor acción del aceite esencial en las concentraciones 3 y 4 donde su inhibición fue más del 80% y a su vez contrastando con la microscopia se pudo observar entre 60 – 70 parásitos/campos muertos mientras que alrededor de 20 – 30 p/c seguían con vida.

Considerando lo expuesto anteriormente, en las dos primeras concentraciones donde el porcentaje de inhibición fue bajo, en la microscopia se observó en su totalidad la muerte del parásito dado a esto se deduce la alta concentración y la oxidación del medio para la interferencia en la lectura a través del espectrofotómetro.

Mediante el uso de la técnica de MTT se evidenció la actividad leishmanicida que tiene el aceite esencial, midiendo por colorimetría la viabilidad del parásito a través de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 570 nanómetros(nm); en cuanto a los resultados de la investigación son relevantes mostrando cierta

acción del aceite esencial sobre promastigotes de *L. major like* estructurando una base en cuanto a la investigación de la misma o demás plantas naturales que en un futuro pueden avanzar más en las investigaciones al punto de poder sintetizar farmacológicamente para tratar dicha enfermedad.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran el prometedor potencial leishmanicida del aceite esencial de *Plumbago scandens* L. La alta actividad observada contra promastigotes de *Leishmania major* sugiere que compuestos derivados de plantas pueden representar una alternativa terapéutica para el tratamiento de la leishmaniasis. En consideración a lo expuesto por la Organización Mundial de la Salud OMS (1), la diversidad de especies de *Leishmania* implica la necesidad de desarrollar tratamientos eficaces contra diferentes formas de la enfermedad. Por lo que, los hallazgos sugieren que el aceite esencial de *Plumbago scandens* L podría ser efectivo contra diversas cepas de *Leishmania*, aunque se requieren estudios adicionales para confirmar esta hipótesis.

Los resultados obtenidos en este estudio corroboran la eficacia de compuestos naturales derivados de plantas, como el aceite esencial de *Plumbago scandens* L., en el control de la

leishmaniasis. Nuestros hallazgos se alinean con estudios previos que han demostrado la actividad leishmanicida de la plumbagina, un compuesto naftoquinónico presente en diversas especies de *Plumbago*. Chouhan et al. y Gutiérrez-Rebolledo et al. reportaron que la plumbagina y sus derivados inhiben la tripanotona reductasa, una enzima esencial para la supervivencia de *Leishmania* en condiciones de estrés oxidativo (9, 20).

Los resultados no solo muestran la acción de la plumbagina en contra de los parásitos, sino que superan en un 50% la acción leishmanicida contra los promastigotes de *L. major like* indicando que en la concentración de 30 µg/ml y de 15 µg/ml hay una acción inhibitoria de 80,7 y 85% respectivamente dando un resultado favorable a la investigación. La extracción de plumbagina y su acción dependerá de las partes que se obtenga el producto ya sean raíces, tallos y hojas además de su procesamiento extractos o aceites, como lo indica un estudio donde se usaron como materia prima las raíces de *Plumbago auriculata* Lam dando unos resultados de citotoxicidad bajos (21); todo lo contrario lo indica otro estudio donde se utilizó mezclas acuosas y metanólicas de *Plumbago capensis* para evaluar la acción leishmanicida de *L. major* (IC 50 de 118.57µg/ml) probando que existe una sinergia o complementariedad al momento de actuar sobre el parásito (22).

En atención a los anterior, los resultados de este estudio superan significativamente los

obtenidos por Ndungu et al. (22), en cuanto a la actividad leishmanicida. Mientras que estos autores reportaron un IC50 de 279,488 $\mu\text{g/ml}$ para los extractos acuosos de *Plumbago capensis*, nuestro aceite esencial de *Plumbago scandens* L. mostró una potente actividad inhibitoria a concentraciones mucho menores, con un 85% de inhibición a 15 $\mu\text{g/ml}$. Esta diferencia podría atribuirse a diversos factores, como la especie de *Plumbago* utilizada, el método de extracción empleado y la presencia de compuestos bioactivos únicos en nuestro aceite esencial.

Finalmente, el estudio confirma la eficacia de compuestos derivados de *Plumbago* contra *Leishmania major*. Sin embargo, a diferencia de investigaciones previas que se han centrado en la plumbagina aislada o en extractos crudos, esta investigación demuestra la potente actividad leishmanicida del aceite esencial obtenido de hojas y tallos de *Plumbago scandens* L. Estos resultados sugieren que el uso de aceites esenciales podría representar una estrategia prometedora para el desarrollo de nuevos fármacos antileishmaniásicos.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se demuestra la actividad del principio activo que posee el aceite esencial de la planta *Plumbago scandens* L y como tiene un efecto leishmanicida en promastigotes de *Leishmania major like*, siendo las concentraciones

de 30 $\mu\text{g/ml}$ y 15 $\mu\text{g/ml}$ con una elevada acción inhibitoria de un 80 a 85 % sobre los parásitos; en cambio aunque en las concentraciones de 120 $\mu\text{g/ml}$ y 60 $\mu\text{g/ml}$ el porcentaje de inhibición es bajo de 19 y 58%, se pudo confirmar la muerte de los parásitos a través de microscopia llegando a determinar que la intensidad del aceite y la oxidación del mismo interfirió en las lecturas del espectrofotómetro.

La extracción del aceite esencial de hojas y tallos de la planta *Plumbago scandens* L mostro una alta actividad parasitaria en diferentes concentraciones sobre los promastigotes de *Leishmania major like*, interrumpiendo su ciclo de multiplicación e inhabilitando al parásito.

En conclusión, se pudo cuantificar la actividad leishmanicida por medio de técnicas combinadas y modificadas que evalúan la viabilidad de microorganismos como lo es el ensayo de MTT, al ser experimental se espera modificar parámetros para obtener un mejor resultado y porque no avanzar en los estudios de manera in vivo.

CONFLICTO DE INTERESES. Los autores declaran que, no existe ningún conflicto de intereses que influya en la publicación del presente artículo científico. La investigación se ha llevado a cabo de manera imparcial y objetiva, centrándome en la búsqueda y aporte de conocimiento científico en el tema a tratar.

FINANCIAMIENTO. Para el desarrollo de la presente investigación, se afirma que haber recibido financiamiento externo. Este proyecto se realizó utilizando los recursos propios de los autores y los disponibles dentro de la institución que como tal fueron de suma importancia. Se declara que la falta de financiamiento externo no afecta la calidad y la veracidad de la investigación al igual que los resultados obtenidos se respaldan en el trabajo realizado.

AGRADECIMIENTO. Un agradecimiento especial para las personas que hicieron posible esta investigación con su aporte de conocimientos vastos y apoyo incondicional para poder culminar este estudio en especial al Doctor Luis Morocho Yaguana que formó parte fundamental para el desarrollo de este proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Leishmaniasis. 2024. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>.
2. Puchaicela J, Morocho L. Actividad leishmanicida del aceite esencial de *Plumbago scandens* L. en promastigotes de *Leishmania major* like. Universidad Nacional de Loja. 2018. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/21017>
3. Werner L. Parasitología Humana. 1st ed. McGraw Hill Interamericana Editores S.A, editor. MÉXICO; 2013. 298–309.
4. Becerril M. In: McGraw-Hill Education, editor. Parasitología medica. 5th ed. 2019.
5. Guillem Prats. Parasitología. In: Panamericana, editor. Microbiología Clínica. 1st ed. Buenos Aires; 2007. 133.
6. Cantú R, Palomo L, Nery F, López L, Barajas L. Naftoquinonas: de simples pigmentos a moléculas terapéuticas. *Biológicas*. 2012;14(2):48–56. <https://n9.cl/rvm3r>
7. Ríos S, Yuil R, Manuel J. Inmunology in leishmania infection: current concepts. 2010. www.revistamedicocientifica.org
8. Roatt B, de Oliveira J, De Brito C, Coura-Vital W, de Oliveira Aguiar-Soares R, Reis A. Recent advances and new strategies on leishmaniasis treatment. Vol. 104, *Applied Microbiology and Biotechnology*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2020. 8965–77.
9. Chouhan G, Ozbak H, Hemeg H, Afrin F. Leishmanicidal compounds of natural origin: their prospective mantle in antileishmanial therapy. 2015.
10. Peres R, Batista M, Bérenger L, Camillo F, Figueiredo M, Soeiro M. Antiparasitic Activity of *Plumbago auriculata* Extracts and Its Naphthoquinone Plumbagin against *Trypanosoma cruzi*. *Pharmaceutics*. 2023;15(5): 1535. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15051535>
11. Pal R, Teli G, Akhtar M, Matada S. The role of natural anti-parasitic guided development of synthetic drugs for leishmaniasis. *Eur J Med Chem*. 2023; 258:115609. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115609>
12. DNVE M. Subsecretaría de vigilancia, prevención y control de la salud dirección nacional de vigilancia epidemiológica enfermedades transmitidas por vectores. Sistema de Vigilancia SIVE-VIEPI. 2023; 1:1–2. https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2023/02/Gaceta-SE-2_2023.pdf
13. Mutoro C, Kinyua J, Ng'ang'a J, Kariuki D, Ingonga J, Anjili C. Efficacy of the combination of crude extracts of *Solanum nigrum* and *Plumbago capensis* on *Leishmania major*. *F1000Res*. 2018; 26;7: 1556. <https://f1000research.com/articles/7-1556>
14. Pérez Martínez Jose, Rodríguez Hernández Miguel, Areces Berazin Fabiola, Minter David, Minter William. *Plumbago scandens* L. PLANTAS DE VIÑALES Guía Ilustrada. Available from: <http://www.cybertruffle.org.uk/vinales/esp/index.htm>
15. Lasser T, BRAUN A, STEYERMARK J. CATALOGO DE LAS PLANTAS QUE CRECEN EN EL JARDIN BOTANICO DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRIA, CARACAS. *Acta Bot Venez*. 1974; 9(1/4):9–61. <http://www.jstor.org/stable/41740621>
16. Morocho-Yaguana L, Cambizaca-Mora G, Salazar-Briceño J. Actividad antimicrobiana de extractos de *Plumbago scandens* L. (Yerba de la culebra). *BOSQUES LATITUD CERO*. 2020;10(1):46–56. <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/bosques/article/view/718>
17. Sáenz Bocanegra O. Agentes antiparasitarios de plantas de la Amazonia Peruana empleadas en medicina tradicional. [Madrid]: Universidad Autónoma de Madrid; 2010. <http://hdl.handle.net/10486/4759>

- 18.** Hernandez P, Martinetti J, Escobar P. In vitro activity against *Leishmania* and human skin permeation of miltefosine ultradeformable liposomes. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2014; 66 (1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602014000300006
- 19.** R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2024.
- 20.** Gutiérrez-Rebolledo G, Drier-Jonas S, Jiménez-Arellanes M. Natural compounds and extracts from Mexican medicinal plants with anti-leishmaniasis activity: An update. *Asian Pac J Trop Med*. 2017;10(12):1105–10. DOI: 10.1016/j.apjtm.2017.10.016
- 21.** Saji A. *Plumbago auriculata* Lam. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2015; 33:281–4. <https://globalresearchonline.net/journalcontents/v33-2/56.pdf>
- 22.** Ndungu P, M Ingonga J, Gicheru M, O Anjili C. Efficacy of a Combination of *Plumbago Capensis* and *Aloe Secundiflora* Aqueous and Methanolic Plant Extracts in the Treatment of *Leishmania Major* in Balb/C Mice. *Annals of Applied Microbiology & Biotechnology Journal*. 2017;1(1):1–6. <https://f1000research.com/articles/7-1556>

ACERCA DE LOS AUTORES

Jorge David Puchaicela Quirola. Licenciado en Laboratorio Clínico, Universidad Nacional de Loja. Magister en diagnóstico de laboratorio clínico y molecular, Universidad Católica de Cuenca. Experiencia en proyecto de investigación, Ecuador.

Vinicio Santillán. Biólogo y Magister den Geomática, Universidad del Azuay. Doctor en Ciencias Naturales en Biología, Universidad Goethe de Frankfurt am Main Alemania. Experiencia laboral académica y como investigador, con varias publicaciones de alto impacto y participación en eventos nacionales e internacionales. Investigador del laboratorio RobLab de la Unidad Académica de Posgrados, proyectos ambientales y de epidemiología, Ecuador.

Luis Alberto Morocho Yaguana. Farmacéutico, Master of Sciences en farmacia, Instituto Estatal farmacéutico de Járkov, Ucrania. Doctor en Bioquímica y Farmacia, Universidad de Cuenca, Ecuador. Docente-Investigador de la Carrera de laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, Ecuador. Director de proyectos de investigación en las áreas de fitoquímica, Ecuador.