CARACTERIZACIÓN DEL COMPUESTO

MURRAYANINA COMO FÁRMACO POTENCIAL PARA EL

TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

JOSE MIGUEL PEDROZA BEDOYA

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN BIOQUIMICA
CARTAGENA, COLOMBIA 2020

CARACTERIZACIÓN DEL COMPUESTO

MURRAYANINA COMO FÁRMACO POTENCIAL PARA EL

TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

JOSE MIGUEL PEDROZA BEDOYA

DR. CARLOS ENRIQUE MONERIZ PRETELL TUTOR

SARAY STEFANY VERGARA MUÑOZ CO-TUTOR

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN BIOQUIMICA
CARTAGENA, COLOMBIA 2020

Nota de aceptación

Nombre y firma del Presidente del jurado

Nombre y firma del Jurado

Nombre y firma del Jurado

Nombre y firma del Jefe de la Unidad Académica

Cartagena, 31 de julio de 2020
Cartagena, julio de 2020

Doctora
VIRNA CARABALLO
Jefe Departamento de Postgrado y Educación Continua

Facultad de Medicina
Universidad de Cartagena
L. C.

Cordial saludo.

La presente tiene como fin el dar a conocer la nota cuantitativa del informe final del Trabajo de grado: **CARACTERIZACIÓN DEL COMPUESTO MURRAYANINA COMO FÁRMACO POTENCIAL PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS.** Realizado por el estudiante de postgrado: **JOSE MIGUEL PEDROZA BEDOYA,** del programa de: **MAESTRÍA EN BIOQUÍMICA.**

Calificación obtenida: 4,7

Atentamente,

Carlos Enrique Moneriz Pretell Ph.D.
Docente Titular
Maestría en Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad de Cartagena

Carlos Enrique Moneriz Pretell Ph.D.
Cartagena, 31 de julio de 2020

Doctora
INES BENEDETTI
Jefe de Departamento de Investigaciones
Facultad de Medicina
Universidad de Cartagena
L.C.

Cordial saludo.

Por medio de la presente, autorizo que nuestro trabajo de investigación titulado: **CARACTERIZACIÓN DEL COMPUESTO MURRAYANINA COMO FÁRMACO POTENCIAL PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS** realizado por **JOSE MIGUEL PEDROZA BEDOYA,** bajo la tutoría de **CARLOS ENRIQUE MONERIZ PRETELL y SARAY STEFANY VERGARA MUÑOZ**, sea digitalizado y colocado en la web en formato PDF, para la consulta de toda la comunidad científica. Lo anterior es exigencia de la rectoría de la Universidad de Cartagena según circular 021 de la

vicerrectoría académica de la Universidad de Cartagena del 28 de agosto del 2012:

Atentamente,

Jose Miguel Pedroza Bedoya
Maestría en Bioquímica
C.C. 1.143.376.224

Facultad de Medicina

Universidad de Cartagena

Saray Stefany Vergara Muñoz

MSc Co-Tutor

Docente tiempo completo

Facultad de Medicina

Universidad del Sinú

Carlos Enrique Moneriz Pretell Ph.D.

Tutor

Docente Titular

Maestría en Bioquímica

Cartagena, 31 de julio de 2020

Doctora
INES BENEDETTI
Jefe de Departamento de Investigaciones
Facultad de Medicina
Universidad de Cartagena
L.C.

Cordial saludo.

Por medio de la presente, autorizo que nuestro trabajo de investigación titulado: **CARACTERIZACIÓN DEL COMPUESTO MURRAYANINA COMO FÁRMACO POTENCIAL PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS** realizado por **JOSE MIGUEL PEDROZA BEDOYA,** bajo la tutoría de **CARLOS ENRIQUE MONERIZ PRETELL y SARAY STEFANY VERGARA MUÑOZ**, a la Universidad de Cartagena para la consulta y préstamos a la biblioteca únicamente con fines académicos y/o investigativos descartándose cualquier fin comercial, permitiendo de esta manera su acceso al público. Esto exonera a la Universidad por cualquier reclamo de tercero que invoque autoría de la obra. Lo anterior es exigencia de la rectoría de la Universidad de Cartagena circular 021 de la vicerrectoría académica de la Universidad de Cartagena del 28 de agosto del 2012:

Hago énfasis de que conservamos el derecho como autores de registrar nuestra investigación como obra inédita y la facultad de poder publicarlo en

cualquier otro medio.

Atentamente,

Jose Miguel Pedroza Bedoya
Maestría en Bioquímica
C.C. 1.143.376.224

Carlos Enrique Moneriz Pretell Ph.D.
Tutor
Docente Titular
Maestría en Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad de Cartagena

Saray Stefany Vergara Muñoz
MSc Co-Tutor
Docente tiempo completo
Facultad de Medicina
Universidad del Sinú

Cartagena, 31 de julio de 2020

Doctora
INES BENEDETTI
Jefe de Departamento de Investigaciones
Facultad de Medicina
Universidad de Cartagena
L.C.

Cordial saludo.

Con el fin de optar por el título de: **MAGÍSTER EN BIOQUÍMICA**, he presentado a la Universidad de Cartagena el trabajo de grado titulado: **CARACTERIZACIÓN DEL COMPUESTO MURRAYANINA COMO FÁRMACO POTENCIAL PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS**.

Por medio de este escrito autorizo en forma gratuita y por tiempo indefinido a la Universidad de Cartagena para situar en la biblioteca un ejemplar del trabajo de grado, con el fin de que sea consultado por el público.

Igualmente autorizo en forma gratuita y por tiempo indefinido a publicar en forma electrónica o divulgar por medio electrónico el texto del trabajo en formato PDF con el fin de que pueda ser consultado por el público.

Toda persona que consulte ya sea en la biblioteca o en medio electrónico podrá copiar apartes del texto citando siempre la fuente, es decir el título y el autor del trabajo. Esta autorización no implica renuncia a la facultad que tengo de publicar total o parcialmente la obra. La Universidad no será responsable de ninguna

reclamación que pudiera surgir de terceros que reclamen autoría del trabajo que presento

Lo anterior es exigencia de la rectoría de la Universidad de Cartagena según circular 021 de la vicerrectoría académica de la Universidad de Cartagena del 28 de agosto del 2012:

Atentamente,

Jose Miguel Pedroza Bedoya
Maestría en Bioquímica
C.C. 1.143.376.224

Universidad de Cartagena
Saray Stefany Vergara Muñoz
MSc Co-Tutor
Docente tiempo completo
Facultad de Medicina
Universidad del Sinú

Carlos Enrique Moneriz Pretell Ph.D.
Tutor
Docente Titular
Maestría en Bioquímica
Facultad de Medicina

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos principalmente al Doctor Carlos Moneriz Pretell, además en conjunto a los miembros del Grupo de Investigacion Bioquimica y Enfermedad y a la Universidad de Cartagena , quienes brindaron su apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

CONTENIDO

1. RESUMEN..... 12
2. INTRODUCCIÓN GENERAL..... 13
2.1. Género *Murraya*..... 14
2.1.1. Descripción taxonómica 14
2.1.2. Hábitat y distribución..... 15
2.1.3. Composición química 15
2.2. Características de *Murraya koenigii* 16
2.2.1. Utilidad tradicional 16

2.2.2. Utilidad medica..... 17
2.2.3 Descripción Fitoquímica..... 17
2.3. Murrayanina..... 18
2.3.1. Propiedades físico químicas 19
2.3.2. Características Fitoquímicas..... 20
2.4. Actividades biológicas del compuesto Murrayanina... 21
2.4.1. Actividad anticancerígena 21
2.4.2. Actividad antinflamatoria..... 21
2.4.3. Actividad hipoglucemiante 23
2.4.4. Actividad antimicrobiana ..... 23 **3. JUSTIFICACIÓN** ..... 24 **4. OBJETIVOS** 27
4.1. Objetivo general 27
4.2. Objetivos específicos 27
REFERENCIAS 28
5. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN 32
5.1. ACTIVIDAD *IN SILICO* DE LA MURRAYANINA COMO UN POTENCIAL FÁRMACO ANTIMICROBIANO CON MÚLTIPLES DIANAS MOLECULARES..... 33
Resumen..... 34
Abstract 35
5.1.1. Introducción 36
5.1.2 Enfermedades infecciosas prevalentes en Colombia 39
5.1.2.1. Malaria..... 40
5.1.2.2. Dengue (DENV)..... 42
5.1.2.3. Chikungunya (CHIKV) 43
5.1.2.4. Zika (ZIKV)..... 45
5.1.2.5. COVID-19..... 47
5.1.3. La Murrayanina, molécula con múltiples acciones biológicas 48
5.1.4. Materiales y Métodos..... 49

5.1.4.1. Identificación de principios activos..... 49

5.1.4.2. Evaluación de las Reglas de Lipinski 49

5.1.4.3. Predicciones de las propiedades farmacocinéticas - (ADME/Tox)..... 50

5.1.4.4. Acoplamiento molecular..... 51

5.1.5. Resultados..... 52

5.1.5.1. Predicción de las Reglas de Lipinski..... 52

5.1.5.2. Predicción de las propiedades farmacocinéticas - (ADME/Tox)..... 53

5.1.5.3. Evaluación del potencial de toxicidad..... 54

5.1.5.4. Análisis del acoplamiento molecular..... 55

5.1.6. Discusión..... 60

5.1.7. Conclusiones 66

Referencias 67

5.2. ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA *IN VITRO* DE LA MURRAYANINA, UN ALCALOIDE DERIVADO DE *MURRAYA KOENIGII*..... 73

Abstract: 75

5.2.1. Introducción 75

5.2.2. Materiales y Métodos..... 81

5.2.2.1. Cultivo de *P. falciparum*..... 81

5.2.2.2. Determinación de la actividad antimalárica *in vitro*81

5.2.2.2.1. Ensayo microscópico para evaluar el efecto antimalárico 81

5.2.2.3. Determinación de la Concentración Inhibitoria 50 (CI_{50}) del compuesto Murrayanina ..... 82 **5.2.2.4. Ensayo de hemolisis**..... 82

5.2.3. Resultados..... 84

5.2.3.1. Determinación de CI_{50} del compuesto Murrayanina a nivel intraeritrocitario sobre *P. falciparum* 84

5.2.3.2. Efecto antimalárico de las diferentes concentraciones de la Murrayanina sobre los estadios intraeritrocitarios del *P. falciparum* 86

5.2.3.3. Efecto hemolítico del compuesto Murrayanina 90

5.2.4. Discusión..... 91

5.2.5. Conclusión 96

Referencias 97

1. RESUMEN

El género *Murraya* comprende alrededor de 35 especies de plantas pertenecientes a la familia *Rutaceae*. Entre las especies de este género se puede citar a *M. koenigii*, la cual posee en su extracto biológico el compuesto Murrayanina, que fue el primer alcaloide carbazolico biológicamente activo aislado de la planta *Murraya koenigii.* Este compuesto cuenta con una importancia etnofarmacéutica como estimulante, analgésico, astringente, antioxidante, antimicrobiano, febrífugo, etc. Sin embargo, Murrayanina es considerado un blanco sintético atractivo, ya que es el intermediario para la síntesis de otros alcaloides carbazolicos. Según estudios realizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), más del 80% de la población alrededor del mundo está utilizando como nueva alternativa terapéutica a los medicamentos producidos a partir de las plantas medicinales o sus componentes activos derivados. La flora en nuestro país está constituida por 202 familias botánicas conformadas por diversas especies vegetales con principios activos que son utilizados en el manejo terapéutico de diferentes

condiciones de salud. No obstante, la mayor parte de su uso tiene una base empírica y carecen de evidencia científica que la convaliden. Por lo tanto, con la realización de esta investigación se podrá determinar el potencial biológico del compuesto Murrayanina, lo que servirá como línea de base para la identificación de nuevos principios activos para posterior producción de fármacos de origen natural y su posterior utilización en el tratamiento de enfermedades tropicales.

2. INTRODUCCIÓN GENERAL

En la actualidad, un gran número de personas pertenecientes a los países en desarrollo dependen de las plantas medicinales para la atención médica y el cuidado personal, además de los beneficios económicos y el desarrollo cultural que derivan de su uso. Durante siglos, las plantas medicinales se han utilizado ampliamente en la medicina tradicional en muchos países a nivel mundial (1). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), alrededor del 80% de la población mundial depende de medicinas a base de plantas para sus necesidades básicas de salud. Los compuestos derivados de plantas pueden producir menos reacciones adversas que los sintéticos; puestos que se absorben con mayor facilidad, sumado a esto son más económicos, lo que supone un mayor acceso especialmente a las poblaciones más vulnerables (2-4).

La demanda de plantas medicinales tradicionales está aumentando de

manera progresiva a una tasa anual del 20% en la India, en China, del 30% al 50% del consumo total de medicamentos proviene de preparaciones de medicina tradicional y en Alemania, alrededor del 90% de la población utiliza remedios naturales para ciertos problemas de salud. Por lo tanto, es evidente que las plantas medicinales utilizadas en los tratamientos médicos tradicionales se han vuelto necesarias y son importantes tanto en los países en desarrollo como en los industrializados. Esto demuestra claramente el mercado mundial de la medicina tradicional continúa aumentando gradualmente (1, 5). Sin embargo, a pesar que en Colombia existe una

diversidad de flora excepcional estimada en 51220 especies de plantas vasculares, solo el 5,4% (2800) de las especies de plantas medicinales se encuentran depositadas en colecciones botánicas, por lo que aún queda mucho por investigar en cuanto a obtención de compuestos fitoquímicos de uso terapéutico (6, 7).

2.1. Género *Murraya*

2.1.1. Descripción taxonómica

La familia *Rutaceae* está comprendida por un gran y variado número de especies de plantas, las cuales han demostrado que cuentan con un alto potencial químico y farmacológico. Por eso mismo varios de los géneros de plantas que son pertenecientes a esta familia han sido importantes y de gran utilidad como una nueva alternativa terapéutica en la medicina tradicional, como es el caso de las especies de plantas pertenecientes al género *Murraya* (8). Este género está constituido aproximadamente por 35 especies,

originarias del sudeste asiático, sin embargo, tienen una distribución casi cosmopolita; ya que se pueden encontrar tanto en regiones tropicales, subtropicales y templadas, caracterizado por ser un árbol ornamental con un tamaño promedio de 2 a 3 m de altura con hojas color verde, enteras y subopuestas, las flores son acampanadas, fragantes, hasta de 2 cm de ancho, sépalos triangulares, obtusos, pétalos de 1-2,5 cm; fruto rojo, subgloboso, de 1-1,6 cm(9).

2.1.2. Hábitat y distribución

Es nativa de China, India, Sri Lanka, Vietnam, Laos, Noreste de Australia y Taiwán, adicionalmente, puede adaptarse a otros países tropicales y subtropicales. Es una de las plantas más comunes en patios y jardines, muy empleada para formar setos y podarlas. A causa de su fácil propagación por semillas, se ha hecho espontánea en muchos lugares, cultivándose en las Antillas y en América tropical continental, desarrollándose en suelos bien drenados, sedimentarios, además la planta resiste temperaturas de hasta - 4 ºC, siendo capaz de crecer tanto en la sombra como en la luz (10).

2.1.3. Composición química

Desde el punto de vista fitoquímico las plantas del género *Murraya* han sido investigadas en muchas partes del mundo, lo cual ha permitido lograr el aislamiento de gran cantidad de componentes, principalmente alcaloides

carbazólicos, además de coumarinas, quinonas, flavonoides, polisacáridos, aceites esenciales, entre otros. Los fitoconstituyentes aislados de las hojas son alcaloides como mahanina, koenina, koenigina, koenidina, girinimbiol, girinimibina, koenimbina, O-metil murrayamina A, O-metil-mahanina, isomanina, bismahanina, bispirayafolina y otros fitoconstituyentes de tipo alcaloides carbazolicos, tales como escopotina y murrayanina, además de otras moléculas de importancia biológica como calcio, fósforo, hierro, tiamina, riboflavina, niacina, vitamina C, caroteno y ácido oxálico. El aceite esencial de las hojas además está constituido por di-α-phellandreno, D-sabineno, D-α pineno, dipenteno, D-α-terpinol y cariofileno. Los constituyentes anteriormente descritos han permitido dilucidar que el aceite esencial de esta planta posee

potencialmente actividades biológicas como la actividad antioxidante, antibacteriana, antifúngica, larvicida, anticancerígena, hipoglucémica, analgésica hipolipemiante, antinflamatorio y antihipertensiva. Entre las especies más importantes y que comprenden a este género tenemos a *Murraya euchrestifolia*, *M. alternans, M. siamensis*, *M. paniculata y M. koenigii* (9, 11-14).

2.2. Características de *Murraya koenigii*

2.2.1. Utilidad tradicional

Los aceites esenciales y el polvo de hojas frescas de *M. koenigii* son empleados tradicionalmente en la cocina para sazonar y preparar alimentos. La planta es usada en la medicina tradicional india para tratar diversas

dolencias(15), se puede emplear el extracto de las hojas como antimicrobiano(16), también se puede producir un excelente tónico capilar a partir de las hojas frescas hervidas, esto se obtener mediante la preparación de una mezcla con aceite de coco, esto permite retener un tono normal de cabello y mejorar su crecimiento, tradicionalmente se emplean las hojas, ya sea en forma enteras o en partes para la preparación de infusiones, estas infusiones son utilizadas en el tratamiento de algunas afecciones como agente antidiarreico, antifúngico, hipoglucemiante, antinflamatorio y antidepresivo(17- 21).

2.2.2. Utilidad medica

La especie *M. koenigii* es la fuente más rica de alcaloides carbazolicos y se considera la más importante debido a que es utilizada comúnmente en el tratamiento de diversas afecciones en salud, gracias a sus propiedades biológicas de tipo anticancerígena, estimulante, analgésico, astringente, antioxidante, antimicrobiana y antinflamatoria, estas propiedades le han permitido caracterizarse como un recurso de gran espectro y utilidad en el campo de la medicina tradicional (22-28).

2.2.3 Descripción Fitoquímica

Se ha logrado aislar una amplia gama de fitoquímicos a partir de las hojas,

raíces y corteza del tallo de *M. koenigii,* estas son conocidas por estar constituidas por gran cantidad de componentes con potencial biológico. Por ejemplo, las hojas tienen la capacidad de aumentar las secreciones digestivas, aliviar náuseas, indigestión y vómito (29),a partir de estudios fitoquímicos realizados en hojas, tallo, corteza y raíz, se ha logrado obtener como resultado el aislamiento de alcaloides carbazolicos como girinimbina, mahanimbina, murrayafolina-A, murrayanina y triterpenos(30-32), en las hojas de curry se identificaron cinco alcaloides carbazolicos más, tales como, euchrestina B, bismurrayafolina E, mahanina, mahanimbicina y mahanimbina(33).

Etnofarmacología y la etnobotánica son una fuente alternativa para la síntesis de medicamentos a partir de extractos o metabolitos secundarios de origen vegetal. Las plantas han sido usadas en la medicina tradicional desde hace miles de años, siendo la principal fuente de tratamiento para diversas

patologías, principalmente en las áreas rurales y poblaciones nativas, siendo una opción más accesible y asequible (4).

2.3. Murrayanina

El compuesto Murrayanina (Ver figura 1 y tabla 1), fue el primer alcaloide carbazolico biológicamente activo aislado de la planta *Murraya koenigii* (24), y se encuentra presente en el extracto biológico de la corteza de su raíz (34). Desde el descubrimiento de Murrayanina, así como el de sus características estructurales y actividades farmacológicas prometedoras, este compuesto y sus derivados han tomado gran importancia a nivel biológico y farmacológico,

por ende, esto ha suscitado a la realización de múltiples estudios e investigaciones con el fin de identificar y caracterizar las propiedades biológicas que posee, para así poder utilizarlas en el manejo y tratamiento de determinadas afecciones en salud.

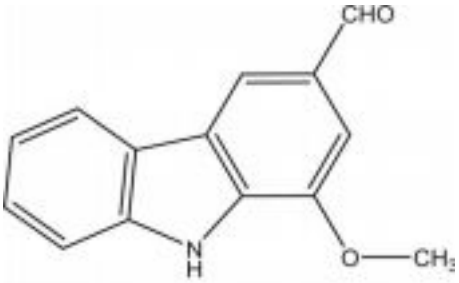


Figura 1. Estructura de Murrayanina (24)

Tabla 1. Nombre e identificadores de Murrayanina (35)

Formula molecular: $C_{14}H_{11}NO_2$

IUPAC: 1-metoxi-9 *H* -carbazol-3-carbaldehído

InChI: 1S / C14H11NO2 / c1-17-13-7-9 (8-16) 6-11-10-4-2-3-5- 12 (10) 15-14 (11) 13 / h2-8, 15H, 1H3

Clave InChI: FWNZQNAJETXQPP-UHFFFAOYSA-N

SMILE: COC1 = CC (= CC2 = C1NC3 = CC = CC = C32) C = O

2.3.1. Propiedades físico químicas

Murrayanina es un alcaloide carbazolico derivado de *Murraya koenigii*, posee unas propiedades fisicoquímicas muy singulares (ver Tabla 2), además se caracteriza químicamente por ser soluble en benceno, cloroformo, etanol, metanol, etc., pero insoluble en éter de petróleo; este compuesto cuenta con numerosas funciones beneficiosas para el ser humano (24).

Mediante un proceso de Ciclo adición de tipo Diels-Alder se puede sintetizar Murrayanina, este proceso consiste en una ciclo adición de alta

regioselectividad entre un dieno heterocíclico como 4,5-dimetilen-3-fenil-1,3-oxazolidin-2-ona y un dienófilo como la acroleína, estas moléculas por medio de reacciones catalizadas por ácidos de Lewis a baja temperatura permiten la obtención de Murrayanina (36). También es posible sintetizarla siguiendo el protocolo del método anteriormente descrito partiendo del dieno 4,5-dimetilen

3-fenil-1,3-oxazolidin-2-ona, posteriormente mediante una reacción de alta regioselectividad de Diels-Alder con acrilaldehido se obtiene diarilamina, esta última mediante una reacción de ciclación de tipo Heck catalizada con Paladio finalmente origina como resultado el compuesto Murrayanina (37). Por medio de técnicas de espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) se pudo elucidar la constitución y la estereoquímica estructural del compuesto Murrayanina, el cual se encuentra conformado por un anillo de pirano, también muestra un anillo de furano anulado que presenta un sustituyente fenilo trioxigenado único con una cadena lateral de hidroxietilo. Esta característica estructural no se encuentra en ningún otro alcaloide carbazolico conocido (38).

Tabla 2. Propiedades Fisicoquímicas de Murrayanina (35)

Propiedades físico químicas Valor de la propiedad Peso molecular 225,24 g / mol

Masa exacta 225.078979 g / mol Masa monoisotópica 225.078979 g / mol

XLogP3-AA 2.8

Recuento de donantes de enlace de hidrógeno 1

Recuento de aceptadores de enlace de hidrógeno 2

Conteo de bonos rotativo 2

Área de superficie polar topológica 42,1 Å²

Cantidad de átomos 17

Carga formal 0

Complejidad 294

Recuento de átomos de isótopos 0

Recuento definido de estereocentros atómicos 0

Recuento de estereocentro de átomo indefinido 0

Conteo de estereocentro de enlace definido 0

Conteo de estereocentro de enlace indefinido 0

Recuento de unidades covalentemente unidas 1

2.3.2. Características Fitoquímicas

Murrayanina es considerado un blanco sintético atractivo, ya que es el intermediario para la síntesis de otros alcaloides carbazolicos como Murrayafolina A, Koenolina, Ácido mucoético, Mukonina, 1-hidroxi-3-metilcarbazol, *O*- desmetilmurrayanina, Clausina y 3-formilcarbazol (39, 40). Con el fin de potencializar la actividad biológica del compuesto Murrayanina y desarrollar candidatos a fármacos seguros a partir de este, se hace necesario realizar la síntesis de híbridos derivados del compuesto, los cuales pueden permitir amplificar y mejorar su potencial biológico (25, 41).

2.4. Actividades biológicas del compuesto

Murrayanina 2.4.1. Actividad anticancerígena

La actividad anticancerígena de Murrayanina se ha reportado en diversos estudios. Por ejemplo, *Zhang et al. 2019*(42), mediante ensayos *in vitro* informó que Murrayanina tiene la capacidad de inducir la detención del ciclo celular, el estrés oxidativo y la inhibición de la expresión de p38 fosforilasa en células cancerígenas; Esto se pudo demostrar mediante la realización de

ensayos *in vitro*, lo cual fue dado mediante cultivos de células de adenocarcinoma de pulmón humano A549 y fibroblastos de pulmón humano MRC-5. Como resultado se logró identificar que la murrayanina inhibía el crecimiento de las células A549 de una manera dependiente de la concentración, el compuesto Murrayanina presento una IC50 para las células A549 y células MRC-5 equivalentes a 9 μM y > 100 μM, respectivamente.

2.4.2. Actividad antinflamatoria

Múltiples estudios de tipo *in silico*, *in vitro* e *in vivo* han sido realizados con el fin de evaluar la actividad antinflamatoria del compuesto Murrayanina. *Orozco et al.* 2016(43), evaluó la interacción molecular entre Murrayanina frente a la enzima Fosfolipasa A2, mediante análisis *in silico* de docking molecular. Para esto, se obtuvo la estructura 3D de la enzima FLA 2 (PDBID–1POE), fue obtenida del servidor Protein Data Bank y se empleó el programa DeepView para su análisis y visualización. Finalmente, el análisis *in silico* del docking molecular, demostró alta probabilidad de unión al sitio activo de la enzima Fosfolipasa A2 por parte de la Murrayanina, con energías de unión entre -7.4

y-6.9 Kcal/mol, demostrando gran afinidad entre el ligando (Murrayanina) y el receptor (Fosfolipasa A2).

En el estudio realizado por *Gupta et al.* 2019(44), se logró comprobar la actividad antinflamatoria de Murrayanina mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*,

se identificó que la Murrayanina atenúa la inflamación inducida por lipopolisacáridos y protege a los ratones de la insuficiencia orgánica asociada a la sepsis. Los ensayos *in vitro* indicaron que Murrayanina disminuyó la producción de Óxido nítrico (NO), Factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) e Interleuquina 6 (IL-6) en células RAW 264.7 estimuladas con lipopolisacáridos y macrófagos peritoneales murinos. La expresión de la proteína Óxido nítrico sintasa (iNOS) y Ciclooxigenasa 2(COX-2), así como su producto posterior, Prostaglandina E2 (PGE 2), también disminuyó efectivamente en las células RAW 264.7. Además, Murrayanina disminuyó la fosforilación de Factor nuclear Inhibidor kappa β (Ikβ) y reprimió la actividad de Factor nuclear kappa β (FN-Kβ) en células RAW 264.7 activadas por lipopolisacáridos. Los ensayos *in vivo* evaluaron la eficacia de Murrayanina, mediante la implementación de sepsis inducida por lipopolisacáridos, en el modelo de inflamación sistémica en ratones, se pudo identificar que la administración de Murrayanina produjo la inhibición en la secreción de citocinas proinflamatorias (TNF-α e IL 6); disminución en los niveles de Aspartato Amino Transferasa(AST), Alanina Amino Transferasa(ALT),Nitrogeno Ureico en Sangre(BUN) y Creatinina(CRE) en suero de ratón; adicionalmente mitigo las lesiones pulmonares, hepáticas y renales y también aumentó la tasa de supervivencia de ratones enfrentados a concentraciones determinadas de lipopolisacáridos.

2.4.3. Actividad hipoglucemiante

La Murrayanina es un producto conocido durante siglos por su importancia etnofarmacológica en el tratamiento de los niveles elevados de glucosa en

sangre. *Mahapatra et al.* 2017(45), mediante ensayos *in vivo* demostraron que la integración entre compuesto Murrayanina y la molécula chalcona E-1,3-

difenil2-propeno-1-ona) origina híbridos con actividad hipoglucémicante, esto lo lograron demostrar mediante la realización del protocolo de Satyanarayana et al. (46). Para lo anterior se utilizó un modelo de ratas, a las cuales se les administró solución de Estreptozotocina y 48 h después se le cuantificaron los niveles de glucosa mediante tiras de glucosa comerciales. Posteriormente se dividieron en dos grupos, al primer grupo categorizado como control se le administro 1% de goma arábiga y al segundo grupo se le suministro Glibenclamida para comparar la actividad hipoglucémica. Los resultados de estos ensayos demostraron que los híbridos exhibieron una reducción efectiva del nivel de glucosa en sangre equivalente a más de 18% y se encontró que los resultados eran comparables con el fármaco estándar Glibenclamida que mostraba un control hipoglucémico del 38,49%.

2.4.4. Actividad antimicrobiana

Mediante ensayos *in vitro Mahapatra et al*. (47), demostró el potencial antimicrobiano del compuesto Murrayanina (0,01 M), para este estudio tuvo que ser fusionada mediante la reacción de Claisen-Schmidt con la molécula chalcona E-1-4-piperazin-1-il-fenil etanona (0,01 M) para producir finalmente la fabricación del compuesto 1- 1-metoxi-9H-carbazol-3-il-3- 4- piperazin-1-il fenil, a quien se le evaluó su potencial antimicrobiano contra especies

bacterianas patógenas como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, y

especies de hongos patógenos como *Aspergillus niger* y *Candida albicans*, mediante el método de difusión de disco. Finalmente se identificó que la molécula 1-1-metoxi-9H-carbazol-3-il-3- 4- piperazin-1-il-fenil exhibió una alta actividad antibacteriana contra *E. coli* con un ZOI (zona de inhibición en milímetros) de 24,39 mm, la actividad contra *S. aureus* era de 21,99 mm y una notable actividad antifúngica contra *C. albicans* con un ZOI de 22,93 mm, mientras que se observó que el efecto fungicida contra *A. niger* era de 20,07 mm.

De acuerdo con lo planteado anteriormente surgió el siguiente interrogante: ¿El compuesto Murrayanina, presente en el extracto biológico de la corteza de raíz de la planta *Murraya koenigii*, tendría potencial biológico que pueda ser fuente para el desarrollo de fármacos útiles para el tratamiento de enfermedades infecciosas?

3. JUSTIFICACIÓN

Las plantas medicinales fueron utilizadas popularmente desde los comienzos de las civilizaciones y son usadas actualmente por tradición, debido a que son consideradas como un tipo de remedios naturales y por razones económicas resultan más accesibles para el consumidor, en consecuencia con esto, desempeñan un papel muy importante en la vida de los seres humanos, lo que es debido a que los componentes de las plantas son ampliamente aprovechados en el área farmacéutica, así como en cosmética y alimentación. Según estudios realizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), se

pudo estimar que aproximadamente más del 80% de la población alrededor del mundo está utilizando como nueva alternativa terapéutica a los medicamentos producidos a partir de las plantas medicinales o los componentes activos derivados a partir de estos. Actualmente existe un sensible aumento de la demanda de fármacos con extractos vegetales estandarizados y existe un enfoque particular en la búsqueda de nuevos principios activos provenientes de las plantas (48).

Así mismo los medicamentos de origen natural se caracterizan por su bajo efecto residual y las pocas contraindicaciones que se le conocen. Por lo tanto, la búsqueda de nuevos fármacos para el tratamiento de enfermedades tropicales es de especial interés, lo cual es derivado del déficit de este tipo de medicamentos para el tratamiento de estas afecciones en el mercado farmacéutico actual (49, 50).

La flora en nuestro país es tan diversa que permite realizar la evaluación de las diversas plantas que la constituyen, con el fin de lograr obtener unas nuevas alternativas que sean de gran utilidad para las personas que padezcan algún tipo de afección; las plantas medicinales en Colombia más reconocidas son las pertenecientes aproximadamente a 202 familias botánicas, teniendo a las más conocidas y frecuentemente utilizadas las que pertenecen a las familias *Asteraceae, Fabaceae, Rubiaceae, Solanaceae, Lamiaceae, Euphorbiaceae, Piperaceae y Rosaceae*, entre otras, por lo cual cabe resaltar que en Colombia existen diversas especies vegetales con principios activos que son utilizados en el manejo terapéutico de diferentes

condiciones de salud. No obstante, la mayor parte de su uso tiene una base empírica y

carecen de evidencia científica que la convaliden. Debido a lo anterior surge la necesidad de estudiar esta diversidad vegetal desde el punto de vista fitoquímico y farmacológico (51, 52).

En Colombia se han realizado múltiples estudios en los cuales evaluaron las propiedades y/o actividades biológicas de las plantas medicinales, entre las investigaciones que podemos señalar se encuentra la realizada por *Garavito et al.* (2006), en el cual se realizaron estudios evaluando la actividad antimalárica de ciertos extractos de plantas medicinales colombianas, usadas tradicionalmente en el tratamiento para aliviar los síntomas de la malaria (53). En estudios previos del grupo investigador(GIBYE) sobre las especies del género *Murraya*, se logró identificar que la especie *Murraya exótica*(*M.paniculata*) presenta una potencial actividad antimalárica, lo cual suscita la necesidad de seguir investigando las especies pertenecientes al género *Murraya* con potencial antimalárico, entre esas especies, se encuentra *Murraya koenigii* que en su extracto biológico se encuentra constituida por el compuesto Murrayanina, la cual mediante un estudio *in silico* más detallado y validaciones con ensayos *in vitro*, se pretende identificar su actividad antimalárica , lo cual sería de gran utilidad para aportar más herramientas en la lucha contra esta enfermedad.

Murraya koenigii, está ampliamente distribuida en zonas tropicales y subtropicales, tal es así que específicamente ha logrado convertirse en una

especie espontánea. Se tienen informes que corroboran la capacidad de esta especie de originar importantes metabolitos secundarios como lo son los Flavonoides, Coumarinas y Alcaloides carbazolicos como el compuesto

Murrayanina, el cual ha demostrado una gran asociación con actividades farmacológicas de relevancia en la salud humana (9).

Por lo tanto, con la realización de esta investigación se podrá determinar el potencial biológico del compuesto Murrayanina para el tratamiento de enfermedades tropicales. Lo que servirá como línea de base para la identificación de nuevos principios activos para posterior producción de fármacos de origen natural y su consecuente utilización en el tratamiento de este tipo de afecciones.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Caracterizar el compuesto Murrayanina como fármaco con potencial biológico para el tratamiento de Enfermedades Infecciosas.

4.2. Objetivos específicos

- Evaluar la actividad antiviral y antimalárica mediante docking molecular, mediante la interacción entre el compuesto *Murrayanina* y los blancos moleculares.
- Evaluar *in silico* las propiedades farmacocinéticas del compuesto en relación a su absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADME/Tox) a través del cuerpo humano,

- Determinar computacionalmente la concentración del compuesto Murrayanina que presenta actividad biológica para el tratamiento de enfermedades infecciosas.
- Determinar la actividad antimalárica y efecto hemolítico *in vitro* del compuesto Murrayanina mediante el cálculo de la concentración inhibitoria 50 (CI50) sobre cultivos de *P. falciparum* cepa Dd2 y glóbulos rojos humanos, respectivamente.

REFERENCIAS

1. Balakrishnan R, Vijayraja D, Jo S-H, Ganesan P, Su-Kim I, Choi D-K. Medicinal profile, phytochemistry, and pharmacological activities of Murraya koenigii and its primary bioactive compounds. Antioxidants. 2020;9(2):101.
2. Chinsembu KC. Plants as antimalarial agents in Sub-Saharan Africa. Acta tropica. 2015;152:32-48.
3. Guo Z. Artemisinin anti-malarial drugs in China. Acta Pharmaceutica Sinica B. 2016;6(2):115-24.
4. Muthu C, Ayyanar M, Raja N, Ignacimuthu S. Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. 2006;2(1):43.
5. Gunjan M, Naing TW, Saini RS, Ahmad A, Naidu JR, Kumar I. Marketing trends & future prospects of herbal medicine in the treatment of various disease. World Journal of Pharmaceutical Research. 2015;4(9):132-55.
6. Moreno LA, Andrade G, Ruíz-Contreras L. Estado y tendencias de la biodiversidad continental de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt Bogotá, DC, Colombia. 2016.
7. VELANDIA SA, QUINTERO E, STASHENKO EE, OCAZIONEZ RE. ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA DE ACEITES ESENCIALES DE PLANTAS CULTIVADAS EN COLOMBIA. Acta Biológica Colombiana. 2018;23:189-98.
8. Coy Barrera CA, Cuca Suárez LE, Quintero Londoño C. Farmacognosia y farmacobotánica de especies pertenecientes a los géneros Esenbeckia y Raputia (Rutaceae). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2013;18(4):638-53.
9. Casado Martín CM, Gutiérrez Gaitén YI, Rodríguez Amado E. Acercamiento al género Murraya (Rutaceae) y a la especie Murraya paniculata (L.) Jack. Revista Cubana de Plantas Medicinales.

2011;16:408-18.
10. Parrotta JA, Parrotta JA. Healing plants of peninsular India. 2001. 11. Murphy WS, Bertrand M. Bromoquinone–enaminone annulations: syntheses of murrayaquinone-A and (±)-bismurrayaquinone-A. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1. 1998(24):4115-20. 12. McDonald JW, Miller JE, Kim M, Velu SE. An expedient synthesis of murrayaquinone A via a novel oxidative free radical reaction. Tetrahedron Letters. 2018;59(6):550-3.
13. Ajay S, Rahul S, Sumit G, Paras M, Mishra A, Gaurav A. Comprehensive review: Murraya koenigii Linn. Asian J Pharm Life Sci. 2011;2231:4423.

14. Raina V, Lal R, Tripathi S, Khan M, Syamasundar K, Srivastava S. Essential oil composition of genetically diverse stocks of Murraya koenigii from India. Flavour and fragrance journal. 2002;17(2):144-6.
15. Kumar V, Sharma A, Tiwari R, Sushil K. Murraya koenigii: A review. J of Med and Aromat Plant Sci. 1999;21:1139-44.
16. Erkan N, Tao Z, Rupasinghe HPV, Uysal B, Oksal BS. Antibacterial Activities of Essential Oils Extracted from Leaves of Murraya koenigii by Solvent-Free Microwave Extraction and Hydro-Distillation. Natural Product Communications. 2012;7(1):1934578X1200700139.
17. Adebajo AC, Ayoola OF, Iwalewa EO, Akindahunsi AA, Omisore NOA, Adewunmi CO, et al. Anti-trichomonal, biochemical and toxicological activities of methanolic extract and some carbazole alkaloids isolated from the leaves of Murraya koenigii growing in Nigeria. Phytomedicine. 2006;13(4):246-54.
18. Joshi T, Jain T, Mahar R, Singh SK, Srivastava P, Shukla SK, et al. Pyranocarbazoles from Murraya koenigii (L.) Spreng. as antimicrobial agents. Natural Product Research. 2018;32(4):430-4.
19. Tembhurne S, Sakarkar D. Hypoglycemic effects of fruit juice of Murraya koenigii (L) in alloxan induced diabetic mice. Int J Pharm Tech Res. 2009;1(4):1589-93.
20. Rautela R, Das G, Khan F, Prasad S, Kumar A, Prasad J, et al. Antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant effects of Aegle marmelos and Murraya koenigii in dairy cows with endometritis. Livestock science. 2018;214:142-8.
21. Sharma S, Handu S, Dubey AK, Sharma P, Mediratta P, Ahmed QM. Anti-anxiety and Anti-depressant Like Effects of Murraya koenigii in Experimental Models of Anxiety and Depression. Ancient science of life. 2017;36(4):215-9.
22. Rajendran MP, Pallaiyan BB, Selvaraj N. Chemical composition, antibacterial and antioxidant profile of essential oil from Murraya koenigii (L.) leaves. Avicenna journal of phytomedicine. 2014;4(3):200.
23. Begum NA, Roy N, Mandal S, Basu S, Mandal D. Fluorescence spectroscopy of a naturally occurring carbazole alkaloid: murrayanine. Journal of Luminescence. 2009;129(2):158-63.
24. Chakraborty DP, Barman B, Bose P. On the constitution of murrayanine,

a carbazole derivative isolated from Murraya Koengii Spreng. Tetrahedron. 1965;21:681.
25. Mahapatra DK, Shivhare R, Das M. EDEMA REDUCING PROSPECTIVE OF MURRAYANINE BASED CHALCONE COMPOUND AS EMERGING NSAID AGENT. Innoriginal: International Journal Of Sciences. 2019:1-3.
26. Shivhare RS, Mahapatra DK, Nair RR, Deshmukh SN. Schiff's base derivatives of murrayanine demonstrated enhanced anti-oxidant activity than its parent moiety. Indian J Pharm Edu Res. 2016;50(4):9-15.
27. Nalli Y, Khajuria V, Gupta S, Arora P, Riyaz-Ul-Hassan S, Ahmed Z, et al. Four new carbazole alkaloids from Murraya koenigii that display anti inflammatory and anti-microbial activities. Organic & Biomolecular Chemistry. 2016;14(12):3322-32.
28. Chakraborty B, Chakraborty S, Saha C. Antibacterial Activity of Murrayaquinone A and 6-Methoxy-3,7-dimethyl-2,3-dihydro-1H-

carbazole-1,4(9H)-dione. International Journal of Microbiology. 2014;2014:540208.
29. Arulselvan P, Subramanian SP. Beneficial effects of Murraya koenigii leaves on antioxidant defense system and ultra structural changes of pancreatic β-cells in experimental diabetes in rats. Chemico-Biological Interactions. 2007;165(2):155-64.
30. Chakraborty D, Bhattacharyya P, Roy S, Bhattacharyya S, Biswas A. Structure and synthesis of mukonine, a new carbazole alkaloid from Murraya koenigii [stem bark, drug plant]. Phytochemistry. 1978.
31. Ito C, Toyama Y, Omura ts, Kajiura I, Furukawa H. Alkaloidal Constituents of Murraya koenigii. Isolation and Structural Elucidation of Novel Binary Carbazolequinones and Carbazole Alkaloids. CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN. 1993;41(12):2096-100.
32. Bakar NHA, Sukari MA, Rahmani M, Sharif AM, Khalid K, Yusuf UK. Chemical constituents from stem barks and roots of Murraya koenigii (Rutaceae). Malaysian J Anal Sci. 2007;11(1):173-6.
33. Sasidharan I, Menon AN. Effects of temperature and solvent on antioxidant properties of curry leaf (Murraya koenigii L.). Journal of Food Science and Technology. 2011;48(3):366-70.
34. Chakrabarty M, Nath AC, Khasnobis S, Chakrabarty M, Konda Y, Harigaya Y, et al. Carbazole alkaloids from Murraya koenigii. Phytochemistry. 1997;46(4):751-5.
35. Murrayanine CID=96942 [Internet]. PubChem Database. 2019. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Murrayanine#section=Information-Sources
36. Benavides A, Peralta J, Delgado F, Tamariz J. Total synthesis of the natural carbazoles murrayanine and murrayafoline A, based on the regioselective Diels-Alder addition of exo-2-oxazolidinone dienes. Synthesis. 2004;2004(15):2499-504.

37. Bernal P, Tamariz J. Total Synthesis of Murrayanine Involving 4,5-Dimethyleneoxazolidin-2-ones and a Palladium(0)-Catalyzed Diaryl Insertion. Helvetica Chimica Acta. 2007;90(8):1449-54.
38. Wang Y-S, He H-P, Shen Y-M, Hong X, Hao X-J. Two New Carbazole Alkaloids from Murraya koenigii. Journal of Natural Products. 2003;66(3):416-8.
39. Bhosale SM, Momin AA, Kusurkar RS. New and efficient routes for the synthesis of murrayaquinone A and murrayanine. Tetrahedron. 2012;68(32):6420-6.
40. Schmidt AW, Reddy KR, Knölker H-J. Occurrence, Biogenesis, and Synthesis of Biologically Active Carbazole Alkaloids. Chemical Reviews. 2012;112(6):3193-328.
41. Bhatthula Bkg, Kanchani Jr, Arava Vr, Subha MCS. Total synthesis of carbazole alkaloids. Tetrahedron. 2019;75(7):874-87.
42. Zhang J, Gao Y, Ma C, Wang Y. Murrayanine Induces Cell Cycle Arrest, Oxidative Stress, and Inhibition of Phosphorylated p38 Expression in A549 Lung Adenocarcinoma Cells. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. 2019;25:2002.

43. Orozco-Ugarriza M, Olivo-Martínez Y, Pedroza-Bedoya J. Posters Modelamiento in silico de la interacción entre Murrayanina (3-formil-1-metoxicarbazol) frente a la enzima Fosfolipasa A2. Segundo Congreso de Bioquímica y Biología Molecular; Medellin-Colombia2016.
44. Gupta S, Khajuria V, wani A, Nalli Y, Bhagat A, Ali A, et al. Murrayanine Attenuates Lipopolysaccharide-induced Inflammation and Protects Mice from Sepsis-associated Organ Failure. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. 2019;124(4):351-9.
45. Mahapatra DK, Chhajed SS, Shivhare RS. Development of Murrayanine-Chalcone hybrids: An effort to combine two privilege scaffolds for enhancing hypoglycemic activity. Int J Pharm Chem Anal. 2017;4(2):30-4.
46. Satyanarayana M, Tiwari P, Tripathi BK, Srivastava A, Pratap R. Synthesis and antihyperglycemic activity of chalcone based aryloxypropanolamines. Bioorganic & medicinal chemistry. 2004;12(5):883-9.
47. Mahapatra DK, Shivhare RS, Bhat AR. Piperazine containing Murrayanine-Chalcones as Emerging Anti-microbial Agents. Journal of Advanced Research in Pharmaceutical Sciences & Pharmacology Interventions. 2018;2(2):12-5.
48. Marrassini C, Gorzalczany SB, Ferraro GE. Actividad analgésica de dos especies de Urtica con usos etnomédicos en la República Argentina. 2010.
49. Ríos JL, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. Journal of Ethnopharmacology. 2005;100(1):80-4.
50. Hager MD, Bode S, Weber C, Schubert US. Shape memory polymers:

Past, present and future developments. Progress in Polymer Science. 2015;49-50:3-33.
51. HASTON E, RICHARDSON JE, STEVENS PF, CHASE MW, HARRIS DJ. The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. Botanical Journal of the Linnean Society. 2009;161(2):128-31.
52. Jiménez N, Carrillo-Hormaza L, Pujol A, Álzate F, Osorio E, Lara Guzman O. Antioxidant capacity and phenolic content of commonly used anti-inflammatory medicinal plants in Colombia. Industrial Crops and Products. 2015;70:272-9.
53. Garavito G, Rincón J, Arteaga L, Hata Y, Bourdy G, Gimenez A, et al. Antimalarial activity of some Colombian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology. 2006;107(3):460-2.

5. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN 1

5.1. ACTIVIDAD *IN SILICO* DE LA MURRAYANINA COMO UN POTENCIAL FÁRMACO ANTIMICROBIANO CON MÚLTIPLES DIANAS MOLECULARES

Jose Pedroza-Bedoya[1], Saray Vergara Muñoz[1], Carlos Moneriz[1*]

[1]Grupo de Investigación Bioquímica y Enfermedad, Facultad de Medicina,

Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia.

*Email: cmonerizp@unicartagena.edu.co

Resumen

Las enfermedades infecciosas siguen siendo una de las causas más comunes de morbilidad y mortalidad en el mundo. Enfermedades como Malaria, Dengue, Zika, Chikungunya y COVID-19, son originadas por vectores y ocurren cuando el agente etiológico que las produce sea virus o parásito infectan al vector, el cual posteriormente infectara al ser humano. El control de vectores representa la principal herramienta para combatir muchas de las enfermedades infecciosas que afectan al mundo, sin embargo, a muchas de ellas aún no se les ha conseguido tratamiento que permita principalmente su manejo terapéutico y posterior cura. Por lo tanto, los compuestos derivados de plantas, pueden producir menos reacciones adversas que los sintéticos; se absorben con mayor facilidad, sumado a esto son

más económicos, lo que supone un mayor acceso especialmente a las poblaciones más vulnerables. En este estudio, se realizó una evaluación *in silico* de la actividad antimalárica y antiviral del compuesto Murrayanina, utilizando herramientas de simulación computacional que posibilitaron el análisis de sus propiedades farmacocinéticas-farmacodinámicas con el servidor *Molinspiration Online Property Calculation Toolkit*. La toxicidad *in silico* fue determinada mediante el software en línea *ProTox*, que permitió la categorización toxicológica de la Murrayanina, y finalmente, el acoplamiento molecular se realizó utilizando el servidor web *Mcule*, lo cual permitió dilucidar la afinidad que existe entre el compuesto Murrayanina y las proteínas pertenecientes a los microorganismos en estudio. Estos análisis mostraron resultados positivos, que apoyan fuertemente la capacidad del compuesto Murrayanina para actuar como fármaco con múltiples dianas farmacológicas.

Palabras claves: Malaria, Dengue, Zika, Chikungunya, COVID-19, *in silico*, Murrayanina, acoplamiento molecular.

Abstract

Infectious diseases remain one of the most common causes of morbidity and mortality in the world. Diseases such as Malaria, Dengue, Zika, Chikungunya and COVID-19, are caused by vectors and occur when the etiological agent that produces them is a virus or a parasite that infects the vector, which will later infect humans. Vector control represents the main instrument to combat many of the infectious diseases that affect the world, however, many of them have still not been able to obtain treatment that mainly allows their therapeutic management and

subsequent cure. Therefore, plant-derived compounds can produce fewer adverse reactions than synthetic ones; positions that are more easily absorbed, added to this they are cheaper, which supposes a greater access especially to the most vulnerable populations. In this study, an i*n-silico* evaluation of the antimalarial and antiviral activity of the compound Murrayanina was carried out, using computational simulation tools that enabled the analysis of its pharmacokinetic-pharmacodynamic properties with the *Molinspiration Online Property Calculation Toolkit* server. *In silico* toxicity was determined using the online *ProTox software*, which allowed the toxicological categorization of Murrayanine, and finally, the molecular docking was performed using the *Mcule* web server, which allowed us to elucidate the affinity that exists between the Murrayanine compound and the enzymes belonging to the

microorganisms under study. These analyzes showed positive results, which strongly support the ability of the compound Murrayanina to act as a drug.

Keywords: Malaria, Dengue, Zika, Chikungunya, COVID-19, *in silico*, Murrayanina, Molecular docking.

5.1.1. Introducción

Las enfermedades infecciosas, pueden ser originadas por vectores y ocurren cuando el agente etiológico que las produce sea virus o parásito infectan al vector, el cual posteriormente infectara al ser humano. Las enfermedades infecciosas siguen siendo una de las causas más comunes de morbilidad y mortalidad en el

mundo, teniendo mayor impacto en los países tropicales, en donde habita cerca del 40% de la población humana, en estas áreas no se conoce con exactitud la carga de estas enfermedades; asimismo, hay dificultades en su diagnóstico y en el acceso a los medicamentos para su tratamiento, lo cual conlleva a que causen millones de muertes al año (1). Enfermedades como Malaria, Dengue, Chikungunya y Zika son transmitidas por especies de insectos hematófagos que ingieren los microorganismos patógenos alojados en la sangre de un portador infectado y los transmiten a un huésped sensible mediante mecanismos de transmisión activa y pasiva, la transmisión activa sucede mediante la picadura de un artrópodo infectado en el cual ya se ha dado el ciclo de vida del agente etiológico. La transmisión puede ocurrir en espacios físicos delimitados que tienen ciertas características geográficas y ecológicas, y en los cuales se articulan e interactúan diversos factores sociales que la favorecen. Los vectores de estas enfermedades son: los mosquitos del

género *Anopheles*, transmisores de la malaria o paludismo y el mosquito *Aedes aegypti*, transmisor del dengue, el chikungunya y el Zika (2, 3). En el caso del COVID-19, de acuerdo con el reconocimiento del origen zoonótico del virus y a su estrecha similitud con los coronavirus de murciélago, es probable que estos sean el reservorio primario del virus, el cual posteriormente transmite el virus hacia el pangolín, quien mediante mecanismos no especificados logra infectar finalmente al humano (4, 5).

El control de vectores representa el principal instrumento para combatir muchas de las enfermedades infecciosas que acechan al mundo. La correcta aplicación de

métodos eficaces contra mosquitos, moscas, garrapatas, chinches y otros vectores transmisores de patógenos ha contribuido a salvar muchas vidas y a proteger la salud de millones de personas. Aproximadamente, más del 80% de la población mundial corre el riesgo de contraer al menos una enfermedad de transmisión vectorial (y más del 50% de contraer dos o más). Muchas de esas afecciones, se hayan concentradas en las comunidades más pobres de las regiones tropicales y subtropicales, causando un número inaceptable de muertos y enfermos, además de entorpecer el crecimiento económico en estas regiones (6).

Según la OMS, alrededor del 80% de la población mundial depende de medicinas a base de plantas para sus necesidades básicas de salud. Los compuestos derivados de plantas pueden producir menos reacciones adversas que los

sintéticos; debido a que se absorben con mayor facilidad, sumado a esto son más económicos, lo que supone un mayor acceso especialmente a las poblaciones más vulnerables (7-9). Las preparaciones e infusiones derivadas de extractos naturales y sus compuestos fitoquímicos derivados, son fundamentales en la medicina tradicional, principalmente en áreas rurales, donde frecuentemente es el tipo de tratamiento de primera elección y mayor acceso (10). De 1881 nuevas sustancias activas aprobadas como fármacos para afecciones médicas por agencias reguladoras durante los últimos 38 años, 346 (18.2%) eran de origen natural (11). Este tipo de compuestos tienen ciertas ventajas sobre los obtenidos de forma sintética, además de ser más económicos, no hay reporte de resistencia sobre estas moléculas o sobre el extracto biológico derivado de la planta, probablemente

debido a la acción sinérgica de los compuestos constituyentes (12)

Las plantas son impresionantes fábricas químicas, y la quimiotaxonomía ha proporcionado algunas evaluaciones amplias, aunque sustancialmente incompletas, con respecto a la distribución de varias clases estructurales de metabolitos secundarios, como flavonoides, cumarinas y alcaloides (13). Los alcaloides son uno de los grupos más importantes de productos naturales, ya que proporcionan muchos medicamentos para uso humano. Aunque pueden ser muy tóxicos para el huésped, las plantas que contienen alcaloides y sus alcaloides biosintetizados tienen un potencial notable para proporcionar agentes farmacéuticos y biológicos que contribuyan al desarrollo de futuros fármacos (14).

En el caso del género *Murraya* comprende alrededor de 35 especies de plantas con flores, son originarias del sudeste asiático, aunque se puede plantear que tienen una distribución casi cosmopolita; se encuentran fundamentalmente en regiones tropicales y templadas. Entre las especies de este género se pueden citar: *Murraya euchrestifolia*, *M. paniculata*, *M. alternans*, *M. siamensis y M. koenigii* (L.), esta última posee en su extracto biológico el compuesto Murrayanina (3-formil

metoxicarbazol), el cual es un alcaloide de tipo carbazolico, que ha demostrado tener propiedades biológicas de tipo antioxidante, antimalárica y antilarvicida (15-17).

5.1.2 Enfermedades infecciosas prevalentes en Colombia

A pesar de los considerables esfuerzos de control, estas enfermedades se encuentran entre las más prevalentes en todo el mundo con una gran carga social y económica. Los que están en mayor riesgo son las poblaciones que son pobres o que están fuera del alcance de una atención médica adecuada. Aunque estas enfermedades se asocian comúnmente con la pobreza, también son una causa de dificultades y un obstáculo importante para el desarrollo económico. En la mayoría de los países endémicos, la política oficial del Ministerio de Salud es proporcionar tratamiento gratuito a todos los pacientes, pero esto a menudo es inviable porque los medicamentos requeridos tienen un suministro limitado, especialmente en las zonas rurales. Las enfermedades infecciosas afectan a más de mil millones de personas (una sexta parte de la población mundial), y en muchas ocasiones son muy poco prioritarias en los programas nacionales de salud. Por lo tanto, las personas afectadas son vulnerables a las violaciones de sus derechos humanos

básicos, como el acceso a la atención médica y los medicamentos esenciales (18, 19).

5.1.2.1. Malaria

La malaria sigue siendo un problema prioritario de salud pública a nivel mundial con altas tasas de mortalidad, aumentando los informes de malaria en muchos países y en áreas que se consideran libres de la enfermedad. Teniendo a la migración humana como uno de los factores que contribuyen al resurgimiento de la malaria, lo cual está afectando a más de 91 países, calificados como zonas

endémicas, especialmente regiones ubicadas en el cinturón tropical y subtropical como África, el sudeste asiático y Latinoamérica. Según el último reporte emitido por la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2018 se estima que fueron 228 millones los casos de malaria en todo el mundo, en comparación con los 219 millones de casos presentados en el 2017; siendo los niños menores de 5 años el grupo más vulnerable afectado; en 2018, representaron el 67% (272 000) de todas las muertes por malaria en el mundo entero (20-24). La malaria es endémica en 21 países de Latinoamérica; la mayor carga de la enfermedad se concentra en la región del Amazonas y sus zonas fronterizas con Brasil, Colombia, Perú y Venezuela; en las Américas el 30% de la población se encuentra en riesgo, y de esta el mayor número de casos anuales los registra Brasil y Colombia con un reporte del 68% de los todos los casos en la región (7, 20, 23, 24). De acuerdo con el último informe emitido en el mes de junio de 2020 por la Organización Panamericana de la Salud,

entre enero y mayo del 2020, la situación de la malaria en las Américas se caracterizó por presentar una reducción en el número de casos confirmados debido a que en este periodo se presentaron un total de 104.005 casos confirmados, en comparación con el mismo periodo del año 2019, la reducción es equivalente al 58%, es decir 144.186 casos menos con respecto al mismo periodo, esto se encuentra determinado principalmente por la disminución de los casos registrados en países como Brasil, Colombia, Guyana, Perú, Ecuador, Guatemala y México. Brasil y Colombia por su parte, reportaron reducción general, pero con incremento en algunos estados y municipios (25).

En Colombia la malaria representa un problema prioritario en salud pública debido a la transmisión con tendencia creciente en determinadas regiones del país altamente endémicas, presentándose casos en estas regiones principalmente de origen rural y en donde circulan las especies del parasito de mayor importancia clínica: *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax*, causantes de malaria grave o complicada. La presentación de estos eventos se caracteriza por presentar un comportamiento cíclico epidémico cada 2 a 7 años, relacionado con la ocurrencia del fenómeno del Niño - Oscilación Sur. La trasmisión urbana es primordialmente de origen rural, lo cual se encuentra asociado con la migración de la población por situaciones económicas y los factores ambientales, como el deterioro del ecosistema, resistencia a los fármacos antimaláricos, migración poblacional (conflictos económicos, políticos, sociales). Todos estos factores se relacionan con la aparición del evento en regiones geográficas libres de la enfermedad, y con la reaparición del evento en zonas donde se consideraba controlado (26-28).

A corte de la semana epidemiológica 23, correspondiente al mes de junio de 2020, se notificaron 2.430 casos de malaria; a la fecha se tiene un acumulado de 34.743 casos de malaria, de los cuales 34.211 son de malaria no complicada y 532 de malaria complicada. Predomina la infección por *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) con 51,1 % (17.764 casos), seguido de *Plasmodium vivax* (*P. vivax*) con 48,1 % (16.718 casos casos), e infección mixta con 0,8 % (261 casos) siendo el departamento del Chocó (27,3%) el que más ha notificado casos de malaria no complicada en el país seguido por el departamento de Nariño (22,4%) (29).

5.1.2.2. Dengue (DENV)

El virus del dengue (DENV) es un *flavivirus*, este virus tiene cuatro serotipos principales (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4). La transmisión del dengue es dada a partir de la picadura de mosquitos infectados del género *Aedes*, esto es un fenómeno complejo que implica una relación interactiva entre virus, vector y huésped. Los tres elementos son sensibles al clima local, debido a que las temperaturas más cálidas aumentan la replicación del virus, influyendo en el comportamiento humano, acortando el tiempo de desarrollo del mosquito y por ende generando un aumento en la frecuencia de alimentación de sangre debido al aumento del metabolismo en el mosquito lo cual logra reducir el período de incubación extrínseca del virus del dengue dentro de los mosquitos (30, 31). La fiebre del dengue o "fiebre de fractura de hueso", se caracteriza por fiebre, dolor de cabeza, dolor retroocular y articular, erupción cutánea y linfadenopatía. En menos del 2% de los infectados por segunda vez, la enfermedad puede progresar a fiebre

hemorrágica caracterizada por trombocitopenia y fuga vascular conocida síndrome de choque por dengue (32).

La enfermedad por DENV, es una enfermedad de gran relevancia para la salud pública mundial y se considera una de las enfermedades transmitidas por vectores con un impacto significativo en América Latina. Según el último reporte de casos de dengue en las Américas, correspondiente al año 2020 y emitido por la Organización Panamericana de la Salud, Colombia es el quinto país con mayor reporte de casos de dengue en Sur América, detrás de Brasil, Paraguay, Bolivia y

Argentina, respectivamente, además, presenta una tasa de incidencia de 112,4 casos por cada 100.000 habitantes en 2020. Colombia es hiperendémica, y aproximadamente el 65% de los municipios colombianos tienen condiciones ecológicas que favorecen la circulación sostenida de *Aedes aegypti* y la transmisión del DENV, lo cual se ve reflejado en el último informe emitido por el Instituto Nacional de Salud, correspondiente a la semana epidemiológica 23, en el cual se reportaron 56.923 casos, lo cual es correspondiente al número total de casos reportados en el año 2020(29, 33, 34).

5.1.2.3. Chikungunya (CHIKV)

La enfermedad por el virus Chikungunya (CHIKV), es producida por un *alfavirus* de la familia *Togaviridae* y es transmitida a los humanos a través de la picadura de mosquitos *Aedes* infectados. Fue documentado por primera vez en 1952 en la República Unida de Tanzania y su nombre es derivado del dialecto Kimakonde, lo

cual significa "lo que se dobla", esto se encuentra relacionado con la apariencia encorvada de los pacientes. La fiebre de Chikungunya se caracteriza por una artralgia severa, incapacitante y a menudo crónica que puede persistir durante años, lo que resulta en un gran impacto económico y de salud pública (35, 36).

La enfermedad por Chikungunya ha causado brotes intermitentes en África, Asia, las islas del Océano Índico y en el sur de Europa. Según la Organización Panamericana de la Salud, en la región de las Américas se reportaron 37.279 casos en el primer semestre de 2020, en el mismo periodo, la tasa de incidencia acumulada en la Región es de 3,82 casos por cada 100.000 habitantes. De acuerdo con esto, se ha logrado estimar que alrededor de 46 países y territorios

han documentado la transmisión local con 1,7 millones de casos reportados. En la actualidad, se estima que el 39% de la población mundial vive en países endémicos para CHIKV y están en riesgo de infección (33, 37, 38).

En Colombia, el pico de la epidemia se identificó entre 2014 y 2015, reportándose 19.566 casos acumulados hasta el final de 2016 y 1110 casos en la semana epidemiológica 50 en 2017. De acuerdo con el último informe emitido en el mes de junio de 2020 sobre el comportamiento de la enfermedad, se han reportado un total de 135 casos, lo cual indica un descenso en la notificación del evento correspondiente al 53,1 %, 153 casos menos, comparado con el mismo periodo de 2019(29, 39).

5.1.2.4. Zika (ZIKV)

El virus de Zika (ZIKV), es un *flavivirus* transmitido por mosquitos que se identificó por vez primera en macacos (Uganda, 1947). En marzo de 2015 Brasil notificó un gran brote de enfermedad exantematosa que rápidamente se identificó como consecuencia de la infección por el virus de Zika, y en julio del mismo año se describió en ese país su asociación al síndrome de Guillain-Barré. Pronto aparecieron brotes y pruebas de la transmisión en Las Américas, África y otras regiones del mundo. Hasta la fecha, 86 países y territorios han notificado casos de infección por el virus de Zika transmitida por mosquitos *Aedes aegypti*. Existen otras formas de transmisión, una de ellas es de la madre hacia el feto durante el embarazo, y también por contacto sexual, transfusiones de sangre y productos

sanguíneos, y trasplantes de órganos. Actualmente no hay tratamiento para la infección por el virus de Zika ni para las enfermedades a las que se asocia (40, 41).

Ante la expansión de la transmisión del virus de Zika en la Región de las Américas, la OPS/OMS recomienda a sus estados miembros que establezcan y mantengan la capacidad de detectar y confirmar casos de infección por este virus preparando sus servicios de salud ante un posible aumento de la carga en todos los niveles de la atención sanitaria y pongan en práctica una estrategia eficaz de comunicación pública para reducir la presencia de los mosquitos transmisores, en especial en las zonas en las que está presente su vector(42). La Organización Panamericana de la Salud, entre la semana epidemiológica 1 y 21 de 2020, logró notificar un total de 7.452 casos de Zika en la Región de las Américas, incluyendo un fallecido en Brasil. La más alta proporción de casos en la Región se notificaron en países como Brasil

con 6.387 casos (86%), Bolivia con 537 casos (8.4%) y Guatemala con 133 casos (2%). Desde la primera detección en Brasil en marzo de 2015, se ha confirmado transmisión local en todos los países y territorios de las Américas, excepto por Chile continental, Uruguay y Canadá. En 2016, se notificaron un total de 651.590 casos y se ha observado una reducción significativa de la transmisión de la enfermedad en los siguientes años (33).

En el periodo correspondiente de 2015 a 2017, en Colombia se lograron identificar un total de 18.234 casos por defectos congénitos asociados a Zika, de los cuales la

mayoría (91,9%) eran malformaciones congénitas (43). De acuerdo al último reporte emitido por el Instituto Nacional de Salud, correspondiente a la semana 23 del año 2020 se han notificado 117 casos de enfermedad por virus Zika, 114 hasta la semana 22 y 3 en la semana 23, siendo 84 casos (71,8 %) confirmados por clínica y 33 (28,2%) sospechosos. Existe un descenso de la notificación del 39,1 %, 75 casos menos, comparado con el mismo periodo de 2019. El 72,6 % (85) de los casos procede de Cali (21) y le sigue Tolima con el 16,2% (19) de los casos. La incidencia a nivel nacional es de 0,4 casos por cada 100 000 habitantes en riesgo. Las incidencias más altas las registran Boyacá con 4,3, Cundinamarca con 3,5, Caquetá con 2,6, Tolima con 2,0 y Putumayo con 1,2 casos por cada 100 000 habitantes en riesgo. Se debe mencionar que el comportamiento de la notificación del evento en 2020 se encuentra por debajo del promedio histórico de 2017, 2018 y 2019(29).

5.1.2.5. COVID-19

El coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), anteriormente conocido como el nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV), es un agente zoonótico emergente que apareció en diciembre de 2019 y causa la enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19) (44). Este patógeno produce un síndrome que conduce en algunos casos a una condición respiratoria de cuidados críticos, que requiere un manejo especializado en unidades de cuidados intensivos (UCI) en muchos de ellos.

El SARS-CoV-2, taxonómicamente, es actualmente parte de la especie de los

coronavirus relacionados con el SARS que pertenecen al subgénero *Sarbecovirus* que junto con los subgéneros *Embecovirus , Hibecovirus , Merbecovirus y Nobecovirus* forman parte del género *Betacoronavirus (45). Otros Betacoronavirus* antes han causado epidemias en las últimas dos décadas en Asia, como es el caso del SARS-CoV en 2002-2003 en China supuso un replanteamiento de la capacidad patogénica de estos virus y de su papel en las infecciones humana, y 10 años más tarde surgió el Síndrome Respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV) en 2012-2013 en Arabia Saudita (46).

Una persona puede contraer la COVID-19 por contacto con otra que esté infectada por el virus, la enfermedad puede propagarse de persona a persona a través de las

gotículas que salen despedidas de la nariz o la boca de una persona infectada al toser, estornudar o hablar (4).

El primer caso de COVID-19 para América Latina y el Caribe, se notificó el 26 de febrero del 2020 en Brasil, desde entonces, se ha propagado a los 54 países y territorios de la Región de las Américas (47). Después de eso, el 6 de marzo de 2020, se diagnosticó el primer caso en Colombia y unos 100 días después del primer caso se han logrado identificar un total de 53.063 casos, los cuales han sido confirmados por RT-PCR, por acción del Instituto Nacional de Salud (www.ins.gov.co) y la red nacional de laboratorios colaboradores (48, 49).

5.1.3. La Murrayanina, molécula con múltiples acciones biológicas El compuesto Murrayanina, fue el primer alcaloide carbazolico biológicamente activo aislado de la planta *Murraya koenigii (50)* y se encuentra presente en el extracto biológico de la corteza de su raíz (51). Desde el descubrimiento de Murrayanina, así como el de sus características estructurales y actividades farmacológicas prometedoras, este compuesto y sus derivados han tomado gran importancia a nivel biológico y farmacológico, por ende, esto ha suscitado a la realización de múltiples estudios e investigaciones que han permitido el descubrimiento de actividades biológicas asociadas al compuesto Murrayanina de tipo anticancerígena, antioxidante, antinflamatoria e hipoglicemiante (17, 52-55).

Por tanto, mediante la realización de análisis *in silico*, a partir de la implementación de herramientas y técnicas de simulación computacional que posibilitaran el análisis de las propiedades farmacocinéticas-farmacodinámicas (PK/PD) del compuesto Murrayanina, la toxicidad *in silico* será predicha con el fin de lograr la categorización toxicológica de Murrayanina, y finalmente, mediante el docking molecular, se busca evaluar en este estudio la capacidad de interacción entre el compuesto Murrayanina (ligando) y las enzimas (receptores) de los microorganismos, lo cual posibilitara identificar el grado de afinidad entre el ligando y los receptores.

5.1.4. Materiales y Métodos

5.1.4.1. Identificación de principios activos

La estructura del ligando Murrayanina (3-formil-1-metoxicarbazol) descrita por primera vez por Chakraborty *et al.*(50, 56), se obtuvo a partir de la base de datos NCBI PubChem en formato SMILES y MDL Mol(57).

5.1.4.2. Evaluación de las Reglas de Lipinski

Las propiedades farmacocinéticas-farmacodinámicas (PK/PD) del ligando fueron analizadas, de acuerdo con el modelo teórico de los descriptores fisicoquímicos (filtros) de Lipinski (RO5), correspondiente a la cantidad de aceptor de enlaces de hidrógeno (nOHNH), la cantidad de donantes de enlace de hidrógeno (nOH), coeficiente lipofílico de partición octanol-agua (cLogP) y el peso molecular (MW) de los fármacos. La regla de Lipinski fue fusionada con los parámetros propuestos por

Veber, adicionando el número de enlaces rotacionales (nRot) y el área superficial polar (SAP). La evaluación se realizó empleando el servidor *Molinspiration Online Property Calculation Toolkit* (http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties)(58, 59).

5.1.4.3. Predicciones de las propiedades farmacocinéticas - (ADME/Tox) La predicción *in silico* de las propiedades farmacocinéticas del compuesto en relación a su absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADME/Tox) a través del cuerpo humano, principalmente la absorción por vía oral, se realizó con el servidor *AdmetSAR tool-Admet structure-activity relationship*

(http://lmmd.ecust.edu.cn:8000/)(60).

Además, mediante *Molinspiration* se pudo predecir el tipo de receptor al cual potencialmente se unirá la molécula (receptor nuclear, canal iónico, enzimático, receptor acoplado a proteína G, receptor asociado a tirosín cinasa) y *admetSAR* complementariamente calculó diversos atributos del compuesto, Absorción en Barrera Hematoencefálica (BBB), Absorción Intestinal Humana(HIA), Coeficiente permeabilidad en células de carcinoma de Colon(P-Caco-2), solubilidad acuosa(LogS), sustrato e inhibidor de glicoproteína P(gp-P), sustrato e inhibidor Citocromo P450 (CYP450), Promiscuidad Inhibitoria de Citocromo P(CYP IP), Transportador de Cationes Orgánicos a nivel renal (ROCT), Inhibición y Toxicidad de genes relacionados con éter humano (HERG), además de la evaluación de genotoxicidad y citotoxicidad (58, 60).

La toxicidad oral del compuesto Murrayanina se predijo con el software online *ProTox* (http://tox.charite.de/tox/index.php?site=home), en valores de dosis letal (DL50) y se categorizó de acuerdo con el sistema armonizado a nivel mundial de clasificación de etiquetado de productos químicos (GHS), en seis clases (rangos de clases I a VI). Se identificaron compuestos similares a Murrayanina basados en la búsqueda de farmacóforos que tenían LD50 conocida (61, 62).

5.1.4.4. Acoplamiento molecular

El estudio de la interacción entre Murrayanina con las proteínas de los virus (Zika, Chikungunya, Dengue, COVID-19) y el parasito (*Plasmodium falciparum*), se

evaluó por medio de Docking molecular, la cual es una de las técnicas de modelado molecular más utilizadas para estudiar la interacción entre ligando y receptor, tanto la estructura del ligando (Murrayanina) como la del receptor (proteínas de los virus y parasito). El docking molecular permite obtener múltiples opciones para el desarrollo de nuevos fármacos que inhiban proteínas relacionadas con él metabolismo de estos microorganismos, y que por tanto tengan nuevas indicaciones terapéuticas para el tratamiento de las enfermedades que estos ocasionan. Esta evaluación se realizó utilizando el servidor online *Mcule©* (63). Los resultados se analizaron con base a la compatibilidad de unión, es decir, la energía en kcal/mol. Se utilizaron parámetros por defecto con la generación de más 100 poses de complejos, basado en el protocolo de acoplamiento flexible-rígido. Las poses de acoplamiento se clasificaron de acuerdo a sus puntajes de docking (como la energía

libre de acoplamiento o afinidad). El complejo de energía de unión más bajo fue seleccionado y visualizado con el software *Chimera v.1.11* (64).

5.1.5. Resultados

5.1.5.1. Predicción de las Reglas de Lipinski

Las propiedades farmacocinéticas-farmacodinamicas (PK/PD) del ligando fueron evaluadas de acuerdo con el modelo teórico de los descriptores fisicoquímicos (filtros) de Lipinski (RO5) utilizando *Molinspiration Online Property Calculation Toolkit.* Los resultados obtenidos fueron los siguientes, coeficiente lipofílico de

partición octanol-agua (cLogP): 3.14; Coeficiente de Refractividad Molecular (CMR): 67.6; Peso Molecular (MW): 225.25; área topológica de la superficie polar (TPSA): 42.10; Número de enlaces rotacionales (nRot): 2; Número de donantes de enlace H (nOH): 1; Número de aceptores de enlaces H (nOHNH): 3; Geometría molecular (3D) del ligando (Volumen): 201.54; Número de faltas a la regla de Lipinski (nfaltasRO5):0 (Ver tabla 1).

Tabla 1. Predicción *in silico* de Propiedades farmacocinéticas y parámetros fisicoquímicos según las reglas de Lipinski calculadas para Murrayanina

Compuesto	cLogP (≤ 5)	CMR (40-130)	MW (≤ 500 KDa)	TPSA ≤140	nRot ≤10	nOH (≤ 5)	nOHNH (≤ 10)	Vol.	nfaltasRO5
Murrayanina*	3.14	67.6	225.25	42.10	2	1	3	201.54	0

*3-formil-1-metoxicarbazol: $C_{14}H_{11}NO_2$

Abreviaturas: cLogP= coeficiente lipofílico de partición octanol-agua; CMR: Coeficiente de Refractividad Molecular MW: Peso Molecular; TPSA: área topológica de la superficie polar; Número de enlaces rotacionales (nRot):2; nOH: número de donantes de enlace H; nOHNH: número de aceptores de enlaces H; Vol.: Geometría molecular (3D) del ligando; nfaltasRO5: Número de faltas a la regla de Lipinski.

5.1.5.2. Predicción de las propiedades farmacocinéticas - (ADME/Tox) La predicción de las propiedades ADME/tox adicionales a la RO5 se realizó con el servidor *AdmetSAR tool-Admet structure-activity relationship*, se consideraron diferentes parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos, asociadas a la absorción de los compuestos activos para diferentes tipos de modelos tales como la penetración en barrera hematoencefálica (BBB), la absorción intestinal humana (HIA) y la permeabilidad en células de carcinoma de Colon (P-Caco2), los cuales mostraron resultados positivos, que apoyan fuertemente la capacidad del compuesto 3-formil-1-metoxicarbazol para actuar como fármaco; por otro lado, se evidencio que el compuesto no es sustrato ni inhibidor relevante de la glicoproteína P(gpP) y el transportador de catión orgánico renal (ROCT) (Ver tabla 2).

En términos de metabolismo, se encontró que el compuesto Murrayanina no presentó comportamiento como sustrato ni como inhibidor de las isoenzimas del complejo CYP450, tales como CYP2C9, CYP2D6 y CYP2C19, las cuales son de gran importancia a nivel orgánico, debido a que participan en la mayoría de las reacciones del metabolismo de xenobióticos, fármacos y esteroides en el organismo y constituyen gran parte del total de enzimas p450 a nivel hepático. Sin embargo, en las isoenzimas CYP3A4 y CYP1A2, las cuales también participan en el metabolismo de los xenobióticos en el organismo, el compuesto Murrayanina se comportó como inhibidor con valores de p>0.5 (Ver Tabla 3), por lo tanto la predicción de la propiedad de promiscuidad inhibitoria CYP450, en la cual se refiere a la capacidad de un fármaco o químico para unirse y disminuir la actividad de

diferentes enzimas isoformas de CYP450, arrojó para este compuesto una alta capacidad de unión con un p>0.5.

Tabla 2. Predicción *in silico* del perfil de absorción y solubilidad calculadas para Murrayanina

Compuesto LogS Pcaco-2 BBB AIH gp-P ROCT (-)Sustrato

Murrayanina* -3.8105 1.4317 (+)0.9745 (+)1.0000 (-)Inhibidor (-) Inhibidor

*3-formil-1-metoxicarbazol: $C_{14}H_{11}NO_2$

Abreviaturas: LogS=Solubilidad Acuosa; Caco-2: Coeficiente permeabilidad en células de carcinoma de Colon (LogPapp, cm/s); BBB: Absorción Barrera Hematoencefálica; AIH: Absorción gastrointestinal humana; gp-P: glicoproteína-P; RCOT: transportador de cationes orgánicos a nivel renal.

Tabla *3*: Predicción del efecto inductor o inhibidor de Murrayanina sobre las enzimas del citocromo P450 implicadas en el metabolismo de fármacos

Mecanismo de acción Resultado Probabilidad

Metabolismo Enzimático

CYP450 2C9 Inhibidor Sustrato

CYP450 2D6 Inhibidor Sustrato

		p=0.5329 p=0.7225
CYP450 3A4 Inhibidor	No No	
Sustrato		p=0.9230 p=0.6003
No No	Si	
	No	p=0.5082 p=0.5457

CYP450 1A2 Inhibidor Si p=0.9595 **CYP450 2C19** Inhibidor No p=0.7333

CYP Inhibitory Promiscuity	High CYP Inhibitory Promiscuity	Si p=0.7747

CYP= Citocromo P450. El valor de p indica la probabilidad de comportarse o no como sustrato o inhibidor comparado con una colección de compuestos en las bases de datos

5.1.5.3. Evaluación del potencial de toxicidad

El compuesto 3-formil-1-metoxicarbazol de acuerdo al análisis *in silico* con el software online *ProTox* fue categorizado como toxico tipo III en roedores, hasta una dosis letal de 1,25 gr/Kg de peso corporal con el servidor *AdmetSAR tool-Admet*

structure-activity relationship. Los resultados computacionales de genotoxicidad y citotoxicidad con la misma herramienta, arrojaron datos positivos para el test de AMES y negativo para el potencial carcinogénico (Ver tabla 4).

Tabla 4. Predicciones del efecto genotóxico, carcinogénico y la toxicidad oral aguda calculadas para Murrayanina

Compuesto Test	AMES Efecto Carcinogénico	DL50 mg/Kg Toxicidad Oral Aguda
Murrayanina*	Positivo	Negativo 1250 Cat. III

DL50: Indicador de toxicidad aguda de una dosis de $C_{14}H_{11}NO_2$ letal para la mitad de un conjunto de animales de prueba.

5.1.5.4. Análisis del acoplamiento molecular

El análisis del acoplamiento molecular entre el ligando Murrayanina (3-formil-1-

metoxicarbazol) y las enzimas(receptores) pertenecientes a Dengue, COVID-19 y *Plasmodium falciparum,* permitió observar que existe afinidad entre el compuesto Murrayanina sobre determinados enzimas pertenecientes a los microrganismos anteriormente mencionados, mientras que para Zika y Chikungunya, no se encontró afinidad entre el ligando y enzimas compatibles que hicieran posible la evaluación del acoplamiento mediante docking molecular frente al ligando Murrayanina, por tanto, no se representan. Estas evaluaciones se realizaron utilizando el servidor online *Mcule*. Se seleccionó el mejor score de POSE teniendo en cuenta aquella que reporto la menor energía de unión libre obtenida de las evaluaciones para cada una de las interacciones entre las enzimas de los microorganismos y el compuesto Murrayanina (Ver Tablas 5,6 y 7) (Ver Figuras 1 y 2).

Tabla 5. Score de POSE de la interacción entre las enzimas del SARS-CoV-2 frente a Murrayanina

Enzimas	Funciones	Score de POSE
Replicasa Poliproteina 1a	Transcripción y Replicación de ARN viral	-6,9 -5,6
Replicasa Poliproteina 1ab	Transcripción y Replicación de ARN viral	

*Pose: candidato al modo de enlace que indica la energía de unión necesaria para el acoplamiento entre un ligando y un receptor

Tabla 6. Score de POSE de la interacción entre las enzimas del virus de Dengue frente a Murrayanina

Enzimas	Funciones	Score de POSE*
ARN Polimerasa dirigida por ARN NS5	Replicación del genoma de ARN Metilación de la tapa del ARN viral en las posiciones guanina N-7 y ribosa 2'-O	Inhibición de la fosforilación del huésped TYK2 y STAT2, -7,3

NS3
Serina proteasa NS3 Promueve el autoclivaje y escisión de la poliproteína en sitios dibásicos en el citoplasma
Poliproteína Cofactor requerido para la función de serina proteasa de NS3 -7,1 -6,0 -5,8
Poliproteína DEN Cofactor requerido para la función de serina proteasa de

*Pose: candidato al modo de enlace que indica la energía de unión necesaria para el acoplamiento entre un ligando y un receptor.

Tabla 7. Score de POSE de la interacción entre las enzimas *Plasmodium falciparum* frente a Murrayanina

Enzimas Funciones Score de POSE
Timidilato quinasa Síntesis de nucleótidos difosfato -9,1
Hipoxantina-guanina-xantina fosforribosiltransferasa **de control de división celular** Importante en el control del ciclo celular eucariota
Generación de nucleótidos de purina a través de la vía de recuperación de purina -9,1 -8,9
Homólogo de proteína 2

Dihidroorotato deshidrogenasa Cataliza la conversión de dihidroorotato a orotato con quinona como aceptor de electrones de tipo oxidación reducción -8,9 -8,8
Ferredoxina NADP reductasa Actividad
Serina / treonina quinasa-1 PfLammer Fosforilación de proteínas Regulación de la diferenciación celular -8,5

Purina nucleósido fosforilasa Metabolismo de nucleósidos -8,5 **Enoyl ACP Reductasa** Unión de nucleótidos -8,3
*Pose: candidato al modo de enlace que indica la energía de unión necesaria para el acoplamiento entre un ligando y un receptor

Los acoplamientos originados a partir de los Docking moleculares resultantes de las interacciones entre las enzimas pertenecientes a SARS-CoV-2, Dengue (DENV) y *Plasmodium falciparum* frente al compuesto Murrayanina se pueden observar en las Figuras 1, 2 y 3, respectivamente.

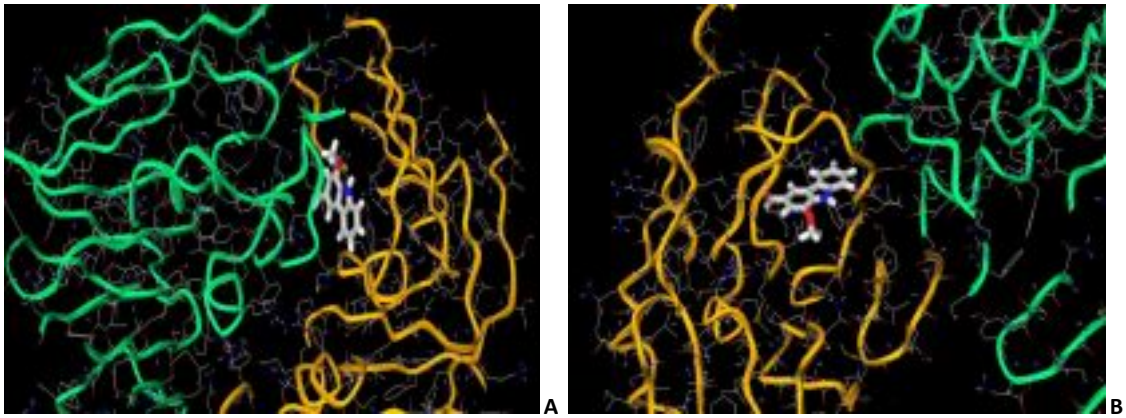


Figura 1. Modelo de barra de las enzimas y sus residuos interactuando al momento de la unión entre Murrayanina (Ligando) y las enzimas (Receptor) de SARS-CoV-2. **A. Replicasa Poliproteina 1a; B: Replicasa Poliproteina 1ab**. Tomado de *Mcule.org.*

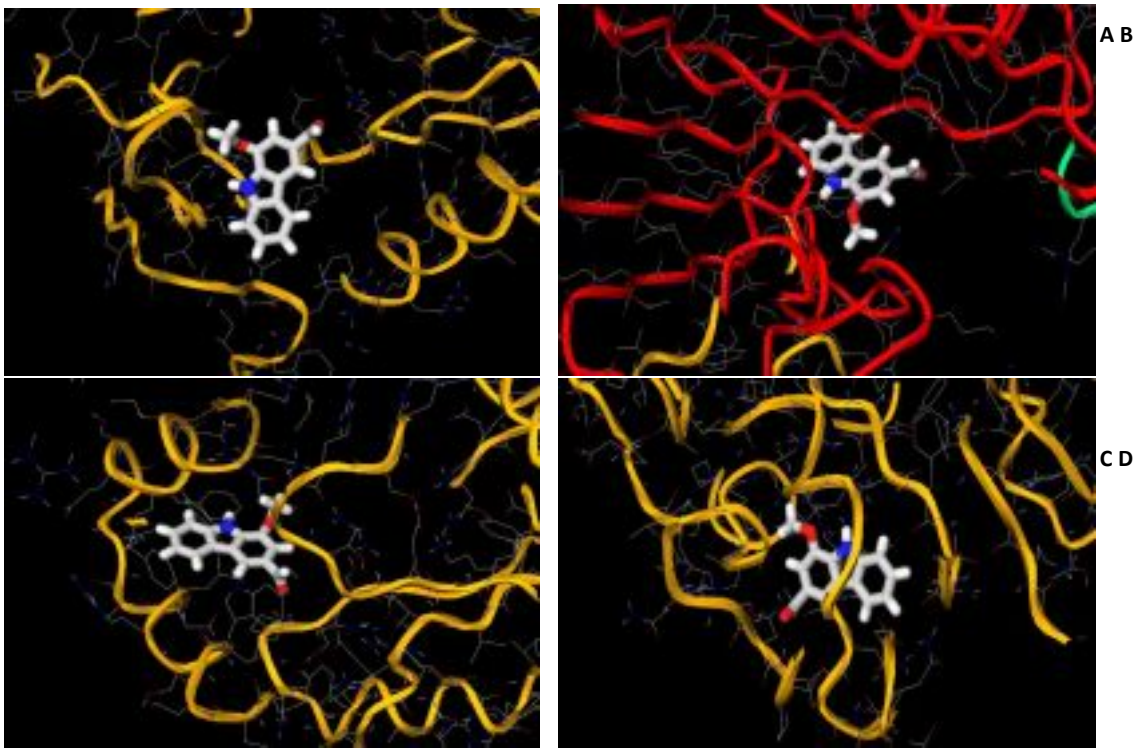
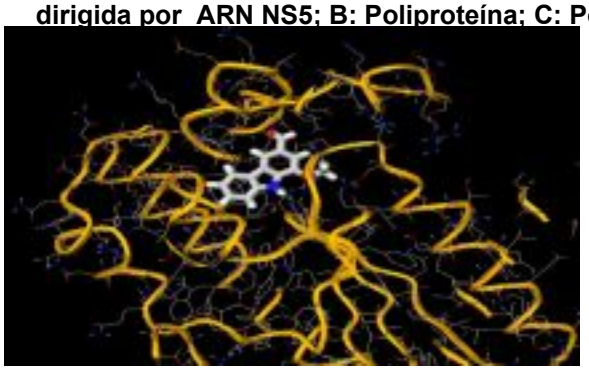
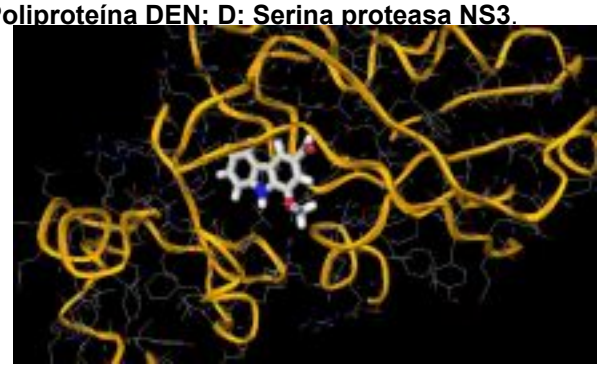


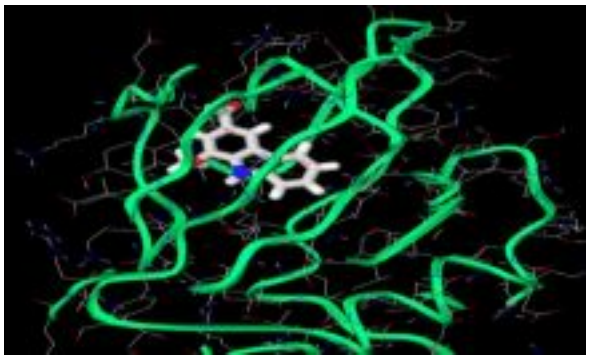
Figura 2. Modelo de barra de las enzimas y sus residuos interactuando al momento de la unión

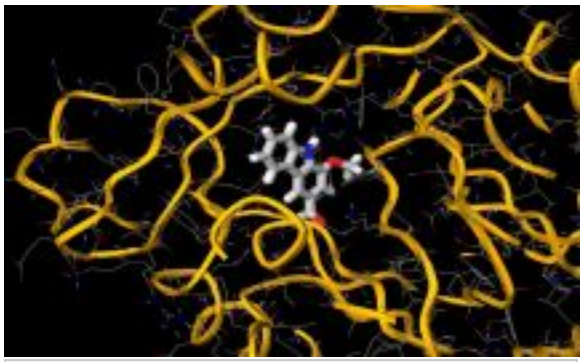
entre Murrayanina (Ligando) y las enzimas (Receptor) del virus Dengue**. A: ARN Polimerasa dirigida por ARN NS5; B: Poliproteína; C: Poliproteína DEN; D: Serina proteasa NS3**.



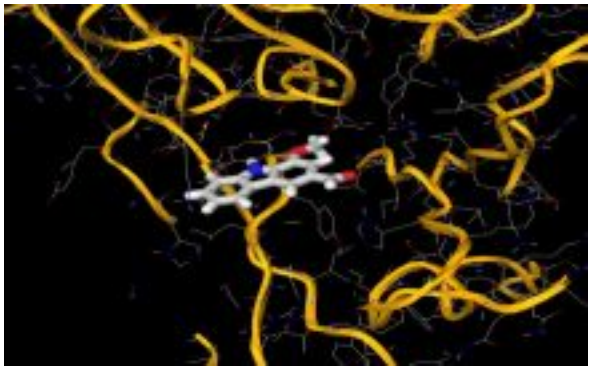


A B





C D



E F

G H

Figura 3. Modelo de barra de las enzimas y sus residuos interactuando al momento de la unión entre Murrayanina (Ligando) y las enzimas (Receptor) de *Plasmodium falciparum*. **A: Timidilato quinasa; B: Hipoxantina-guanina-xantina fosforribosiltransferasa; C: Control de división celular homólogo de proteína2; D: Dihidroorotato deshidrogenasa; E: Ferredoxina NADP reductasa; F: Serina / treonina quinasa-1 PfLammer; G: Purina nucleósido fosforilasa; H: Enoyl ACP Reductasa**. Tomado de *Mcule.org.*

5.1.6. Discusión

La composición química del aceite esencial de la planta *Murraya* sp., esta químicamente constituido principalmente por componentes de tipo alcaloides carbazolicos, los cuales se denominan indicadores quimiotaxonómicos de las plantas pertenecientes a la familia *Rutaceae,* entre esos tenemos a Murrayanina, la cual es utilizada en esta investigación con el fin de evaluar la capacidad que esta posee para ejercer una actividad inhibitoria sobre el sitio catalítico de las enzimas pertenecientes a *P.falciparum*, DENV y SARS-CoV-2(50).

De acuerdo con *O'Brien et al*. *2005*, la estimación de energía libre de unión es un parámetro primario que se genera como resultado del acoplamiento molecular, brindando una aproximación de la fuerza y afinidad de la interacción entre el ligando y el receptor (65). La determinación de la afinidad entre el ligando y el

receptor, se encuentra directamente relacionado con el gasto de energía dado en este tipo de interacción, lo cual se encuentra muy relacionado con lo planteado por parte de *Sivaramakrishnan et al. 2016*, quien demostró que la energía del enlace necesaria para que se pueda dar el acoplamiento entre un determinado ligando y su posible receptor, es inversamente proporcional a la interacción, es decir a menor gasto energético más fuerte será la interacción y acoplamiento entre el ligando y el receptor, por tanto la mejor afinidad entre las moléculas evaluadas será aquella que reporte la menor energía libre de unión entre todas las poses obtenidas (66).

En los análisis de acoplamiento molecular realizados por parte de *Parimelzanghan et al. 2014*, se logró evidenciar que los compuestos de catequinas presentes en el extracto de la planta de *Camellia sinensis* presenta actividades antibacterianas

significativas, la realización de estos ensayos *in silico* permitieron identificar que la evaluación del docking depende del número de puentes de hidrógenos formado entre el ligando y el receptor (67). Por lo tanto, en los análisis computacionales realizados, se seleccionaron las mejores POSE de acuerdo a las interacciones y afinidad presentada por parte de los agentes infecciosos (*P. falciparum*, DENV y SARS-CoV-2) frente al ligando Murrayanina, los cuales mostraron unos valores promisorios de energía libre de unión (ver Tablas 5,6 y 7), indicando que el compuesto tiene alta afinidad para unirse con las enzimas de interés.

El rendimiento de un fármaco candidato depende de sus características farmacocinéticas y farmacodinámicas, es decir que sea absorbido en el tiempo

requerido y distribuida en todo el sistema para su metabolismo y acción (60). No obstante, la toxicidad es otro factor importante que influye en el comportamiento del ADME, provocando el fracaso de fármacos en la fase de ensayo clínico debido a los efectos adversos generados por su toxicidad, lo que resulta costoso y perjudicial en el proceso de desarrollo de nuevos fármacos (61). La predicción *in silico* de ADME/TOX presenta una serie de oportunidades que ayuda a acelerar el descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas y en última instancia conduce al descubrimiento de compuestos con actividad biológica predicha (60).

De acuerdo con la regla de cinco (Ro5) de *Lipinski,* un compuesto o producto natural para cumplir con alguna determinada función farmacológica o actividad

biológica debe cumplir con tres de los cuatro parámetros de la regla de los cinco (Ro5), tales como peso molecular (MW ≤ 500 KDa), el número de donantes de enlace H (nOH ≤ 5) y el número de aceptores de enlaces H (nOHNH ≤ 10), los cuales permiten el correcto encaje entre los sitios de unión de ligando sobre el receptor. De acuerdo con lo anteriormente mencionado, el compuesto *3-formil-1-metoxicarbazol* cumple con las reglas de Lipinski (Ver tabla 1), debido a que no presentó ninguna violación con respecto al coeficiente de partición octanol-agua (LogP ≤ 5), peso molecular (MW ≤ 500 KDa), número de donantes de enlace H (nOH ≤ 5), número de aceptores de enlaces H (nOHNH ≤ 10) y refractividad molecular, por lo tanto, el compuesto Murrayanina, es un compuesto promisorio para presentar función farmacológica o actividad biológica de tipo antimicrobiana(68). Las propiedades fisicoquímicas evaluadas en las reglas de

Lipinski, influyen sobre el ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción) de un candidato a fármaco, por ejemplo, el peso molecular bajo aumenta la velocidad de absorción, y, por tanto, se intenta mantener la mayor parte de los fármacos al menor peso

molecular posible; Un coeficiente de hidrofilicidad bajo, se relaciona con una pobre absorción y permeabilidad, mientras que a mayor solubilidad aumentaría la absorción.

De acuerdo con *Espiña et al. 2011*, para el desarrollo de moléculas bioactivas como agentes terapéuticos, la biodisponibilidad oral es a menudo una consideración importante. La predicción de la absorción humana usando el ensayo de penetración basado en P-Caco-2 se realiza rutinariamente durante el desarrollo del fármaco. Sin

embargo, un potencial fármaco tiene que atravesar la BBB, tener optima absorción intestinal humana y entrada con eficiencia en Caco-2. (69). La Murrayanina, cumple con los criterios pertenecientes al perfil de absorción y solubilidad presentados en la tabla 2, tales como P-Caco-2, BBB y AIH, lo cual demuestra que el compuesto tiene la capacidad de ser transportado y metabolizado en el epitelio gastrointestinal y atravesar barrera Hematoencefálica.

Según *Quiñones et al. 2008*, las enzimas citocromo P450 son las principales responsables del metabolismo de la mayoría de los fármacos, ya que son las encargadas de catalizar reacciones de fase I de biotransformación de xenobióticos,

esto se puede relacionar con los resultados obtenidos y presentes en la tabla 3, la cual demuestra las características del compuesto Murrayanina, para comportarse o no como sustrato o inhibidor de las enzimas Citocromo P450, por lo tanto, Murrayanina tiene el potencial de ejercer modulación sobre estas enzimas(70).

Los estudios de toxicidad oral aguda y crónica son importantes para determinar la seguridad de fármacos y productos naturales para uso en humanos. En esta investigación, se encontró que el compuesto 3-formil-1-metoxicarbazol no era letal hasta una dosis de 1,25 gr/Kg de peso corporal. Por tanto, el valor de la LD50 (Ver tabla 4), se fijó en 1250 mg/Kg de peso corporal para el compuesto de interés. Estos hallazgos son similares a los resultados obtenidos por Menezes *et al.2015* (71), en los ensayos de toxicidad aguda para el extracto de las hojas de *Murraya paniculata,*

donde no se observaron muertes en Ratas Wistar hembras durante el periodo de estudio en las dosis ensayadas de 100 mg/Kg y 200 mg/Kg (DL50 2000 mg/Kg).

El comportamiento del compuesto evaluado en la prueba de toxicidad de AMES, empleada para saber si un compuesto es mutagénico o no, resultó positivo, lo que significa que el ligando es potencialmente mutagénico, por tanto, requiere ser confirmado mediante ensayos de genotoxicidad y establecer la dosis adecuada. En cuanto a la actividad carcinogénica los resultados demostraron que ligando no presenta este efecto a nivel celular. *Choudhury et al. 2013* (72), evaluó el efecto

genotóxico y citotóxico del extracto acuoso de la planta *Murraya koenigii*, en las células meristemáticas de los bulbos de *Allium cepa* L. (Cebolla) a diferentes concentraciones (2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml), demostrando que puede disminuir la velocidad de progresión celular durante la mitosis. No obstante, estos hallazgos no confirman ni descartan la potencial genotoxicidad del compuesto 3-formil-1- metoxicarbazol, debido a que trabajar con extractos crudos, implica ensayar simultáneamente con mezclas complejas de compuestos biológicamente activos, algunos de estos compuestos tienen múltiples propiedades biológicas, pudiendo ser citotóxicos y/o genotóxicos, otros citoprotectores y/o antigenotóxicos. Por otra parte, Hashim *et al. 2017* (73), evaluó la actividad citotóxica y genotóxica en alcaloides carbazolicos sintetizados por *Murraya koenigii*, denominados *Mahanimbine* y *Girinimbine*, evidenciando que ambos compuestos pueden ser potencialmente citotóxicos, pero no genotóxicos en líneas celulares de epitelio corneal humano, sin

embargo, no se describe al compuesto Murrayanina, lo que indica que este compuesto no tendría potencial citotóxico ni genotóxico.

De acuerdo con los análisis de docking molecular y teniendo en cuenta los resultados obtenidos a partir de este, se logró identificar que el compuesto Murrayanina, tiene afinidad para acoplarse al sitio de unión e interactuar con las enzimas anteriormente descritas. Con respecto a las enzimas pertenecientes a SARS-CoV-2, *Mousavizadeh et al*. 2020 (74), reportaron que las poliproteínas 1a y 1ab, son de vital importancia , debido a que se encargan de traducir dos ORF

(ORF 1a y ORF 1b), las poliproteínas 1a y 1ab posteriormente sufren una proteolísis por enzimas proteasas como quimiotripsina codificada viralmente (3CLpro), proteasa principal (Mpro) y una o dos proteasas similares a la papaína, lo que da lugar a la producción de 16 proteínas no estructurales (nsps) designadas nsp1 a nsp16, las cuales se encuentran implicadas en la replicación del genoma viral y en la transcripción de RNAm subgenómicos (sgRNAs) del SARS-CoV-2. Entre las enzimas pertenecientes a Dengue, podemos mencionar lo identificado por parte de *Raviprakash et al. 1998 (75)*, afirmando que la ARN Polimerasa dirigida por ARN NS5, ha demostrado que puede generar ARN de doble hebra mediante la síntesis de ARN de sentido negativo y el ARN molde de sentido positivo en el virus. Según *Costa et al. 2011 (76)*, la serina proteasa NS3, es una proteína multifuncional, involucrada en el procesamiento de poliproteínas, la protección de ARN y la replicación de ARN. Por último, en cuanto a las enzimas estudiadas pertenecientes a *P. falciparum,* podemos mencionar lo demostrado por parte de *Hazleton et al.*

2012 (77), quien planteo que la hipoxantina-guanina-xantina fosforibosiltransferasa (HGXPRT) de *P. falciparum* es necesaria para la recuperación de hipoxantina formando inosina 5'-monofosfato, un punto de ramificación para toda la síntesis de nucleótidos de purina en el parásito y que el agotamiento de la hipoxantina provoca muerte a *P.falciparum* en cultivos celulares y en infecciones por mono Aotus. Es importante mencionar que *Ducati et al*. 2018 (78), mediante el análisis realizado sobre la enzima nucleósido fosforilasa, concluyó que el uso de inhibidores análogos del estado de transición para bloquear los pasos esenciales en el rescate de purinas se ha propuesto como un nuevo enfoque antipalúdico, por lo

tanto, de acuerdo con los resultados obtenidos a partir del docking molecular entre el compuesto y las enzimas pertenecientes a los microrganismos anteriormente señalados, se puede afirmar que es válido y promisorio el estudio de estas enzimas involucradas en el metabolismo y síntesis del material genético de los microrganismos descritos.

5.1.7. Conclusiones

De acuerdo con los métodos y resultados anteriormente descritos es evidente que el compuesto *Murraya*nina (3-formil-1-metoxicarbazol), posee potencialmente la capacidad de intervenir principalmente de forma inhibitoria sobre las enzimas pertenecientes a los microorganismos evaluados (*P. falciparum*, DENV, COVID-19), basado en los estudios de modelamiento molecular y los resultados obtenidos a partir de estas evaluaciones. Es necesario realizar estudios complementarios de inhibición *in vitro e in vivo* para confirmar esta hipótesis.

Referencias

1. Heesterbeek H, Anderson RM, Andreasen V, Bansal S, De Angelis D, Dye C, et al. Modeling infectious disease dynamics in the complex landscape of global health. Science. 2015;347(6227):aaa4339.
2. Padilla JC, Lizarazo FE, Murillo OL, Mendigaña FA, Pachón E, Vera MJ. Transmission scenarios of major vector-borne diseases in Colombia, 1990-2016. Biomedica. 2017;37:27-40.
3. Zientara ST, Verwoerd DW, Pastoret P-P. Introduction: New developments in major vector-borne diseases. Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties. 2015;34(1):17-27.
4. Cascella M, Rajnik M, Cuomo A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19). Statpearls [internet]: StatPearls Publishing; 2020.
5. Palacios Cruz M, Santos E, Velázquez Cervantes MA, León Juárez M. COVID-19, una emergencia de salud pública mundial. Revista Clínica Española. 2020.

6. ORGANIZATION WH. GLOBAL VECTOR CONTROL RESPONSE 2017- 2030. France World Health Organization 2017.
7. Chinsembu KC. Plants as antimalarial agents in Sub-Saharan Africa. Acta Tropica. 2015;152:32-48.
8. Rocha e Silva LF, Nogueira KL, Pinto ACdS, Katzin AM, Sussmann RAC, Muniz MP, et al. In Vivo Antimalarial Activity and Mechanisms of Action of 4-Nerolidylcatechol Derivatives. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2015;59(6):3271-80.
9. Guo Z. Artemisinin anti-malarial drugs in China. Acta Pharmaceutica Sinica B. 2016;6(2):115-24.
10. Muthu C, Ayyanar M, Raja N, Ignacimuthu S. Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. 2006;2(1):43.
11. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. Journal of Natural Products. 2020;83(3):770-803.
12. Organization WH. General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. World Health Organization, 2000. 13. Cordell GA. Phytochemistry and traditional medicine – A revolution in process. Phytochemistry Letters. 2011;4(4):391-8.
14. Cordell GA, Quinn-Beattie ML, Farnsworth NR. The potential of alkaloids in drug discovery. Phytotherapy Research. 2001;15(3):183-205.
15. Krishnamoorthy S, Chandrasekaran M, Raj GA, Jayaraman M, Venkatesalu V. Identification of chemical constituents and larvicidal activity of essential oil from Murraya exotica L. (Rutaceae) against Aedes aegypti, Anopheles stephensi and Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae). Parasitology Research. 2015;114(5):1839-45.
16. Abdillah S, Tambunan RM, Farida Y, Sandhiutami NMD, Dewi RM. Phytochemical screening and antimalarial activity of some plants traditionally

used in Indonesia. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2015;5(6):454-7.
17. Zhang J, Gao Y, Ma C, Wang Y. Murrayanine Induces Cell Cycle Arrest, Oxidative Stress, and Inhibition of Phosphorylated p38 Expression in A549 Lung Adenocarcinoma Cells. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. 2019;25:2002.
18. Osorio EJ, Robledo SM, Bastida J. Chapter 2 Alkaloids with Antiprotozoal Activity. In: Cordell GA, editor. The Alkaloids: Chemistry and Biology. 66: Academic Press; 2008. p. 113-90.
19. Organization WH. Neglected tropical diseases. Frequently asked questions. 2010.
20. Organization WH. Global Technical Strategy against Malaria 2016–2030. 2015.
21. Mace KE, Arguin PM, Tan KR. Malaria surveillance—United States, 2015. MMWR Surveillance Summaries. 2018;67(7):1.
22. Salud INdl. Protocolo de Vigilancia en Salud Publica Malaria. 2017. 23. Yanow SK, Gavina K, Gnidehou S, Maestre A. Impact of Malaria in Pregnancy as Latin America Approaches Elimination. Trends in Parasitology. 2016;32(5):416-27.

24. Organization WH. World malaria report 2018. 2018 November 19 2018. Report No.: 9241565721.
25. Salud OPdl. Actualización Epidemiológica: Malaria en las Américas en el contexto de la pandemia de COVID-19. 2020 Junio de 2020. Report No. 26.
Rodríguez JCP, Uribe GÁ, Araújo RM, Narváez PC, Valencia SH. Epidemiology and control of malaria in Colombia. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2011;106:114-22.
27. Galinski MR, Meyer EVS, Barnwell JW. Chapter One - Plasmodium vivax: Modern Strategies to Study a Persistent Parasite's Life Cycle. In: Hay SI, Price R, Baird JK, editors. Advances in Parasitology. 81: Academic Press; 2013. p. 1-26.
28. Poveda G, Rojas W, Quiñones ML, Vélez ID, Mantilla RI, Ruiz D, et al. Coupling between annual and ENSO timescales in the malaria-climate association in Colombia. Environmental health perspectives. 2001;109(5):489-93.
29. Salud INdl. BOLETÍN EPIDEMIOLOGICO SEMANAL, COLOMBIA, SEMANA EPIDEMIOLÓGICA 23, 2020. 2020.
30. Simmons CP, Farrar JJ, van Vinh Chau N, Wills B. Dengue. New England Journal of Medicine. 2012;366(15):1423-32.
31. Akter R, Hu W, Gatton M, Bambrick H, Naish S, Tong S. Different responses of dengue to weather variability across climate zones in Queensland, Australia. Environmental Research. 2020;184:109222.
32. Pare G, Neupane B, Eskandarian S, Harris E, Halstead S, Gresh L, et al. Genetic risk for dengue hemorrhagic fever and dengue fever in multiple ancestries. EBioMedicine. 2020;51:102584.
33. Salud OPdl. Actualización Epidemiológica Dengue y otras Arbovirosis. 2020 10 de junio de 2020. Report No.

34. Velandia-Romero ML, Coronel-Ruiz C, Castro-Bonilla L, Camacho-Ortega S, Calderón-Peláez MA, Castellanos A, et al. Prevalence of dengue antibodies in healthy children and adults in different Colombian endemic areas. International Journal of Infectious Diseases. 2020;91:9-16.
35. Sitepu FY, Suprayogi A, Pramono D, Harapan H, Mudatsir M. Epidemiological investigation of chikungunya outbreak, West Kalimantan, Indonesia. Clinical Epidemiology and Global Health. 2020;8(1):113-6.
36. Thiberville S-D, Moyen N, Dupuis-Maguiraga L, Nougairede A, Gould EA, Roques P, et al. Chikungunya fever: Epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. Antiviral Research. 2013;99(3):345-70.
37. Amaral JK, Bilsborrow JB, Schoen RT. Chronic Chikungunya Arthritis and Rheumatoid Arthritis: What They Have in Common. The American Journal of Medicine. 2020;133(3):e91-e7.
38. Organization PAHO-WH. Geographic Spread of Chikungunya in the America December 2013-December 2017. 2018:1.
39. Abella J, Rojas Á, Rojas C, Rondón F, Medina Y, Peña M, et al. Clinical and immunological features of post-chikungunya virus chronic arthritis and its effect on functional ability and quality of life in a cohort of Colombian patients. Revista Colombiana de Reumatología (English Edition).

2019;26(4):253-9.
40. Valerio Sallent L, Roure Díez S, Fernández Rivas G. Zika virus infection or the future of infectious diseases. Medicina Clínica (English Edition). 2016;147(7):300-5.
41. Organization WH. Zika virus disease. 2016.
42. Organization WH. Zika virus status report. 2017:5.
43. Mendivelso Duarte FO, Robayo García A, Rodríguez Bedoya M, Suárez Rángel G. [Reporting of birth defects from the Zika outbreak in Colombia, 2015-2017Notificação de defeitos congênitos associados ao surto de vírus zika na Colômbia, 2015-2017]. Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health [Internet]. 2019 2019; 43:[e38 p.]. Available from: http://europepmc.org/abstract/MED/31093262
44. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. New England Journal of Medicine. 2020.
45. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. Travel Medicine and Infectious Disease. 2020;34:101623.
46. Meo S, Alhowikan A, Al-Khlaiwi T, Meo I, Halepoto D, Iqbal M, et al. Novel coronavirus 2019-nCoV: prevalence, biological and clinical characteristics comparison with SARS-CoV and MERS-CoV. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2020;24(4):2012-9.
47. Salud OPdl. Actualización Epidemiológica Enfermedad por Coronavirus (COVID-19) 2020 22 de mayo de 2020. Report No.
48. Díaz-Guio DA, Villamil-Gómez WE, Dajud L, Pérez-Díaz CE, Bonilla-Aldana DK, Mondragon-Cardona A, et al. Will Colombian intensive care units collapse due to the COVID-19 pandemic? Travel Medicine and Infectious Disease. 2020.

49. Organization PAH. Cumulative confirmed and probableCOVID-19 cases reported by countries and territories in the Americas,as of 16 June 2020. 2020 16 June 2020. Report No.
50. Chakraborty D. On the constitution of murrayanine, a carbazole derivative isolated from Murraya Koengii Spreng. Tetrahedron. 1965;21:681. 51. Chakrabarty M, Nath AC, Khasnobis S, Chakrabarty M, Konda Y, Harigaya Y, et al. Carbazole alkaloids from Murraya koenigii. Phytochemistry. 1997;46(4):751-5.
52. Orozco-Ugarriza M, Olivo Martínez Y, Pedroza Bedoya J. Modelamiento in silico de la interacción entre Murrayanina (3-formil-1-metoxicarbazol) frente a la enzima Fosfolipasa A2. Segundo Congreso Colombiano de Bioquímica y Biología Molecular; Medellin-Colombia 2016.
53. Gupta S, Khajuria V, Wani A, Nalli Y, Bhagat A, Ali A, et al. Murrayanine Attenuates Lipopolysaccharide-induced Inflammation and Protects Mice from Sepsis-associated Organ Failure. Basic & clinical pharmacology & toxicology. 2019;124(4):351-9.
54. Mahapatra DK, Chhajed SS, Shivhare RS. Development of Murrayanine Chalcone hybrids: An effort to combine two privilege scaffolds for enhancing hypoglycemic activity. Int J Pharm Chem Anal. 2017;4(2):30-4.

55. Shivhare RS, Mahapatra DK, Nair RR, Deshmukh SN. Schiff's base derivatives of murrayanine demonstrated enhanced anti-oxidant activity than its parent moiety. Indian J Pharm Edu Res. 2016;50(4):9-15.
56. Chakraborty DP, Chowdhury BK. Synthesis of murrayanine. The Journal of Organic Chemistry. 1968;33(3):1265-8.
57. Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, et al. PubChem substance and compound databases. Nucleic acids research. 2016;44(D1):D1202-D13.
58. Cheminformatics M. Bratislava, Slovak Republic. 2014.
59. Cheminformatics M. Web-enabled software for large-scale calculation of molecular properties and database searches, Free online molecular descriptor calculations (Last accessed on 22.11. 12). 2012.
60. Cheng F, Li W, Zhou Y, Shen J, Wu Z, Liu G, et al. admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. ACS Publications; 2012.
61. Drwal MN, Banerjee P, Dunkel M, Wettig MR, Preissner R. ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. Nucleic acids research. 2014;42(W1):W53-W8.
62. Schmidt U, Struck S, Gruening B, Hossbach J, Jaeger IS, Parol R, et al. SuperToxic: a comprehensive database of toxic compounds. Nucleic acids research. 2009;37(suppl_1):D295-D9.
63. Kiss R, Sandor M, Szalai FA. http://Mcule. com: a public web service for drug discovery. Journal of cheminformatics. 2012;4(S1):P17.
64. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. Journal of computational chemistry. 2004;25(13):1605-12.

65. O'Brien SE, Brown DG, Mills JE, Phillips C, Morris G. Computational tools for the analysis and visualization of multiple protein–ligand complexes. Journal of Molecular Graphics and Modelling. 2005;24(3):186-94.
66. Sivaramakrishnan V, Ilamathi M, Ghosh K, Sathish S, Gowda T, Vishwanath B, et al. Virtual analysis of structurally diverse synthetic analogs as inhibitors of snake venom secretory phospholipase A2. Journal of Molecular Recognition. 2016;29(1):22-32.
67. Parimelzanghan A, Lavanya P, Anbarasu A, Ramaiah S. Molecular docking study of catechins compounds from Camellia sinensis against UPPS in Staphylococcus aureus. International Journal for Computational Biology (IJCB). 2014;3(2):03-9.
68. Lipinski CA. Rule of five in 2015 and beyond: Target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions. Advanced Drug Delivery Reviews. 2016;101:34-41.
69. Espiña B, Otero P, Louzao MC, Alfonso A, Botana LM. 13-Desmethyl spirolide-c and 13,19-didesmethyl spirolide-c trans-epithelial permeabilities: Human intestinal permeability modelling. Toxicology. 2011;287(1):69-75.
70. Quiñones S L, Rosero P M, Roco A Á, Moreno T I, Sasso A J, Varela F N, et al. Papel de las enzimas citocromo p450 en el metabolismo de fármacos

antineoplásicos: Situación actual y perspectivas terapéuticas. Revista médica de Chile. 2008;136:1327-35.
71. Menezes IR, Santana TI, Varela VJ, Saraiva RA, Matias EF, Boligon AA, et al. Chemical composition and evaluation of acute toxicological, antimicrobial and modulatory resistance of the extract of Murraya paniculata. Pharmaceutical biology. 2015;53(2):185-91.
72. Choudhury S. CYTOTOXICITY ASSESSMENT OF MURRAYA KONEIGII AQUEOS EXTRACTS ON ALLIUM CEPA L. ROOT TIP CELLS. The Ecoscan. 2013:39-43.
73. Hashim F, Amin NM, editors. Insights into the prominent effect of mahanimbine on Acanthamoeba castellanii: Cell profiling analysis based on microscopy techniques. AIP Conference Proceedings; 2017: AIP Publishing LLC.
74. Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2020.
75. Raviprakash K, Sinha M, Hayes CG, Porter KR. Conversion of dengue virus replicative form RNA (RF) to replicative intermediate (RI) by nonstructural proteins NS-5 and NS-3. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1998;58(1):90-5.
76. Costa SM, Yorio AP, Gonçalves AJS, Vidale MM, Costa ECB, Mohana Borges R, et al. Induction of a protective response in mice by the dengue virus NS3 protein using DNA vaccines. PloS one. 2011;6(10):e25685-e.
77. Hazleton KZ, Ho Mc Fau - Cassera MB, Cassera Mb Fau - Clinch K, Clinch K Fau - Crump DR, Crump Dr Fau - Rosario I, Jr., Rosario I Jr Fau - Merino EF, et al. Acyclic immucillin phosphonates: second-generation inhibitors of Plasmodium falciparum hypoxanthine-guanine-xanthine phosphoribosyltransferase. 2012(1879-1301 (Electronic)).

78. Ducati RG, Namanja-Magliano HA, Harijan RK, Fajardo JE, Fiser A, Daily JP, et al. Genetic resistance to purine nucleoside phosphorylase inhibition in Plasmodium falciparum. 2018(1091-6490 (Electronic)).

TRABAJO DE INVESTIGACION 2

5.2. ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA *IN VITRO* DE LA MURRAYANINA, UN ALCALOIDE DERIVADO DE *MURRAYA KOENIGII*

Jose Pedroza-Bedoya[1], Saray Vergara Muñoz[1], Carlos Moneriz Pretell[1*]

[1]Grupo de Investigación Bioquímica y Enfermedad, Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia.

Email: cmonerizp@unicartagena.edu.co

Resumen

La malaria sigue siendo un problema prioritario de salud pública a nivel mundial con altas tasas de mortalidad afectando a más de 91 países catalogados como zonas endémicas. A pesar, que la malaria se puede prevenir y tratar, sigue teniendo efectos devastadores en la salud y el modo de vida de las personas en todo el mundo, especialmente los territorios que se encuentran en las zonas tropicales y subtropicales; afectando en mayor manera los países de África, Asia y Latinoamérica. Adicionalmente han surgido problemas de origen biológico como la resistencia del parasito a los fármacos antimaláricos, que entorpecen los esfuerzos por controlar y erradicar la enfermedad; sumado a esto aún no se tiene acceso a una vacuna eficaz contra el parasito, por lo que es urgentemente necesario el descubrimiento de nuevos fármacos. Las plantas constituyen una opción importante en el tratamiento, principalmente en regiones endémicas de la enfermedad, siendo ésta una alternativa más económica y accesible. En este estudio, se evaluó la actividad antimalárica *in vitro* del compuesto Murrayanina, presente en el extracto de corteza de la raíz de la planta *Murraya koenigii*. Los resultados obtenidos sugieren que el compuesto Murrayanina, presenta efectos interesantes de inhibición del ciclo del *P. falciparum* y baja toxicidad a nivel eritrocitario, y podría convertirse en un compuesto valioso para desarrollar una nueva clase de fármacos dirigidos a vías del parasito no estudiadas.

Palabras claves: Malaria, Murrayanina, *in vitro*, CI50, antimalárico.

Abstract:

Malaria continues to be a priority public health problem worldwide, with high mortality rates affecting more than 91 countries classified as endemic areas. Despite the fact that malaria is preventable and treatable, it continues to have devastating effects on the health and way of life of people throughout the world, especially the territories found in tropical and subtropical zones; affecting in a greater way the countries of Africa, Asia and Latin America. Additionally, problems of biological origin have emerged, such as resistance of the parasite to antimalarial drugs, which hinder efforts to control and eradicate the disease; In addition to this, there is still no access to an effective vaccine against the parasite, so the discovery of new drugs is urgently necessary. Plants are an important treatment option, mainly in endemic regions of the disease, making it a cheaper and more accessible alternative. In this study, the antimalarial activity of the compound Murrayanine, present in the bark extract of the root of the *Murraya koenigii* plant, was evaluated; through the implementation of *in vitro* techniques that allowed the determination of the Inhibitory Concentration 50 of the compound Murrayanine, to finally evaluate the hemolytic effect of the compound on erythrocytes.

Key words: Malaria, Murrayanine, *in vitro*, IC50, antimalarial.

5.2.1. Introducción

La malaria sigue siendo un problema prioritario de salud pública a nivel mundial con altas tasas de mortalidad. Teniendo a la migración humana como uno de los factores que contribuyen al resurgimiento de la malaria, lo cual está afectando a más de 91

países, calificados como zonas endémicas, especialmente regiones ubicadas en el cinturón tropical y subtropical como África, el sudeste asiático y Latinoamérica. Según el último reporte emitido por la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2017 se estima que ocurrieron 219 millones de casos de malaria en todo el mundo, en comparación con los 217 millones de casos presentados en el 2016; siendo los niños menores de 5 años el grupo más vulnerable ya que, en 2017 representaron el 61% (266 000) de todas las muertes por malaria en todo el mundo (1-5). La malaria es endémica en 21 países de Latinoamérica; la mayor carga de la enfermedad se concentra en la región del Amazonas y sus zonas fronterizas con Brasil, Colombia, Perú y Venezuela; en las Américas el 30% de la población se encuentra en riesgo, y de esta el mayor número de casos anuales los registra Brasil y Colombia con un reporte del 68% de los todos los casos en la región (1, 4, 6).

En Colombia la malaria representa un problema prioritario en salud pública debido a la transmisión con tendencia creciente en determinadas regiones del país altamente endémicas, presentándose casos en estas regiones principalmente de origen rural y en donde circulan las especies del parasito de mayor importancia clínica: *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*), *Plasmodium vivax* (*P. vivax*), causantes de malaria grave o complicada. La presentación de estos eventos se caracteriza por presentar un comportamiento cíclico epidémico cada 2 a 7 años, relacionado con la ocurrencia del fenómeno del Niño - Oscilación Sur. La trasmisión urbana es primordialmente de origen rural, lo cual se encuentra asociado con la migración de la población por situaciones económicas y los factores ambientales, como el deterioro del ecosistema, resistencia a los

medicamentos antimaláricos,

migración poblacional (conflictos económicos, políticos, sociales). Todos estos factores se relacionan con la aparición del evento en regiones geográficas libres de la enfermedad, y con la reaparición del evento en zonas donde se consideraba controlado (7-9). A corte de la semana epidemiológica 17, correspondiente al mes de mayo de 2020, se han notificado 1720 casos de malaria; a la fecha se tiene un acumulado de 22.683 casos de malaria, de los cuales 22.278 son de malaria no complicada y 405 de malaria complicada. Predomina la infección por *P. falciparum* con 51,5 % (11.672 casos), seguido de *P. vivax* con 47,9 % (10.874 casos), e infección mixta con 0,6 % (147 casos). En comparación con el mismo periodo, en el año 2019 se notificaron 26.863 casos de malaria, por lo tanto, en el presente año hubo una disminución en el reporte de casos de malaria equivalente al 15,5%, siendo el departamento del Chocó (27,1%) el que más ha notificado casos de malaria no complicada en el país seguido por el departamento de Nariño (25,3%) (10). En los países afectados por estas dos especies, la morbilidad por *P. vivax* es más difícil de reducir debido a la etapa latente (hipnozoíto) no detectable, lo que ocasiona recaídas y ayuda a mantener la trasmisión de la enfermedad (1, 3, 11).

Actualmente, se están presentando dos problemas de origen biológico que pueden afectar negativamente todos los avances obtenidos hasta ahora en la lucha contra la malaria: la resistencia del vector hacia los insecticidas, reportada en más de 60 países al menos a una clase, en algunos casos a todas las clases de insecticidas utilizados y la acelerada resistencia o multiresistencia del parasito contra los medicamentos antimaláricos actualmente disponibles como la mefloquina,

piperaquina y artemisina o la combinación de esta última con otras drogas(12-14).

El parasito posee varios mecanismos de evasión inmune que promueven la patogénesis, como es la variación antigénica que expresa en los diferentes estadios del ciclo asexual desarrollado en el ser humano; lo que representa una limitante para la adquisición de inmunidad natural y así mismo un obstáculo para el desarrollo de vacunas completamente eficaces (14, 15). Hasta la presente no se cuenta con una vacuna registrada y eficaz que pueda ser aplicada en la población como medida de prevención, para controlar o erradicar la malaria. Por lo tanto, la quimioterapia sigue siendo la principal medida para combatir la enfermedad y debido al aumento de la farmacorresistencia se hace necesario el descubrimiento de nuevas opciones terapéuticas (16). Las plantas son una alternativa importante en el tratamiento de la enfermedad, principalmente en regiones endémicas. Varios antimaláricos conocidos, han sido derivados de plantas, como la artemisinina, piperazina, mefloquina, lumefantrina y naftoquina (1, 16, 17).

Según la OMS, alrededor del 80% de la población mundial depende de medicinas a base de plantas para sus necesidades básicas de salud. Los compuestos derivados de plantas pueden producir menos reacciones adversas que los sintéticos; puestos que se absorben con mayor facilidad, sumado a esto son más económicos, lo que supone un mayor acceso especialmente a las poblaciones más vulnerables (1, 18-20). Las preparaciones e infusiones derivadas de extractos naturales y sus compuestos fitoquímicos derivados, son fundamentales en la medicina tradicional, principalmente en áreas rurales, donde frecuentemente es el tipo de tratamiento de primera elección y mayor acceso (21). Este tipo de

compuestos tienen ciertas ventajas sobre los obtenidos de forma sintética, además de ser más económicos, no hay reporte de resistencia al extracto completo de la planta, probablemente debido a la acción sinérgica de los compuestos constituyentes. El aislamiento y la administración de un agente activo único facilitan en gran medida la evolución de la resistencia en parásitos y mosquitos.

Estudios etnobotánicos realizados en diversos países han ayudado a identificar una variedad de plantas usadas en la medicina tradicional contra los síntomas asociados a la malaria. La región amazónica posee una gran diversidad botánica, las investigaciones sobre la actividad antimalárica de las especies de plantas de esta la región, en países como Brasil, Colombia, Bolivia entre otros; han demostrado el potencial de las prácticas medicinales tradicionales locales como fuentes de potentes extractos, siendo esto parte de la estrategia para el descubrimiento de nuevas sustancias antimaláricas (1, 16, 22, 23).

El género *Murraya* comprende alrededor de 35 especies de plantas con flores, son originarias del sudeste asiático, aunque se puede plantear que tienen una distribución casi cosmopolita; se encuentran fundamentalmente en regiones tropicales y templadas. Entre las especies de este género se pueden citar: *Murraya euchrestifolia*, *M. paniculata*, *M. alternans*, *M. siamensis y M. koenigii* (L.). *Murraya koenigii* posee en el extracto biológico de la corteza de su raíz el compuesto Murrayanina, el cual fue el primer alcaloide de tipo carbazolico biológicamente activo aislado de la planta(24, 25), se caracteriza químicamente por ser soluble en

benceno, cloroformo, etanol, metanol, etc., pero insoluble en éter de petróleo; Murrayanina es considerado un blanco sintético atractivo, ya que es el intermediario para la síntesis de otros alcaloides carbazolicos como Murrayafolina A, Koenolina, Ácido mucoético, Mukonina, 1-hidroxi-3-metilcarbazol, *O*-desmetilmurrayanina, Clausina y 3-formilcarbazol(24, 26, 27), este compuesto cuenta con numerosas funciones beneficiosas para el ser humano, lo cual ha suscitado a la realización de múltiples estudios e investigaciones con el fin de identificar y caracterizar las propiedades biológicas que posee, para así poder utilizarlas en el manejo y tratamiento de determinadas afecciones en salud, entre las propiedades biológicas que ha demostrado tener podemos mencionas las de tipo antioxidante, antimalárica, antilarvicida, anticancerígena, antinflamatoria, hipoglicemiante y antimicrobiana (28- 34).

Mediante estudios *in silico* de biología computacional, el Grupo de Investigación Bioquímica y Enfermedad de la Universidad de Cartagena, identificó la afinidad que presenta el compuesto Murrayanina para interaccionar con proteínas pertenecientes a *P. falciparum*. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación se enfocó a evaluar mediante ensayos *in vitro* la actividad antimalárica de Murrayanina, con el fin de obtener una nueva fuente que permita el desarrollo de fármacos útiles para el tratamiento esta patología.