



Fraccionamiento biodirigido del extracto de semillas de *mammea americana* a través de la actividad antimalárica *in vitro* frente a cepa fcb-2 de *Plasmodium falciparum*

Biodirected Fractionation of *Mammea Americana* Seed Extract Through *In Vitro* Antimalarial Activity Against *Plasmodium Falciparum* Strain Fcb-2

Andrés Centanaro Osorio,¹ Nicole Paola Arrieta Caldera,¹⁻² Carlos Moneriz Pretell,² Fredyc Diaz^{1*}

¹Laboratorio de Investigaciones Fitoquímicas y Farmacológicas de la Universidad de Cartagena- LIFFUC, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia. *

Fredyc@unicartagena.edu.co

²Grupo de Investigación en Bioquímica y Enfermedad-GIBYE, Universidad de Cartagena, Facultad de Medicina, Cartagena, Colombia.

Presentación Poster 58

ABSTRACT

Malaria remains a public health problem in many countries, including Colombia. In 2023, the World Health Organization (WHO) reported 263 million cases of malaria worldwide ^[1]. In Colombia, by 2024, 123,740 cases were reported, leaving the country far from the WHO's goal of zero malaria ^[2].

Mammea americana is a tree from the Calophyllaceae family, which is used in Colombian ethnobotanical medicine to treat malaria ^[3]. There is not enough scientific evidence on the antimalarial activity of this species, therefore, the objective of this research was to determine the antimalarial activity of *M. americana* and its phytochemical profile.

The antimalarial activity was determined in a dichloromethane fraction obtained from the liquid-liquid partition of the ethanolic extract of the *M. americana* seed. Its fractionation was carried out by open column chromatography using gradient elution with hexane, different proportions of hexane-ethyl acetate, ethyl acetate, acetone, and methanol, obtaining a total of 7 fractions (A-G). The antimalarial activity assay was performed at different concentrations of the fractions (0.1, 1, 10, and 100 µg/mL) in triplicate in 96-well plates. Erythrocytes infected with *Plasmodium falciparum* strain FCB-2 were cultured in RPMI 1640 medium. 100 µL of each diluted extract and 100 µL of the culture medium with erythrocytes infected with *P. falciparum* FCB-2 at the ring stage, with a parasitemia of 1% and hematocrit of 2%, were inoculated into the wells. The incubation conditions were 37 °C, 5% CO₂ atmosphere, 90% humidity for 48 hours. Chloroquine was used as a positive control and a growth control of only infected erythrocytes. For reading, Giemsa-stained smears were performed to obtain the percentages of parasitemias necessary for calculating the Average Inhibitory Concentration (IC₅₀). The



phytochemical screening consisted of the Meyer (Quinones); gelatin-NaCl (Tannins); Citroboric (Flavonoids); Lieberman-Buchard (Triterpenoids and Steroids); Bontrager (Coumarins) and Dragendorff, Wagner and Mayer (Alkaloids) reactions. The phytochemical screening was performed on the dichloromethane fraction and the active subfractions.

The dichloromethane fraction obtained an IC₅₀ of 11.03 µg/mL and the E subfraction of 11.72 µg/mL, showing dose-dependent growth inhibition with evident deterioration of the parasitic forms at higher concentrations of the extract. IC₅₀ values between 10 and 25 µg/mL were considered moderately active. In the phytochemical screening, the presence of all the evaluated metabolites in the dichloromethane fraction was calculated, while in the E subfraction, only the presence of coumarins, triterpenoids, steroids, and flavonoids was found.

The results allow us to determine that *M. americana* has moderate antimalarial activity against *P. falciparum*, which in part validates its ethnobotanical use as a treatment for malaria.

Key words:

Malaria, antimalarials, *Mammea Americana*, *Plasmodium falciparum*.

RESUMEN

La malaria sigue siendo un problema de salud pública en muchos países, incluyendo Colombia. En 2023, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó 263 millones de casos de malaria a nivel mundial ^[1]. En Colombia, para 2024, se reportaron 123.740 casos, lo que deja al país lejos de la meta de la OMS de cero malaria ^[2].

Mammea americana es un árbol de la familia Calophyllaceae, utilizado en la medicina etnobotánica colombiana para tratar la malaria ^[3]. No existe suficiente evidencia científica sobre la actividad antimalárica de esta especie, por lo que el objetivo de esta investigación fue determinar la actividad antimalárica de *M. americana* y su perfil fitoquímico.

La actividad antimalárica se determinó en una fracción de diclorometano obtenida de la partición líquido-líquido del extracto etanólico de la semilla de *M. americana*. Su fraccionamiento se realizó mediante cromatografía en columna abierta utilizando gradiente de elución con hexano, diferentes proporciones de hexano-acetato de etilo, acetato de etilo, acetona y metanol, obteniendo un total de 7 fracciones (A-G). El ensayo de actividad antimalárica se realizó a diferentes concentraciones de las fracciones (0,1, 1, 10 y 100 µg/mL) por triplicado en placas de 96 pocillos. Los eritrocitos infectados con *Plasmodium falciparum* cepa FCB-2 se cultivaron en medio RPMI 1640. 100 µL de cada extracto diluido y 100 µL del medio de cultivo con eritrocitos infectados con *P. falciparum* FCB-2 en fase de anillo, con una parasitemia del 1% y un hematocrito del 2%, se inocularon en los pocillos. Las condiciones de incubación fueron 37 °C, atmósfera con 5 % de CO₂ y 90 % de humedad durante 48 horas. Se utilizó cloroquina como control positivo y control de crecimiento de eritrocitos infectados únicamente. Para la lectura, se realizaron frotis teñidos con Giemsa para obtener los porcentajes de parasitemias necesarios para



calcular la Concentración Inhibitoria Promedio (CI50). El cribado fitoquímico consistió en las reacciones de Meyer (Quinonas); gelatina-NaCl (Taninos); citrobórico (Flavonoides); Lieberman-Buchard (Triterpenoides y Esteroides); Bontrager (Cumarinas) y Dragendorff, Wagner y Mayer (Alcaloides). El cribado fitoquímico se realizó en la fracción de diclorometano y las subfracciones activas. La fracción de diclorometano obtuvo una CI50 de 11,03 $\mu\text{g/mL}$ y la subfracción E de 11,72 $\mu\text{g/mL}$, mostrando una inhibición del crecimiento dosis-dependiente, con un evidente deterioro de las formas parasitarias a concentraciones más altas del extracto. Los valores de CI50 entre 10 y 25 $\mu\text{g/mL}$ se consideraron moderadamente activos. En el análisis fitoquímico, se calculó la presencia de todos los metabolitos evaluados en la fracción de diclorometano, mientras que en la subfracción E solo se encontró la presencia de cumarinas, triterpenoides, esteroides y flavonoides.

Los resultados permiten determinar que *M. americana* presenta una actividad antimalárica moderada contra *P. falciparum*, lo que en parte valida su uso etnobotánico como tratamiento para la malaria.

Palabras clave:

Malaria, antimaláricos, *Mammea americana*, *Plasmodium falciparum*.

Agradecimientos/Acknowledgements

Agradezco a la Universidad de Cartagena por su apoyo financiero, al grupo LIFFUC bajo la dirección del Dr. Fredyc Díaz, y a todos sus miembros, con especial mención a Nicole Arrieta Caldera.

Referencias/References

- [1] WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2023). World Malaria Report 2023. WORLD HEALTH ORGANIZATION. [URL](#)
- [2] PEDRAZA CALDERÓN, J. y BENAVIDES RUIZ, M. M. (2024). Informe De Evento Malaria 2023. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. [URL](#)
- [3] MOSQUERA-CHAVERRA, L., *et al.* (2022). Ethnomedicinal Studies, Chemical Composition, and Antibacterial Activity of the *Mammea Americana* L. Bark in the Municipality of Cértegui, Chocó, Colombia. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences* **2022**(1): 9950625. [[DOI](#)]