

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Actividad antimalárica y citotoxicidad de extractos hidroalcohólicos de seis especies de plantas usadas en la medicina tradicional cubana

Aymé Fernández-Calienes Valdés,^I Judith Mendiola Martínez,^I Deyanira Acuña Rodríguez,^{II} Yamira Caballero Lorenzo,^{III} Ramón Scull Lizama,^{IV} Yamilet Gutiérrez Gaitén^{IV}

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: la malaria es la enfermedad parasitaria de mayor importancia para la salud mundial. La carencia de diversidad estructural de los antimaláricos en uso convierte en una necesidad urgente la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. Las plantas han demostrado su potencial para proveer antimaláricos efectivos. Una amplia muestra de plantas medicinales cubanas están siendo estudiadas con este propósito. **OBJETIVO:** evaluar la actividad antimalárica de extractos de 6 especies de plantas y determinar su selectividad midiendo la citotoxicidad frente a células humanas. **MÉTODOS:** se prepararon extractos hidroalcohólicos de partes aéreas de: *Annona glabra* L., *Bidens pilosa* L., *Cecropia peltata* L., *Curcuma longa* L., *Hura crepitans* L. y *Pluchea odorata* (L.) Cass. La actividad de los extractos se evaluó *in vitro* frente a *Plasmodium falciparum* y fibroblastos humanos MRC-5. Se calcularon la concentración inhibitoria media, concentración citotóxica media y el índice de selectividad. Se realizó un tamizaje fitoquímico preliminar del extracto más activo. **RESULTADOS:** solo el extracto de *H. crepitans* mostró buena actividad antiplasmodial (concentración inhibitoria media de 5,7 µg/mL) con excelente selectividad (índice de selectividad de 18,8). El tamizaje fitoquímico reveló la presencia de compuestos fenólicos, triterpenoides, alcaloides, quinonas, flavonoides y antocianidinas. **CONCLUSIONES:** se obtuvo un extracto con potente actividad antimalárica *in vitro*. Este resultado induce a continuar estudiando esta preparación vegetal.

Palabras clave: malaria, *Plasmodium falciparum*, actividad antimalárica, plantas, *Hura crepitans*, Euphorbiaceae.

INTRODUCCIÓN

La malaria es la enfermedad parasitaria de mayor importancia a nivel global, es endémica en 109 países. En 2008, se estimaron 243 millones de casos y 863 000 muertes, causadas por la infección por *Plasmodium falciparum* fundamentalmente en niños menores de 5 años.¹

Entre las herramientas más importantes para combatir la malaria se incluye la terapia combinada con derivados de artemisina.¹ Aunque la

resistencia de *P. falciparum* ha emergido para todas las clases de antimaláricos a excepción de la artemisina y sus derivados, no se descarta la aparición de parásitos resistentes motivado esto por el incremento en el uso de estas drogas.

Ante la carencia de diversidad estructural de los antimaláricos en uso, la búsqueda de nuevas drogas constituye una necesidad urgente² y las plantas han demostrado su potencial para proveer drogas efectivas para el tratamiento de la malaria.

^I Máster en Bioquímica. Investigadora Auxiliar. Asistente. Departamento de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). La Habana, Cuba.

^{II} Técnica Veterinaria. Departamento de Parasitología, IPK. La Habana, Cuba.

^{III} Técnica en Procesos Biológicos. Departamento de Virología, IPK. La Habana, Cuba.

^{IV} Máster en Farmacia. Departamento de Farmacia. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.

Aunque después del descubrimiento de la artemisina no han sido extraídos más compuestos efectivos contra la malaria, muchos grupos de investigación continúan evaluando extractos de plantas con el propósito de hallar nuevas alternativas terapéuticas.³

Nuestro grupo está investigando la potencialidad antimalárica de una representación de plantas medicinales cubanas. La evaluación de la toxicidad de 34 especies, usando el modelo de *Artemia salina*, permitió seleccionar 29 extractos vegetales para continuar su investigación como antiprotozoarios.⁴

En este trabajo se evaluó la actividad antiplasmodial, frente a *P. falciparum*, de 6 de esos extractos seleccionados y se determinó su selectividad midiendo la citotoxicidad frente a fibroblastos humanos.

MÉTODOS

Colecta del material vegetal y preparación de los extractos

La colecta y la preparación de los extractos se describieron detalladamente con anterioridad.⁴ Los datos sobre las especies utilizadas en el estudio se recogen en la tabla 1.

Ensayo de actividad antimalárica

El ensayo de actividad antimalárica se realizó empleando la cepa Ghana de *P. falciparum* susceptible a cloroquina. Los parásitos se cultivaron en eritrocitos humanos A+ a 37 °C en presencia de una atmósfera baja en oxígeno (3 % O₂, 4 % CO₂ y 93 % N₂) en una cámara de incubación

modulada. Se utilizó RPMI-1640 suplementado con 20 % de suero humano como medio de cultivo.

Los experimentos se realizaron en placas de cultivo de 96 pozos con fondo plano (Nunc). Se probaron concentraciones de extractos entre 100 µg/mL y 1,56 µg/mL, preparándose diluciones dobles en medio de cultivo hasta un volumen final de 100 µL. A los extractos prediluidos se adicionaron otros 100 µL de medio que contenía eritrocitos parasitados en suspensión (1 % parasitemia, 4 % hematócrito), con más de 90 % en el estadio de trofozoito joven (formas anulares). Las placas del ensayo se incubaron durante 48 h. Se realizaron extensiones de la suspensión celular contenida en cada pozo. La multiplicación de los parásitos se midió mediante conteo microscópico de parásitos teñidos con Giemsa. Se examinaron más de 2 000 células rojas por cada extensión. El crecimiento de los parásitos en presencia de los extractos se expresó como un porcentaje de los controles sin extracto. Cada concentración de extracto que causó alguna inhibición se evaluó 3 veces. Se calculó la concentración del extracto que inhibió 50 % del crecimiento parasitario (CI₅₀) utilizando el método de interpolación lineal.

Ensayo de citotoxicidad

Se utilizó una línea celular humana embrionaria diploide de pulmón (MRC-5) para determinar el efecto citotóxico de los extractos de plantas. Las células se cultivaron en medio mínimo esencial (MEM), suplementado con L-glutamina (20 mM), 16,5 mM de hidrógeno carbonato de sodio y 5 % de suero fetal bovino a 37 °C en una atmósfera de CO₂ a 5 %. La evaluación se realizó en placas de cultivo de fondo plano de 96 pocillos. Para el ensayo, se sembraron 15 000 células por pozo

TABLA 1. Datos de las especies vegetales evaluadas

Familia	Especie	Nombre vulgar	Parte evaluada	Número de registro
Annonaceae	<i>Annona glabra</i> L.	Bagá	Hojas	8300098
Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i> L.	Romerillo	Parte aérea	9700160
	<i>Pluchea odorata</i> (L.) Cass.	Salvia	Hojas	9700158
Euphorbiaceae	<i>Hura crepitans</i> L.	Salvadera	Hojas	8600198
Urticaceae	<i>Cecropia peltata</i> L.	Yagruma	Hojas	8603239
Zingiberaceae	<i>Curcuma longa</i> L.	Yuquilla	Hojas	9700178

suspendidas en un volumen de 100 μ L de MEM. Después de la formación de la monocapa confluyente, se adicionaron 2 μ L de extracto prediluido para un rango final de concentraciones de 200 μ g/mL a 1,56 μ g/mL. La incubación se realizó durante 72 h bajo las mismas condiciones de cultivo. Dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,1 % y células no tratadas se incluyeron como controles. Posteriormente, se determinó la citotoxicidad utilizando el ensayo colorimétrico de la sal de tetrazolium MTT:⁵ se adicionaron 10 mL de la solución madre de MTT (5 mg/mL) en cada pozo y la incubación de las placas continuó durante 4 h más. A continuación, se adicionaron 100 mL de una solución de dodecil sulfato de sodio (SDS 10 % en 0,01 M HCl). La cantidad de formazan formado se midió mediante la determinación de la absorbancia a 560 nm y a 630 nm (longitud de onda de referencia) utilizando un lector de ELISA. El daño causado por cada concentración de los extractos se expresó como un porcentaje de la absorbancia de los controles. La concentración de extracto que causó 50 % de la toxicidad celular o concentración citotóxica media (CC_{50}) se calculó por interpolación lineal. El índice de selectividad (IS) se determinó como el cociente de los valores de la CC_{50} y de la CI_{50} .

Análisis fitoquímico

Para efectuar el análisis fitoquímico del extracto de *H. crepitans* se realizaron diferentes ensayos químicos⁶ sin acoplar y acoplados a una cromatografía en capa delgada.⁷ Para realizar la cromatografía se utilizaron láminas de vidrio recubiertas de gel de sílica 60 F₂₅₄. La corrida cromatográfica se realizó en una cámara con acetato de etilo:metanol:agua (10:1,3:1, v/v) como fase móvil. Como sistemas reveladores se utilizaron, la exposición a luz ultravioleta (254 y 366 nm), los vapores de amoníaco y la aspersion de vainillina/ácido sulfúrico seguido de un calentamiento a 105 °C.

RESULTADOS

Los valores de CI_{50} de los 6 extractos de plantas frente a *P. falciparum* se muestran

en la tabla 2; 4 extractos exhibieron actividad ($CI_{50} < 100$ g/mL) *A. glabra*, *C. peltata*, *H. crepitans* y *P. odorata*.

El extracto hidroalcohólico de *H. crepitans* exhibió valores de CI_{50} menores que 10 μ g/mL y fue el único de los extractos activos en mostrar una acción selectiva sobre el parásito (IS > 10) (tabla 2).

TABLA 2. Actividad antiplasmodial (CI_{50}), citotoxicidad frente a la línea MRC-5 (CC_{50}) e índice de selectividad (IS) de los extractos de plantas

Extracto	<i>P. falciparum</i> CI_{50} (mg/mL)	MRC-5 CC_{50} (μ g/mL)	IS
<i>Annona glabra</i> L.	74,3	62,5	< 1
<i>Bidens pilosa</i> L.	> 100	-	-
<i>Cecropia peltata</i> L.	85,6	25,0	< 1
<i>Curcuma longa</i> L.	> 100	-	-
<i>Hura crepitans</i> L.	5,7	107,7	18,8
<i>Pluchea odorata</i> L.	53,1	62,0	< 1

El tamizaje fitoquímico de *H. crepitans* fue consistente con la detección de alcaloides, lactonas, triterpenoides o esteroides (o ambos), fenoles, quinonas, flavonoides, antocianidinas, saponinas y aminoácidos (tabla 3).

TABLA 3. Tamizaje fitoquímico del extracto de *Hura crepitans* L.

Ensayo	Metabolito	<i>Hura crepitans</i> L.
Dragendorff	Alcaloides	++
Fehling	Sustancias reductoras	+
Baljet	Lactonas	+
Resins	Resinas	-
Foam	Saponinas	+
Lieberman-Burchard	Triterpenoides y/o esteroides	++
FeCl ₃	Fenoles and taninos	+
Ninhidrin	Aminoácidos	+
Börntrager	Quinonas	++
Kedde	Glicósidos cardio- tónicos	-
Shinoda	Flavonoides	++
Antocianidina	Antocianidinas	++

(-): negativo, (+): positivo, (++) : muy positivo.

En la figura se confirma que el extracto analizado es una mezcla de compuestos. Se observa una mancha fuerte en el punto de aplicación (compuestos polares), esta mancha y otras 2 más cercanas exhibieron un color amarillo al ser expuestas a los vapores de amoníaco, lo cual

Fig. Cromatografía en capa delgada del extracto de *Hura crepitans*. Perfil combinado de las manchas observadas después de exponer la placa a la luz UV (254 nm) con las observadas a la luz visible (rectángulos). Se representan, también, la mancha de fluorescencia azul evidente después de la exposición a luz UV (366 nm) (línea negra), las manchas amarillas por la exposición a vapores de amoníaco (elipses) y la posición de las manchas rojizas obtenidas después del revelado con vainillina-sulfúrico (flechas).



permite confirmar la presencia de grupos fenólicos libres. Otra mancha menos intensa se observa en el frente de corrida (compuestos apolares), el tratamiento con vainillina y ácido sulfúrico reveló un color rojizo en esta posición y en otra cercana, que indica la presencia de triterpenoides. Se apreció fluorescencia azul en una posición también cercana al frente de corrida al exponerse a 366 nm.

DISCUSIÓN

El descubrimiento de la quinina y de la artemisina, 2 potentes antimaláricos obtenidos de plantas, ha impulsado el estudio de más de 900 extractos vegetales en los últimos 20 años.^{8,9,2,3} La cuarta parte de estos extractos demostró potente actividad *in vitro* frente a cepas de *Plasmodium falciparum* (valor de CI_{50} menor o igual que 10 $\mu\text{g/mL}$). Varios de sus principios activos han sido aislados y evaluados como posibles drogas.^{9,3} Aún no se han desarrollado nuevas drogas clínicas a partir de estos productos, pero los estudios en ese sentido continúan.

El Ministerio de Salud Pública de Cuba ha potenciado el desarrollo de la medicina tradicional impulsando el conocimiento de la flora medicinal cubana, con la evaluación farmacológica y

toxicológica de especies de amplio uso popular.¹⁰ Ante la urgente necesidad internacional de nuevas alternativas terapéuticas para la malaria, nuestro grupo comenzó la evaluación de la actividad antimalárica de especies de plantas usadas por la población.^{11,12}

En este trabajo se evaluó la actividad antiplasmodial *in vitro* de extractos hidroalcohólicos de partes aéreas de otras especies usadas como medicinales en Cuba: *A. glabra* L., *B. pilosa* L., *C. longa* L., *C. peltata* L., *H. crepitans* L. y *P. odorata* (L.) Cass.

La primera especie, nativa del caribe, comparte el mismo género con la especie *Annona muricata* L., planta usada contra la malaria o las fiebres en tres continentes.¹³ Nuestros resultados muestran que el extracto de *A. glabra* es activo frente a *P. falciparum* ($CI_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$)^{9, 14} pero a un bajo nivel ($CI_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$)¹⁵. Por otra parte, la determinación de su citotoxicidad demuestra la inespecificidad de su acción parasiticida. En la literatura consultada no se hallaron reportes sobre la actividad antiplasmodial de esta especie.

B. pilosa es una especie originaria de América del Sur y de extensa utilización en la medicina natural y tradicional cubana.¹⁶ Su uso antimalárico ha sido ampliamente estudiado en Brasil.¹⁷ Sus extractos han mostrado valores de CI_{50} entre 10,4 y 49,8 $\mu\text{g/mL}$ frente a *P. falciparum*.³ La actividad antimalárica le ha sido atribuida a la presencia de flavonoides y acetilenos.¹⁸ El extracto evaluado por los autores del presente estudio no resultó activo, esto puede ser debido a la variación en la composición de metabolitos secundarios motivada por cambios en la recolección, el suelo o factores climáticos (o ambos).¹⁰ La composición del suelo ya demostró ser crítica para obtener extractos activos en esta especie.¹⁸

Otro extracto inactivo en nuestras condiciones fue el obtenido de la especie *C. longa*. Esta planta es de origen asiático y se le han descrito muchas propiedades, entre ellas la de ser antihelmíntica.¹⁹ Su acción antimalárica fue demostrada en Perú al evaluar un extracto del bulbo,²⁰ esta parte de la planta debe ser incluida en un próximo estudio para definir un criterio sobre la acción antimalárica de esa especie en Cuba. *C. peltata* es un árbol representativo de la zona intertropical americana. A esta planta se le atribuyen, entre

otras, propiedades antipiréticas²¹. Ha sido utilizada como antimalárico en algunos países de América Central, sin embargo, la actividad demostrada por extractos de esta planta, incluido el de este estudio, ha sido baja ($CI_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$),¹⁵ por lo que quizá su acción esté dirigida a combatir la fiebre antes que a eliminar el parásito.

P. odorata es un arbusto silvestre oriundo de América. La población lo ha usado para combatir el cólera morbo y otras afecciones con predominio de diarreas.²¹ En Yucatán la planta se emplea como antiinflamatoria y antipirética.²¹ Sus propiedades anticancerígenas han sido bien estudiadas.^{22,23} Aunque se ha responsabilizado con esta actividad a compuestos sesquiterpénicos,²³ familia química de conocida acción antimalárica,⁹ no ha sido comprobada en los compuestos presentes en esta especie. Nuestro extracto mostró baja actividad antiplasmodial y pobre selectividad.

La salvadera, *H. crepitans*, es nativa de las regiones tropicales de América. Este árbol es considerado venenoso para las personas debido a la toxicidad de sus semillas y su látex, empleados para combatir afecciones cutáneas,²¹ como anti-leishmanial²⁰ y antihelmíntico.^{21,24} La actividad antimalárica del látex fue investigada pero esta resultó negativa.²⁵ La moderada toxicidad mostrada por un extracto de hojas de esta especie⁴ en el ensayo de *Artemia salina*, estimuló a evaluar su acción antiplasmodial. Nuestro extracto mostró muy buena actividad frente a *P. falciparum* ($CI_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$)² y excelente selectividad ($IS > 10$).¹⁴ Extractos de hojas de otras especies de la familia Euphorbiaceae han demostrado potente actividad antimalárica *in vitro*, según la literatura a nuestro alcance este es el primer reporte positivo para *H. crepitans*. Polifenoles como el ácido elágico,² compuesto de elevada efectividad como antimalárico²⁵ y otros flavonoides²⁶ han sido extraídos de las hojas de las especies activas. Nuestro extracto es una mezcla de compuestos en la cual están presentes, también, compuestos fenólicos.

De manera general se puede concluir que se obtuvo un extracto con potente actividad antimalárica *in vitro* y alta especificidad (extracto hidroalcohólico de hojas de *H. crepitans*). Estos resultados avalan la continuidad de los estudios de esta preparación vegetal, tanto de su acción antimalárica como de sus componentes químicos.

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Louis Maes del Laboratorio de Microbiología, Parasitología e Higiene de la Universidad de Amberes por donar la cepa de *Plasmodium falciparum*.

Antimalarial activity and cytotoxicity of hydroalcoholic extracts from six plant species used in Cuban traditional medicine

ABSTRACT

INTRODUCTION: malaria is the most important parasitic disease for global health. Lack of the structural diversity in current antimalarials demands the urgent search for new therapeutic alternatives. The plants have shown their potential to provide effective antimalarials, therefore, a large sample of Cuban medicinal plants is being studied. **OBJECTIVES:** to evaluate antimalarial activity of extracts from six plant species and to determine their selectivity by measuring cytotoxicity against human cells. **METHODS:** hydroalcoholic extracts from *Annona glabra* L., *Bidens pilosa* L., *Cecropia peltata* L., *Curcuma longa* L., *Hura crepitans* L. and *Pluchea odorata* (L.) Cass. were prepared. Their activity was evaluated *in vitro* against *Plasmodium falciparum* and human fibroblasts MRC-5. The mean inhibitory concentration, the mean cytotoxic concentration and the selectivity index were estimated. A preliminary phytochemical screening of the most active extract was made. **RESULTS:** *H. crepitans* extract was the only one that showed good antiplasmodial activity (mean inhibitory concentration of $5.7 \mu\text{g/mL}$) with excellent selectivity (selectivity index of 18.8). Phytochemical screening revealed the presence of phenolic compounds, triterpenoids, alkaloids, quinones, flavonoids and anthocyanidins. **CONCLUSIONS:** one extract with potent antimalarial activity *in vitro* was obtained. This result is an incentive to continue studying this vegetal preparation.

Key words: malaria, *Plasmodium falciparum*, antimalarial activity, plants, *Hura crepitans*, Euphorbiaceae.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. World Malaria Report 2009. Geneva: WHO. [Online]. Available in: http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563901_eng.pdf
2. Soh PN, Benoit-Vical F. Are West African plants a source of future antimalarial drugs? *J Ethnopharmacol.* 2007;114:130-40.
3. Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R. Antimalarials from nature. *Bioorg Med Chem.* 2009;17:3229-56.
4. Fernández-Calienes A, Mendiola J, Monzote L, García M, Sariego I, Acuña D, et al. Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. *Rev Cubana Med Trop.* 2009;61:254-8.
5. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *J Immunol Methods.* 1983;65:55-63.
6. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos para el estudio de los productos naturales. Lima: Universidad del Perú; 1988.
7. Ministerio de Salud Pública. Medicamentos de origen vegetal: extractos y tinturas: proceso tecnológico. Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) 311. La Habana: MINSAP; 1991.

8. Saxena S, Pant N, Jain DC, Bhakuni RS. Antimalarial agents from plant sources. *Curr Sci.* 2003;85:1314-29.
9. Benoit-Vical F. Ethnomedicine in malaria treatment. *I Drugs.* 2005;8:45-52.
10. Abreu J, Scull R, Miranda M, Cuellar A, Fuentes V, Acosta L, et al. La flora medicinal de Cuba. En: *Plantas Medicinales.* La Habana: Ed. Abril; 2004.
11. Rodríguez M, Martínez JM, Rivero LR, Alvarez HMH, Valdez AFC, Rodríguez DA, et al. Evaluación de la actividad antimalárica de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional cubana. *Rev Cienc Farm Básica Aplicada.* 2006;27:197-205.
12. Fernández-Calienes A, Mendiola J, Scull R, Vermeersch M, Cos P, Maes L. *In vitro* anti-microbial activity of the Cuban medicinal plants *Simarouba glauca* DC., *Melaleuca leucadendron* L. and *Artemisia absinthium* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008;103:615-8.
13. Willcox ML, Bodeker G. Traditional herbal medicines for malaria. *Br Med J.* 2004;329:1156-9.
14. Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV, Maes L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger *in vitro* 'proof-of- concept'. *J Ethnopharmacol.* 2006;106:290-302.
15. Jenett-Siems K, Mockenhaupt FP, Bienzle U, Gupta MP, Eckart E. *In vitro* antiplasmodial activity of Central American medicinal plants. *Trop Med Intern Health.* 1999;4:611-5.
16. Lastra HA, Ponce de León H. *Bidens pilosa* Linné. *Rev Cubana Plant Med.* 2001;6:28-33.
17. Brandão MGL, Krettli AU, Soares LSR, Nery CGC, Marinuzzi HC. Antimalarial activity of extracts fractions from *Bidens pilosa* and other *Bidens* species (Asteraceae) correlated with the presence of acetylene and flavonoid compounds. *J Ethnopharmacol.* 1997;57:131-8.
18. Andrade-Neto VF, Brandão MG, Oliveira FQ, Casali VW, Njaine B, Zalis MG. Antimalarial activity of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) ethanol extracts from wild plants collected in various localities or plants cultivated in humus soil. *Phytother Res.* 2004;18:634-9.
19. Kiuchi F, Goto Y, Sugimoto N, Akao N, Kondo K, Tsuda Y. Nematocidal activity of turmeric: synergistic action of curcuminoids. *Chem Pharm Bull.* 1993;41:1640-3.
20. Kvist LP, Christensen SB, Rasmussen HB, Mejia K, Gonzalez A. Identification and evaluation of Peruvian plants used to treat malaria and leishmaniasis. *J Ethnopharmacol.* 2006;106:390-402.
21. Roig JT. *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba.* 2ª ed. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1974.
22. Gridling M, Stark N, Madlener S, Lackner A, Popescu R, Benedek B, et al. *In vitro* anti-cancer activity of two ethnopharmacological healing plants from Guatemala *Pluchea odorata* and *Phlebodium decumanum*. *Int J Oncol.* 2009;34:1117-28.
23. Bauer S, Popescu R, Krupitza G, Singhuber J. Ethnopharmacological investigations on *Pluchea odorata* (L.) Cass. *Sci Pharm.* 2009;77:266.
24. Muñoz V, Sauvain M, Bourdy G, Arrázola S, Callapa J, Ruiz G, et al. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part III. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by Alteños Indians. *J Ethnopharmacol.* 2000;71:123-31.
25. Soh PN, Witkowski B, Olganier D, Nicolau ML, Garcia-Alvarez MC, Berry A, Benoit-Vical F. *In vitro* and *in vivo* properties of ellagic acid in malaria treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:1100-6.
26. Thomas R, Sah NK, Sharma PB. Therapeutic biology of *Jatropha curcas*: a mini review. *Curr Pharm Biotechnol.* 2008;9:315-24.

Recibido: 10 de mayo de 2010. Aprobado 24 de mayo de 2010.
 Aymé Fernández-Calienes Valdés. Instituto de Medicina Tropical
 "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½. Marianao
 13. AP: 601. La Habana, Cuba. Correo electrónico: ayne@ipk.sld.cu