

Actividad anti-plasmodial de especies de *Solanaceae* presentes en Cuba

Antiplasmodial activity of *Solanaceae* species present in Cuba

MSc. Aymé Fernández-Calienes Valdés,^I DrC. Osmany Cuesta Rubio,^{II} DrC. Víctor Fuentes Fiallo(†),^{III} DraC. Lianet Monzote Fidalgo,^I MSc. Judith Mendiola Martínez^I

^I Departamento de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). La Habana, Cuba.

^{II} Unidad Académica de Ciencias Químicas y la Salud. Universidad Técnica de Machala, Ecuador.

^{III} (†) Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. Alquizar, Artemisa, Cuba.

RESUMEN

Introducción: el control de la malaria depende en gran medida de una terapia efectiva. Muchos de los anti-maláricos actuales son de origen natural. Especies de la flora cubana contienen metabolitos anti-*Plasmodium*. En este estudio, se identifican extractos de *Solanaceae* con actividad antiplasmodial promisorio.

Objetivo: evaluar la actividad esquizotóxica frente a *Plasmodium berghei* de 31 extractos de 7 especies, correspondientes a 5 géneros de plantas de *Solanaceae*, colectadas en el occidente de nuestro país y sin antecedentes de un estudio similar.

Métodos: se prepararon 31 extractos hidroalcohólicos (90 y 30 % etanol) de diferentes órganos de: *Brunfelsia undulata* Sw., *Datura stramonium* L. var. *tatula* (L.) Torr., *Physalis solanaceus* (Schltdl.) Axelius, *Solandra longiflora* Tuss., *Solanum myriacanthum* Dunal, *Solanum seafortianum* And. y *Solanum umbellatum* Mill. La actividad de los extractos se evaluó *in vitro* frente a *P. berghei* y se determinó su citotoxicidad frente a fibroblastos humanos MRC-5.

Resultados: los extractos de *B. undulata* y *S. umbellatum* fueron inactivos. El extracto de tallos de *S. seafortianum* mostró la actividad antiplasmodial más potente (CI₅₀ = 3,9 µg/mL) con excelente selectividad (18,2).

Conclusiones: se demostró la actividad anti-plasmodial *in vitro* de extractos de cinco especies de Solanaceae sin antecedentes de esta acción farmacológica. Se identificó un extracto con potente actividad esquizotocida frente a *P. berghei* y con excelente selectividad. Este resultado nos anima a continuar el estudio de la preparación vegetal de *S. seforthianum*.

Palabras clave: malaria, *Plasmodium berghei*, actividad antiplasmodial, plantas, *Solanum seforthianum*, Solanaceae.

ABSTRACT

Introduction: malaria control mostly depends on an effective therapy. Many current antimalarials are of natural origin. Cuban flora species contain anti-Plasmodium metabolites. This study identifies Solanaceae extracts with promising antiplasmodial activity.

Objective: to evaluate anti-Plasmodium berghei schizonticidal activity of 31 extracts of seven species corresponding to five genera of Solanaceae plants collected in the west of our country, without history of a similar study.

Methods: 31 hydroalcoholic (30%/90% ethanol) extracts were prepared with different body parts from Brunfelsia undulata Sw., Datura stramonium L. var. tatula (L.) Torr., Physalis solanaceus (Schltdl.) Axelius, Solandra longiflora Tuss., Solanum myriacanthum Dunal, Solanum seforthianum And. and Solanum umbellatum Mill. The extracts activity was evaluated in vitro for Plasmodium berghei and their cytotoxicity was determined for human fibroblasts MRC-5.

Results: brunfelsia undulata and Solanum umbellatum extracts were inactive. The Solanum seforthianum stems extract showed the strongest antiplasmodial activity (CI₅₀=3.9 µg/ml) with excellent selectivity (18.2).

Conclusions: the antiplasmodial in vitro activity of extracts from five species of Solanaceae was demonstrated, without any history of this pharmacological action. An extract was identified to have a powerful schizontocidal activity against Plasmodium berghei and excellent selectivity. This result encourages us to continue the study of the plant preparation of Solanum seforthianum.

Keywords: malaria; Plasmodium berghei; antiplasmodial activity; plants; Solanum seforthianum; Solanaceae.

INTRODUCCIÓN

En 2012 ocurrieron 207 millones de casos y 627 000 muertes por malaria en el mundo, el 77 % en niños menores de 5 años. En 97 países existe transmisión activa de malaria, mientras otros están en riesgo permanente de re-introducción.¹

El control de la malaria depende en gran medida de una terapia efectiva. La aparición de parásitos resistentes ocasiona que el espectro de medicamentos contra la malaria se reduzca cada vez más. Se recomienda la terapia combinada con artemisininas como primera línea para *Plasmodium falciparum* y *P. vivax* resistente a cloroquina. En la actualidad se ha detectado resistencia de los parásitos a las artemisininas en cuatro

países de la subregión del Gran Mekong.¹ En Camboya se ha encontrado resistencia a terapias combinadas con artemisininas, se ha tenido que acudir a la combinación atovacuona-proguanil,¹ fármacos para los cuales se detectó resistencia en momentos muy cercanos a su introducción como antimaláricos (1996 y 1949).²

La meta ambiciosa de controlar la malaria solo podrá ser alcanzada con el desarrollo de nuevos fármacos.³ La mayoría de las investigaciones cuyo objetivo es el descubrimiento de nuevos anti-maláricos se basan en pruebas frente a cultivos sanguíneos de *P. falciparum* y en modelos de malaria de roedores.

La malaria causada por *P. berghei* es un modelo bien conocido para la investigación de la eficacia de productos anti-maláricos. Los parásitos humanos y murinos comparten la mayor parte de los genes, los procesos genéticos y bioquímicos y la sensibilidad a los fármacos.^{4,5} Los ensayos de maduración de esquizontes permiten la determinación de la actividad anti-malárica intrínseca de compuestos, sin interferencia de factores del hospedero. Por esta razón las pruebas *in vitro* frente a *P. berghei* preceden y complementan las pruebas *in vivo*.^{5,6}

El estudio de las fuentes naturales, persiste, es una de las rutas más exploradas para obtener nuevas estructuras químicas e identificar nuevas dianas farmacológicas y nuevos modos poli-farmacológicos de acción.⁶ Inspirados en el éxito de dos anti-maláricos extraídos de plantas, la quinina y la artemisinina, iniciamos la búsqueda de principios activos anti-*Plasmodium* en plantas medicinales de Cuba.⁷⁻⁹ En esta ocasión, nuestros estudios se dirigieron a identificar extractos con actividad anti-plasmodial promisorio en la familia Solanaceae.

Esta familia de plantas está compuesta de 92 géneros y unas 2300 especies. En Cuba, se encuentra representada por 18 géneros, con un estimado de unas 100 especies y un 33 % de endemismo, sin incluir especies de 16 géneros que han sido introducidas en el país en diferentes momentos y con diversos fines.¹⁰ Las plantas de Solanaceae producen abundantes metabolitos secundarios con propiedades biológicas de interés: alcaloides, saponinas, sapogeninas y lactonas esteroidales.^{11,12} Estos compuestos esteroidales se identificaron como los responsables de la actividad anti-malárica de las especies de solanáceas estudiadas con anterioridad.¹³⁻¹⁵

En este trabajo se evalúa la posible actividad esquizonticida frente a *P. berghei* de 31 extractos de Solanaceae, sin antecedentes de un estudio similar, colectadas en el occidente de nuestro país.

MÉTODOS

Material vegetal

Las plantas incluidas en este estudio pertenecen a 5 géneros de Solanaceae que incluyeron 7 especies. Se analizaron diversos órganos vegetales en dependencia de su disponibilidad. Las especies, los órganos estudiados y otros datos de interés se relacionan en la [tabla 1](#). El Dr. Victor Fuentes Fiallo, desarrolló el proceso de colección e identificación botánica. Un ejemplar de cada planta se dejó como testigo en el herbario de la Estación Experimental de Plantas medicinales "Juan Tomás Roig".

Tabla 1. Especies de Solanaceae en estudio

ESPECIE	BIOGEOGRAFÍA Y SINANTROPISMO	VOUCHER	LOCALIDAD DE COLECTA	FECHA	ÓRGANO
<i>Brunfelsia undulata</i> Sw.	Nativa, sinántropa	ROIG 4817	Güira de Melena, provincia Artemisa	12-VII-2010	hojas
<i>Datura stramonium</i> L. var. <i>tatula</i> (L.) Torr.	Naturalizada, sinántropa	ROIG 4798	El Rincón, Santiago de las Vegas, Municipio Boyeros, provincia La Habana	2-VII-2010	raíz
					tallo
					hojas
<i>Physalis solanaceus</i> (Schltdl.) Axelius	Naturalizada, sinántropa	ROIG 4799	El Rincón, Santiago de las Vegas, Municipio Boyeros, provincia La Habana.	2-VII-2010	partes aéreas con flor y fruto
					raíz
<i>Solandra longiflora</i> Tuss.	Nativa, sinántropa	ROIG 4816	Güira de Melena, provincia Artemisa	12-VII-2010	raíz
					tallo
					hojas
<i>Solanum myriacanthum</i> Dunal	Naturalizada, sinántropa	ROIG 4821	Campamento de Sierra Azul, La Palma, Pinalito, Municipio Bahía Honda, provincia Pinar del Río	23-VII-2010	hojas
					tallos
<i>Solanum seforthianum</i> And.	Nativa, sinántropa	ROIG 4815	El Rincón, Santiago de las Vegas, Municipio Boyeros, provincia La Habana	2-VII-2010	tallos
					hojas
<i>Solanum umbellatum</i> Mill.	Nativa, sinántropa	ROIG 4819	Campamento de Sierra Azul a La Palma, Pinalito, Municipio Bahía Honda, provincia Pinar del Río.	23-VII-2010	hojas
					tallos
					frutos verdes

Procesamiento del material vegetal

Los órganos de las especies colectadas fueron separados de forma manual. El material vegetal se secó a la sombra y luego se realizó un proceso de secado final a 40°C en una estufa (AISET-YLD 6000, Shanghai Yatai instrument, China) que osciló entre 1-5 días en dependencia de la especie. Las muestras se consideraron secas cuando el peso de las mismas se mantuvo con un aproximado constante. El material se cosecó de forma manual o con el empleo de tijeras hasta obtener fragmentos de una longitud máxima de 2-3 cm en el caso de tallos y raíces. El tamaño de los fragmentos del resto de los órganos osciló entre 0,3-1 cm.

El material vegetal fraccionado (10 g) se extrajo por maceración, de forma independiente, con mezclas hidroalcohólicas (90 y 30 % etanol) a temperatura ambiente y durante un período de 5 días. Los frutos solo se extrajeron con etanol al 90 %. Todos los extractos vegetales se filtraron a través de papel de filtro y concentraron en un rotoevaporador (Rotavapor®-R210, BÜCHI Labortechnik, Suiza) a presión reducida y 40 °C. Los residuos obtenidos (1-3 mL) se transfirieron en partes iguales a 2 viales de vidrio que se conservaron a -15 °C. Uno de ellos se liofilizó para el uso ulterior en el ensayo anti-parasitario después de disolverlo en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 20-50 mg/mL.

Ensayo de actividad anti-plasmodial

Para la realización de este ensayo se utilizó la cepa ANKA de *Plasmodium berghei* la cual se mantuvo en crecimiento mediante pases sucesivos en ratones BALB/c: los ratones sanos fueron infectados por la vía intraperitoneal con 10⁶ glóbulos rojos extraídos de ratones parasitados. Para el cultivo de las formas eritrocitarias se seleccionaron animales con parasitemias entre 0,5 y 1 % con predominio de formas anulares (> 70 %). Se preparó una suspensión de glóbulos rojos, con hematocrito de 2 %, en medio Royal Park Memorial Institute (RPMI, Sigma, EUA) enriquecido con suero fetal bovino (20 %). En una placa de 96 pocillos se realizaron diluciones dobles seriadas de los extractos y de DMSO (control de solvente) en el medio. La suspensión de glóbulos rojos se mezcló en partes iguales con las diluciones hasta obtener un rango de concentraciones de extracto entre 1,56 y 100 µg/mL. Después de 18-20 h de incubación en "candle jar" a 37 °C se realizaron gotas gruesas de cada pocillo de la placa. Las láminas se tiñeron con Giemsa. El porcentaje de esquizontes formados se determinó mediante conteo directo, se usó un microscopio óptico (Carl Zeiss, Alemania), de 200 parásitos. La actividad antiplasmodial se expresó como la concentración inhibitoria media (CI₅₀) y se determinó según la metodología de Huber y Koella¹⁶ a partir del cálculo del porcentaje de inhibición de la maduración de esquizontes.¹⁷ Se utilizó difosfato de cloroquina (Sigma, EUA) como control positivo.

Ensayo de citotoxicidad

Para determinar el efecto citotóxico de los extractos de plantas, se utilizó una línea celular humana embrionaria diploide de pulmón (MRC-5). Las células se cultivaron en medio mínimo esencial (MEM, Sigma, EUA), 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 al 5 %. La evaluación se realizó en placas de cultivo de fondo plano de 96 pozos. Para el ensayo, se sembraron 15 000 células por pozo suspendidas en un volumen de 100 µL de MEM. Después de la formación de la monocapa confluyente, se retiró el medio y se adicionaron 100 µL de extracto pre-diluido en medio de cultivo

fresco, en un rango final de concentraciones de 1,56 a 500 µg/mL. La incubación se realizó durante 72 h bajo las mismas condiciones de cultivo. Se incluyeron como controles DMSO al 0,1 % y células no tratadas. A continuación, se cuantificó la citotoxicidad con la utilización del ensayo colorimétrico de la sal de tetrazolium MTT:¹⁸ se retiró el medio con el extracto y se adicionaron, en cada pozo, 100 µL de MTT (0,5 mg/mL) diluido en medio de cultivo. Después de 4 horas de incubación se descartó el medio con MTT y se adicionaron 100 µL de DMSO a cada pozo. La cantidad de formazan se midió mediante la determinación de la absorbancia a 560 nm y a 630 nm (longitud de onda de referencia) en un espectrofotómetro Sirio S Reader, 2.4-0 (Italia). La citotoxicidad provocada por cada concentración de extracto se expresó como un porcentaje de la absorbancia de los controles. La concentración de extracto que causó el 50 % de la toxicidad celular o concentración citotóxica media (CC₅₀) se calculó por interpolación lineal. El índice de selectividad (IS) se determinó como el cociente de los valores de la CC₅₀ y de la CI₅₀.

Criterio de actividad

Para establecer un criterio de actividad se siguió lo descrito por *Fernández-Calienes y colaboradores* (2010)⁷ y *Al-Musayeby colaboradores* (2012)¹⁹ para *P. falciparum*. Se consideró inactivo el extracto que mostró un valor de CI₅₀ superior a 100 µg/mL. Una CI₅₀ < 10 µg/mL y un IS ≥ 4 indican actividad relevante del extracto.

RESULTADOS

Se determinó la actividad inhibidora de la formación de esquizontes de *P. bergheide* los 31 extractos de plantas de Solanaceae ([tabla 2](#)). Todos los extractos preparados con el menor porcentaje de etanol (30%) fueron inactivos. La utilización del alcohol al 90% tampoco logró extraer componentes activos de las especies, *Brumfelsia undulata* y *Solanum umbellatum*. Siete extractos exhibieron valores de CI₅₀ menores que 100 µg/mL, entre ellos, el extracto de tallos de *Solanum seaforthianum* demostró la actividad esquizonticida más potente con una CI₅₀ menor de 10 µg/mL. Por su parte, los valores de CI₅₀ exhibidos por la cloroquina para cada experimento se mantuvieron en el rango esperado (15- 18 ng/mL), muy inferior a los extractos evaluados.

La actividad citotóxica de los siete extractos con actividad frente a *P. berghei* también se muestra en la [tabla 2](#). La relación citotoxicidad /actividad esquizonticida mostró ser excelente para el extracto más potente, tallos de *S. seaforthianum*, con IS muy superior a 4 (18,2). Los extractos de raíz y hojas de *Datura stramonium*, así como, el de hojas de *Solandra longiflora* exhibieron índices de selectividad aceptables (9,4; 8,7; y 4,0). La parte aérea de *Physalis solanaceus* y las hojas de *S. seaforthianum* y *S. myriacanthum* mostraron la menor selectividad.

Tabla 2. Actividad anti-plasmodial y citotoxicidad de los extractos de Solanaceae

ESPECIE	ORGANO	EXTRACTO	CI ₅₀ <i>Plasmodium berghei</i> (µg/mL)	CC ₅₀ MRC-5 (µg/mL)	Indice de Selectividad (IS)
<i>Brunfelsia undulata</i> Sw.	Hojas	A	>100	-	-
		E	>100	-	-
<i>Datura stramonium</i> L. var. <i>tatula</i> (L.) Torr.	Raíz	A	>100	-	-
		E	40,9 ± 4,8	384,8 ± 23,1	9,4
	Tallos	A	>100	-	-
		E	>100	-	-
	Hojas	A	>100	-	-
		E	19,0 ± 0,7	164,7 ± 22,3	8,7
<i>Physalis solanaceus</i> (Schltdl.) Axelius	Partes aéreas con flor y fruto	A	>100	-	-
		E	28,4 ± 1,3	31,3 ± 2,6	1,1
	Raíz	A	>100	-	-
		E	>100	-	-
<i>Solandra longiflora</i> Tuss.	Raíz	A	>100	-	-
		E	>100	-	-
	Tallos	A	>100	-	-
		E	>100	-	-
	Hojas	A	>100	-	-
		E	32,7 ± 0,9	130,3 ± 8,4	4,0
<i>Solanum myriacanthum</i> Dunal	Hojas	A	>100	-	-
		E	28,6 ± 2,9	64,2 ± 5,5	2,2
	Tallos	A	>100	-	-
		E	>100	-	-
<i>Solanum seaforthianum</i> And.	Tallos	A	>100	-	-
		E	3,9 ± 0,3	71,0 ± 4,2	18,2
	Hojas	A	>100	-	-
		E	30,8 ± 2,7	68,4 ± 6,1	2,2
<i>Solanum umbellatum</i> Mill.	Hojas	A	>100	-	-
		E	>100	-	-
	Tallos	A	>100	-	-
		E	>100	-	-
	Frutos verdes	E	>100	-	-

DISCUSIÓN

El género *Solanum* agrupa alrededor de 1400 especies.²⁰ Plantas conocidas por su valor alimenticio como la papa (*Solanum tuberosum*), la berenjena (*S. melongena*) y el tomate (*S. lycopersicon esculentum*) integran este género. Existe una numerosa cantidad de trabajos que demuestran las propiedades farmacológicas de este grupo de plantas. Atraen nuestro interés estudios recientes sobre la acción leishmanicida,²¹ trypanocida¹⁵ y antimalárica^{22,14} de diversas especies de *Solanum*. En este trabajo evaluamos la actividad anti-plasmodial de extractos de varios órganos de tres especies de *Solanum* para las cuales no existen antecedentes de estudios similares (*S. myriacanthum*, *S. seaforthianum* y *S. umbellatum*). Hasta el momento solo *S. nudum*,²² *S. americanum*,²³ *S. surattense*²⁴ y, en el presente estudio, *S. myriacanthum* y *S. seaforthianum* muestran actividad anti-plasmodial. Entre los compuestos activos frente a *Plasmodium* aislados de especies del género *Solanum* sobresalen glicoalcaloides,^{15,24} esteroides²² y una sapogenina esteroideal.¹⁶ Las sapogeninas y saponinas esteroidales están presentes en muchas especies de *Solanum*.¹¹ Lo mismo ocurre con los alcaloides esteroidales cuyo contenido es muy elevado en este género, entre ellos 118 glicoalcaloides y 115 no glicosilados o alcalinas.¹¹ La potente actividad y buena selectividad exhibida por el extracto de tallos de *S. seaforthianum*, así como, el hecho de ser una especie nativa de nuestro país, de relativa abundancia y sinántropa motivan la continuidad de su investigación hasta determinar sus principios activos.

Datura es un género de plantas herbáceas que cuenta con 12 especies y un híbrido.²⁵ Incluye numerosas especies utilizadas como medicinales. Extractos de plantas de este género muestran actividades farmacológicas importantes.²⁶ Se demostró acción antibacteriana,²⁶ antifúngica,²⁶ antihelmíntica²⁶ y muy reciente se detectó actividad frente a *Leishmania major*.²⁷ Es posible, que este trabajo sea el primer hallazgo de acción esquizotóxica en una especie de *Datura* y, en lo particular, en *D. stramonium*. El género *Datura* cobró importancia desde el punto de vista medicinal y toxicológico por la presencia de alcaloides tropánicos, sin embargo, se aisló un pirrol con actividad antifúngica²⁸ y lactonas esteroidales con destacada acción anti-proliferativa²⁹ de la especie *D. metel*. Algunos compuestos de este último grupo, aislados de especies de otros géneros de Solanaceae, muestran actividad frente a diferentes especies de *Plasmodium*³⁰ por lo que la presencia de compuestos similares en *D. stramonium* pudiera justificar la actividad detectada en nuestro estudio.

Solanandra comprende solamente 10 especies de plantas.²⁵ No se halló información sobre propiedades farmacológicas de las especies de este género. No obstante, las hojas de *S. longiflora* parecen contener metabolitos activos frente a *Plasmodium*. *P. solanaceus* pertenece a un género compuesto por 74 especies.²⁵ Algunas de ellas, se destacan por ser fuente de metabolitos secundarios con propiedades antitumorales.¹² También son significativos los estudios sobre la actividad antibacteriana.^{31,32} Las propiedades anti-protzoarias solo se han investigado en extractos y metabolitos de *P. angulata* y *P. minima*. La primera especie demostró acción frente a *P. falciparum*,^{30,33} *P. berghei*,³³ *T. cruzi*,¹³ *T. brucei rhodesiense*,³⁴ *L. amazonensis*³⁵ y *L. braziliensis*.³⁵ Mientras, *P. minima* exhibió actividad frente a *L. major*.³⁵ El extracto de la parte aérea de *P. solanaceus* mostró acción anti-plasmodial poco selectiva. Un resultado similar se obtuvo al evaluar extractos de hojas de *P. angulata*; no obstante, los extractos de esta especie inhibieron la parasitemia *in vivo* en un modelo de malaria de roedores.³³ No se encontró información de algún

estudio fitoquímico de *P. solanaceus* se sepudiera sugerir la presencia de compuestos similares a las fisalinas anti-plasmodiales²⁹ que justifiquen la actividad detectada.

En el género *Brunfelsia* se reconocen cerca de 42 especies.¹⁰ Entre los escasos estudios farmacológicos de especies de este género consta la actividad leishmanicida de una saponina de la especie *B. grandiflora*.³⁶ Sin embargo, no se encontró ningún antecedente de actividad anti-plasmodial en este grupo de plantas. El estudio de los extractos de las hojas de *B. undulata* reveló la presencia de metabolitos activos frente a *P. berghei*.

Con este trabajo se demostró la actividad anti-plasmodial de extractos de cinco especies de Solanaceae sin antecedentes de esta acción farmacológica. Se identificó un extracto con potente actividad esquizotónica frente a *P. berghei* y con buena selectividad. Este extracto etanólico de tallos de *S. seaforthianum* se evaluará *in vivo* y se investigarán sus componentes activos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. WORLD MALARIA REPORT; 2013. Disponible en: www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/wmr13_resumen_puntos_clave.pdf.
2. Bathurst I, Hentschel C. Medicines for Malaria Venture: sustaining antimalarial drug development. Trends Parasitol. 2006;22:301-7.
3. Vial H, Taramelli D, Boulton IC, Ward SA, Doerig C, Chibali K, et al. CRIMALDDI: platform technologies and novel anti-malarial drug target. Malaria J. 2013;12:396.
4. Jambou R, El-Assaad F, Combes V, Grau GE. *In vitro* cultures of *Plasmodium berghei*-ANKA maintains infectivity of mouse erythrocyte inducing cerebral malaria. Malaria J. 2011;10:346.
5. Ploemen IH, Prudêncio M, Douradinha BG, Ramesar J, Fonager J, van Gemert GJ, et al. Visualization and quantitative analysis of the rodent malaria liver stage by real time imaging. PLoS One. 2009;4:e7881.
6. Mendiola J, Regalado EL, Fernández-Calienes A, Acuña D, Rojas L, Valdés O. Actividad antiplasmodial *in vivo* de las esponjas *Mycalaxissima* y *Clathriaechinata*. Rev Cubana Med Trop. 2012;64:244-55.
7. Fernández-Calienes A, Mendiola J, Scull R, Gutiérrez Y, Acuña D, Payrol JA, et al. *In vitro* antimalarial activity and cytotoxicity of some selected Cuban medicinal plants. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2010;52:197-201.
8. Fernández-Calienes A, Mendiola J, Acuña D, Caballero Y, Scull R, Gutiérrez Y, et al. Actividad antimalárica y citotoxicidad de extractos hidroalcohólicos de seis especies de plantas usadas en la medicina tradicional cubana. Rev Cubana Med Trop. 2011;63:52-7.

9. Fernández-Calienes A, Mendiola J, Acuña D, Scull R, Gutiérrez Y. Actividad antimalárica de un extracto hidroalcohólico de *Bixaorellana* L. Rev Cubana MedTrop. 2011;63:254-8.
10. León H, Alain H. Flora de Cuba. Contribuciones Ocasionales del Museo de Historia Natural Colegio La Salle 16, P. Fernández and Co.La Habana, Cuba. 1957;4:556.
11. Eich E. Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary metabolites. Ed: Springer. Universidad de Berlín; 2008.
12. Agata K, Kusiak J, Stępień B, Bergier K, Kuźniak E. Bioactive secondary metabolites produced by plants of the genus *Physalis*. Postepy Hig Med Dosw. 2010;64:665-73.
13. Meira CS, Guimarães ET, Bastos TM, Moreira DR, Tomassini TC, Ribeiro IM, et al. Physalins B and F, seco-steroids isolated from *Physalisangulata* L., strongly inhibit proliferation, ultrastructure and infectivity of *Trypanosomacruzi*. Parasitology. 2013;140:1811-21.
14. Pabón A, Escobar V, Vargas E, Cruz V, Notario R, Blair S, et al. Diosgenone synthesis, antimalarial activity and QSAR of analogues of this natural product. Molecules. 2013;18:3356-78.
15. Moreira RR, Martins GZ, Magalhães NO, Almeida AE, Pietro RC, Silva FA, et al. *In vitro* trypanocidal activity of solamargine and extracts from *Solanumpalinacanthum* and *Solanumlycocarpum* of Brazilian cerrado. An Acad Bras Cienc. 2013;85:903-7.
16. Huber W, Koella JC. A comparison of three methods of estimating EC₅₀ in studies of drug resistance of malaria parasites. Acta Trop. 1993;82:257-61.
17. Schlichtherle M, Wahlgren M, Perlmann H, Scherf A. Methods in malaria research, 3rd ed. Malaria Research and Reference Reagent Resource Center. Virginia; 2000.
18. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. J Immunol Methods. 1983;65:55-63.
19. Al-Musayeib NM, Mothana RA, Matheeussen A, Cos P, Maes L. In vitro antiplasmodial, antileishmanial and antitrypanosomal activities of selected medicinal plants used in the traditional Arabian Peninsular region. BMC Complement Alternat Med. 2012;12:49.
20. Knapp S. A revision of the Dulcamaroid Clade of *Solanum* L. (Solanaceae). PhytoKeys. 2013;22:1-432.
21. Mothana RA, Al-Musayeib NM, Al-Ajmi MF, Cos P, Maes L. Evaluation of the *in vitro* antiplasmodial, antileishmanial, and antitrypanosomal activity of medicinal plants used in Saudi and Yemeni traditional medicine. Evid Based Complement Alternat Med. 2014;2014:905639.

22. García-Huertas P, Pabón A, Arias C, Blair S. Evaluación del efecto citotóxico y del daño genético de extractos estandarizados de *Solanum nudum* con actividad anti-*Plasmodium*. *Biomédica*. 2013;33:78-87.
23. Cáceres A, López B, González S, Berger I, Tada I, Maki J, et al. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I. Screening of activity to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 native plants. *J Ethnopharmacol*. 1998;62:195-202.
24. Chen Y, Li S, Sun F, Han H, Zhang X, Fan Y, et al. *In vivo* antimalarial activities of glycoalkaloids isolated from Solanaceae plants. *Pharm Biol*. 2010;48:1018-24.
25. Kew and Missouri Botanical Garden. The plant list. 2010. [citado 18 de enero de 2015]. Disponible en: www.theplantlist.org/tpl/search?q=.
26. Gaire BP, Subedi L. A review on the pharmacological and toxicological aspects on *Daturastramonium*. *J Integr Med*. 2013;11:73-9.
28. Dabur R, Ali M, Singh H, Gupta J, Sharma GL. A novel antifungal pyrrole derivative from *Daturametelleaves*. *Pharmazie*. 2004;59:568-70.
30. Mangwala Kimpende P, Lusakibanza M, Mesia K, Tona L, Tits M, Angenot L, et al. Isolation, pharmacological activity and structure determination of physalin B and 5 β ,6 β -epoxyphysalin B isolated from Congolese *Physalis angulata* L. *Acta Crystallogr C*. 2013;69:1557-62.
31. Gibson KA, Reese RN, Halaweish FT, Ren Y. Isolation and characterization of a bactericidal withanolide from *Physalisvirginiana*. *Pharmacogn Mag*. 2012;8:22-8.
32. Helvacı S, Kökdil G, Kawai M, Duran N, Duran G, Güvenç A, et al. Antimicrobial activity of the extracts and physalin D from *Physalisalkekengi* and evaluation of antioxidant potential of physalin D. *Pharm Biol*. 2010;48:142-50.
34. Freiburghaus F, Kaminsky R, Nkunya MH, Brun R. Evaluation of African medicinal plants for their *in vitro* trypanocidal activity. *J Ethnopharmacol*. 1996;55:1-11.
35. Choudhary MI, Yousuf S, Samreen, Ahmed S, Atta-Ur-Rahman. New leishmanicidal physalins from *Physalissminima*. *Nat Prod Res*. 2007;21:877-83.
36. Fuchino H, Sekita S, Mori K, Kawahara M, Satake M, Fiuchi F. A new leishmanicidal saponin from *Brunfelsia grandiflora*. *Chem Pharm Bull*. 2008;56:93-6.

Recibido: 3 de febrero de 2015.

Aceptado: 10 de junio de 2015.

Aymé Fernández-Calienes Valdés. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½ Apartado 601. La Lisa, La Habana, Cuba.

Correo electrónico: ayme@ipk.sld.cu