

Actividad antiplasmodial y antibacterial in vitro de extractos de la corteza de *Erythrina fusca* Lour. (Fabaceae)

Antiplasmodial and antibacterial *in vitro* activity from extracts the bark of *Erythrina fusca* Lour. (Fabaceae)

Dony's Jiménez-Acosta^{1, 4}, Rita Márquez-Vizcaíno^{1, 5}, Catalino de la Rosa-Torres^{2, 6}, Adriana Pabón-Vidal^{3, 7}

Resumen

El tamizaje fitoquímico del extracto en etanol de la corteza seca de *Erythrina fusca* Lour. (Fabaceae), determinó la presencia de alcaloides, flavonoides, terpenos y quinonas. Las fracciones en cloroformo y acetona del extracto en etanol de la corteza seca de *E. fusca*, presentaron actividad antiplasmodial in vitro en las cepas NF54 y FCB-2 de *Plasmodium falciparum*, con concentración inhibitoria (IC₅₀) de 12,95, 18,02, 16,60 y 28,36 µg/ml y porcentajes de inhibición promedio máximo de 70,72, 69,74, 87,07 y 85,73%, respectivamente. El extracto en etanol mostró efecto antibacteriano in vitro a la concentración de 20 mg/ml sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* y la fracción en cloroformo a la misma concentración sobre *Bacillus subtilis*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: *Bacillus subtilis*, *Erythrina fusca*, *Plasmodium falciparum*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

Abstract

The phytochemical screening of ethanol extract of the dried bark of *Erythrina fusca* Lour. (Fabaceae), determined the presence of alkaloids, flavonoids, terpenes, and quinones. The chloroform and acetone fractions of ethanol extract of the dried bark of *E. fusca*, presented a moderate antiplasmodial activity in NF54 and FCB-2 strains of *Plasmodium falciparum* with IC₅₀ of 12.95, 18.02, 16.60, and 28.36 µg/ml, and a percentages inhibition of maximum average 70.72, 69.74, 87.07, and 85.73%, respectively. The ethanol extract showed inhibition at the concentration of 20 mg/ml for the strain of *Staphylococcus aureus* and chloroform fraction at the same concentration on *Bacillus subtilis*, *Pseudomona aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*.

Key words: *Bacillus subtilis*, *Erythrina fusca*, *Plasmodium falciparum*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS), registró que en el año 2013 se presentaron a nivel mundial 198 millones de casos clínicos de malaria, de los cuales 584.000 fueron mortales. Además, informó que 3.200 millones de personas viven en regiones de alto riesgo para su transmisión, lo que hace de esta enfermedad la principal causa de morbilidad

y mortalidad en más de 90 países ubicados en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, especialmente en la región al sur del Sahara en África, el sudeste de Asia y Latinoamérica (WHO 2014). Esta enfermedad infecciosa es producida por parásitos del género *Plasmodium*; su tratamiento ha sido realizado con diversos medicamentos que actúan sobre los estadios eritrocíticos del parásito, entre los cuales se encuentra la quinina, un alcaloide aislado a

Recibido: agosto 2015; aceptado: marzo 2016 (Received: August 2015; accepted: March 2016).

¹ Grupo de Investigación en Productos Naturales (GIPNUS), Departamento de Biología, Facultad de Educación y Ciencias, Universidad de Sucre. Sincelejo (Sucre), Colombia.

² Grupo de Investigación Fitoquímica (GIF), Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad del Atlántico. Barranquilla (Atlántico), Colombia.

³ Grupo de Investigación Malaria, Universidad de Antioquia. A. A. 1226. Medellín (Antioquia), Colombia.

Correos electrónicos: ⁴ <dja141@yahoo.es>; ⁵ <fitorita@yahoo.es>; ⁶ <catalinodelarosa@mail.uniatlantico.edu.co>; ⁷ <adriana.pabon@udea.edu.co>.

partir de especies del género *Cinchona* (Rubiaceae) y otros derivados sintéticos desarrollados posteriormente que han mostrado ser más efectivos, menos tóxicos y de bajo costo (Arango et al. 2006).

La resistencia de los *Plasmodium* a los fármacos comúnmente utilizados para el tratamiento, se constituye en uno de los principales obstáculos para el control de la enfermedad en muchas partes del mundo (Carrillo y Díaz 2005). Por ello, es necesario desarrollar nuevas sustancias con mayor efectividad antiparasitaria y con menos efectos adversos, recurriendo de esta manera a la investigación en productos naturales apoyada en los conocimientos tradicionales, que distintos grupos humanos han acumulado a lo largo de generaciones, sobre los efectos curativos de las plantas (Taborda y Cuca 2005). De esta forma, el reconocimiento y validación de la medicina tradicional con toda su carga de experiencia práctica, tradiciones, usos y costumbres, pueden conducir al desarrollo de nuevos medicamentos antimaláricos derivados de plantas. Por lo tanto, aquellas plantas que presentan mayor frecuencia de uso en la medicina tradicional por sus propiedades antimaláricas, deben ser estudiadas con el fin de determinar su eficacia y evaluar su potencial como fuente importante de nuevos medicamentos (Carrillo y Díaz 2005).

El género *Erythrina* (Fabaceae), ha sido ampliamente usado en la medicina tradicional para el tratamiento de varias enfermedades, especialmente infecciones microbianas (Pillay et al. 2001). Estas plantas son conocidas por ser una fuente rica de alcaloides bioactivos (Pino et al. 2004), flavonoides, flavonas, isoflavonas y pterocarpanos (Chacha et al. 2005). Algunos de estos flavonoides encontrados exponen una variedad de actividades biológicas, como antimicrobiana (Chacha et al. 2005, Sato et al. 2003, Tanaka et al. 2002, Yenesew et al. 2005), anti-inflamatoria (Njamen et al. 2003) y antiplasmodial (Andayi et al. 2006).

Por otra parte, con base en la gran diversidad de estas especies vegetales, las cuales pueden poseer amplio potencial bioquímico, es importante valorar su efecto biológico por medio de la investigación, ya que muchas plantas contienen sustancias que podrían permitir nuevos usos, especialmente en la medicina (Campos et al. 2005), en el tratamiento de muchas enfermedades como las transmitidas por vectores. La búsqueda de nuevas fuentes en estas sustancias, preferiblemente de origen vegetal, se ha convertido en un reto para la comunidad científica, porque además de aprovechar de modo razonable los recursos naturales, ayudaría a mejorar las condiciones de vida (Puertas et al. 2009).

Dada la efectividad que tienen las plantas del género *Erythrina* como fuente medicinal, se planteó investigar con el propósito de documentar la importancia relativa de esta especie vegetal y contribuir al conocimiento de la flora propia de la región; razón por la cual se evaluó la actividad antiplasmodial y antibacteriana in vitro del extracto en etanol y fracciones de la corteza seca de *Erythrina fusca* Lour. contra parásitos intracelulares de *Plasmodium falciparum* resistentes y sensibles a cloroquina y bacterias Gram positivas *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*, y Gram negativas *Pseudomonas aeruginosa*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del material vegetal. El material vegetal (corteza), fue recolectado en el campus de la Universidad de Sucre sede puerta roja, área urbana de la ciudad de Sincelejo, a 212 m. s. n. m. con una temperatura media de 28 °C. La recolección se realizó durante la época de floración (enero-febrero), en horas de la tarde. La especie vegetal fue identificada como *Erythrina fusca* Loureiro; un ejemplar se encuentra depositado en el Herbario de la Universidad de Sucre bajo el número 364798. El material vegetal en buen estado fue seleccionado, secado a temperatura ambiente durante 15 días y posteriormente sometido a un proceso de molienda.

Proceso de extracción. Se extrajeron por percolación 500 g del material vegetal (corteza) seca y molida con etanol al 96% a temperatura ambiente durante 8 días. El extracto obtenido fue filtrado y concentrado a presión reducida y secado al vacío sin calor (Mesa et al. 2007).

Identificación cualitativa de metabolitos secundarios. El reconocimiento de los metabolitos secundarios presentes se realizó tomando 10 g de extracto seco y otros 15 g de extracto fueron sometidos a extracción sólido-líquido con cloroformo y acetona obteniéndose dos fracciones, las cuales fueron monitoreadas por cromatografía en capa delgada revelando las placas con una solución de vainillina/ H_2SO_4 (Mesa et al. 2007).

Ensayo de citotoxicidad. El extracto y fracciones fueron evaluados por el micrométodo enzimático MTT bromuro de 3-(4,5 dimetilazol-2-il)-2-5-difeniltetrazolio en células promonocíticas humanas U-937, siguiendo la metodología descrita por Mosmann (1983), el cual revela daños celulares a nivel mitocondrial. El MTT que es de color amarillo es reducido por las células metabólicamente activas, en parte por la acción de enzimas deshidrogenasas, generando

equivalente reducidos tales como NADH y NADPH que dan como resultado la formación de cristales de formazán, un compuesto de coloración violeta que es solubilizado y cuantificado por espectrofotometría a 570 nm. El ensayo fue realizado por triplicado, y los resultados se analizaron con el programa estadístico Graphpad Prism para obtener las concentraciones citóticas 50 (CC_{50}).

Actividad antiplasmodial. Se determinó la actividad antiplasmodial del extracto y de las fracciones de acuerdo al método de fluorescencia con SYBR GREEN (Smilkstein et al. 2004). Las cepas del parásito *P. falciparum* fueron cultivadas siguiendo el método descrito por Trager y Jensen (1976) y modificado por el grupo de investigación Malaria de la Universidad de Antioquia (2004). La fluorescencia se midió en un espectrofluorómetro (excitación 485 nm y emisión 538 nm). El resultado de la actividad antiplasmodial se determinó mediante el cálculo del porcentaje de inhibición del crecimiento de los parásitos para cada concentración de los extractos. La concentración inhibitoria del 50% (IC_{50} ; concentración que inhibe el 50% del crecimiento de los parásitos) se calculó con el programa Graphpad Prism versión 5.0.

Evaluación de la actividad antibacterial. Una vez realizada la prueba de sensibilidad de los microorganismos *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (cepas ATCC) frente a extracto y fracciones, se determinó la actividad antibacterial por el método de difusión en agar, evaluando las concentraciones de 5, 20, 40 y 60 mg/ml, usando como control negativo dimetilsulfóxido (**DMSO**) y amikacina (5 mg/ml) como control positivo. El porcentaje del efecto inhibitorio relativo de cada extracto respecto al control positivo se calculó de acuerdo a Márquez et al. (2005):

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ensayos de caracterización cualitativa realizados al extracto en etanol de la corteza seca de *E. fusca*, indican la presencia de metabolitos secundarios tipo alcaloides, flavonoides, terpenos y quinonas, los cuales se encuentran registrados dentro de la fitoquímica del género *Erythrina* (Calle et al. 1997, Chacha et al. 2005). Estos compuestos, exhiben interesantes actividades biológicas como antimicrobiana (Chacha et al. 2005, Sato et al. 2003, Tanaka et al. 2002, Yenesew et al. 2005), anti-inflamatoria (Njamen et al. 2003) y antiplasmodial (Andayi et al. 2006).

La citotoxicidad y la actividad de las fracciones en cloroformo y acetona se muestran en la tabla 1. Los resultados muestran que la fracción clorofórmica es más tóxica que la fracción en acetona. Frente a la cepa NF54 de *P. falciparum* sensible a la cloroquina muestra porcentaje de citotoxicidad de 12,95 $\mu\text{g/ml}$ que le atribuye actividad moderada de acuerdo al criterio de clasificación de Deharo et al. (2000) quienes sugieren que valores de $IC_{50} > 10 \mu\text{g/ml}$ son clasificados como moderadamente activo.

El efecto antiplasmodial in vitro de los extractos de la corteza seca de *E. fusca* no ha sido establecido anteriormente; estos resultados, enfatizan la importancia de evaluar nuevas drogas antimaláricas a partir de un enfoque etnobotánico, basados en el uso tradicional de las plantas medicinales. Además, contribuyen a ampliar el conocimiento de las posibles propiedades o potencialidades terapéuticas que podemos encontrar en nuestra flora para el tratamiento de algunas patologías comunes debido a que son mucho más económicas y accesibles; no existen registros que indiquen resistencia de los extractos totales de las plantas, posiblemente debido a la acción sinérgica de

Tabla 1. Citotoxicidad (células U-937) y actividad antiplasmodial de las fracciones a partir del extracto en etanol de la corteza de *Erythrina fusca* (Fabaceae) en las cepas NF54 (sensible) y FCB-2 (resistente) de *Plasmodium falciparum* [los valores de CC_{50} ($IC_{95\%}$)] están expresados en $\mu\text{g/ml}$; % IPM = promedio del porcentaje de inhibición máximo obtenido con la concentración más alta; IS = Índice de selectividad el cual es la relación entre toxicidad y actividad en la cepa resistente a la cloroquina; * = datos de actividad y toxicidad de la cloroquina expresados en nM)

Fracciones	Citotoxicidad	NF54		FCB-2		IS
	CC_{50} ($IC_{95\%}$)	CC_{50} ($IC_{95\%}$)	% IPM	CC_{50} ($IC_{95\%}$)	% IPM	
Cloroformo	12,5 (10,5-15,06)	12,9 (11,7-14,4)	70,7	16,6 (15,7-17,6)	87,07	0,80
Acetona	29,7 (15,5-30,10)	18,0 (15,7-20,7)	69,7	28,4 (26,0-30,9)	85,73	1,00
Cloroquina*	1374,4 (1250,5-1530,10)	7,2 (3,7 -9,1)	89,3	135,2 (113,0-174,2)	92,40	10,20

los diversos constituyentes; y es posible que la fitoterapia produzca menos efectos adversos que la quimioterapia (Willcox y Bodeker 2000).

La actividad antiplasmodial de algunas especies de este mismo género ha sido investigada previamente. Yenesew et al. (2004) encontraron que el extracto en acetato de etilo de la corteza de *E. abyssinica* mostró actividad antiplasmodial in vitro con IC_{50} de $7,9 \pm 1,1$ y $5,3 \pm 0,7$ $\mu\text{g/ml}$ en las cepas D6 (sensible a CQ) y W2 (resistente CQ) de *P. falciparum*, respectivamente. A partir de este extracto, lograron aislar una nueva chalcona: 20,3,4,40-tetrahidroxi-5-prenylchalcona y una nueva flavanona: 40,7-dihidroxi-30-metoxi-50-prenylflavanona. Estos compuestos parecen ser los responsables de la actividad antiplasmodial del extracto. Por otra parte, Andayi et al. (2006) encontraron que los extractos en acetona de la corteza de la raíz y del tallo de *E. saculeuxii* presentaron actividad antiplasmodial

en las cepas D6 (para la raíz $IC_{50} = 1,34 \pm 0,3$ $\mu\text{g/ml}$ y tallo $IC_{50} = 6,3 \pm 1,4$ $\mu\text{g/ml}$) y W2 ($IC_{50} = 2,2 \pm 0,6$ $\mu\text{g/ml}$ e $IC_{50} = 3,8 \pm 0,9$ $\mu\text{g/ml}$) de *P. falciparum*. Según los investigadores, la actividad de los extractos es atribuida a los flavonoides e isoflavonoides, de los cuales, lograron aislar la 7-hidroxi-4 'metoxi-3'-prenylisoflavona.

Evaluación de la actividad antibacterial. Los resultados de la prueba de sensibilidad bacteriana revelaron que *B. subtilis*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* presentaron inhibición de crecimiento en el extracto etanólico (EtOH) y la fracción en cloroformo (CHCl_3), siendo estos microorganismos y extractos seleccionados para el ensayo de difusión en agar. Las tablas 2 y 3 muestran los promedios de los diámetros del halo de inhibición y los porcentajes de inhibición relativos de las bacterias en la prueba de difusión en agar con el extracto en etanol y fracción en cloroformo.

Tabla 2. Actividad antimicrobiana in vitro de diferentes concentraciones del extracto en etanol de la corteza de *Erythrina fusca* (Fabaceae) [*p. h. I* = promedio del diámetro del halo de inhibición en milímetros; % *I* = promedio de inhibición; Amikacina⁺ = 5 mg/ml, control positivo; DMSO⁻ = dimetilsulfóxido, control negativo]

Concentración (mg/ml)	Extracto etanólico					
	<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>		<i>B. subtilis</i>	
	<i>p. h. I</i>	% <i>I</i>	<i>p. h. I</i>	% <i>I</i>	<i>p. h. I</i>	% <i>I</i>
DMSO ⁻	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	9,80	36,40	9,30	36,40	4,50	29,20
20	13,70	51,20	23,30	73,20	7,80	43,00
40	19,63	73,22	18,10	64,40	8,80	51,90
60	17,54	64,43	12,80	51,20	9,30	55,00
Amikacina ⁺	26,81	100,00	29,40	100,00	16,90	100,00

Tabla 3. Actividad antimicrobiana in vitro de la fracción clorofórmica preparada a partir del extracto en etanol de la corteza de *Erythrina fusca* (Fabaceae) [*p. h. I* = promedio del diámetro del halo de inhibición en milímetros; % *I* = promedio de inhibición; Amikacina⁺ = 5 mg/ml, control positivo; DMSO⁻ = dimetilsulfóxido, control negativo]

Concentración (mg/ml)	Fracción clorofórmica					
	<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>		<i>B. subtilis</i>	
	<i>p. h. I</i>	% <i>I</i>	<i>p. h. I</i>	% <i>I</i>	<i>p. h. I</i>	% <i>I</i>
DMSO ⁻	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	13,60	51,60	14,20	47,31	9,30	55,60
20	22,40	84,80	27,00	90,00	10,30	84,80
40	22,90	86,80	23,20	77,12	14,10	75,80
60	21,80	82,70	20,10	66,60	12,60	61,90
Amikacina ⁺	26,40	100,00	30,10	100,00	16,70	100,00

El extracto etanólico y la fracción clorofórmica mostraron mayores halos de inhibición en *S. aureus* (23,29 mm) y (27,04 mm) a la concentración de 20 mg/ml y *P. aeruginosa* (19,63 mm) y (22,94 mm) a la concentración de 40 mg/ml, respectivamente. El análisis de varianza que se aplicó a estos resultados indica que existen diferencias altamente significativas ($P \leq 0,0001$) entre los extractos y las concentraciones evaluadas. La actividad fue positiva en todos los tratamientos, teniendo mayor efecto inhibitorio la fracción clorofórmica sobre las bacterias *B. subtilis*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* a las diferentes concentraciones ensayadas. Estos resultados positivos coinciden con los obtenidos por Calle et al. (1997), quienes encontraron que los extractos evaluados (etanólico, cloruro de metileno, acetato de etilo e isobutanólico), fueron activos frente a *B. subtilis*, *K. pneumoniae*, *S. typhymurium* y *S. aureus*. Se conoce que la actividad antibacteriana está relacionada con los metabolitos secundarios tipo terpenos, alcaloides y flavonoides (Prego et al. 1999); los que de acuerdo al tamizaje fitoquímico realizado al extracto de la corteza seca de *E. fusca* se encuentran presentes en este.

CONCLUSIONES

La fracción clorofórmica del extracto de la corteza seca de *E. fusca* es más tóxica que la fracción en acetona. Frente a la cepa NF54 muestra porcentaje de citotoxicidad de 12,95 µg/ml que le atribuye actividad moderada frente a esta cepa de acuerdo al criterio de clasificación de Deharo et al. (2000) quienes sugieren que un valor de $IC_{50} > 10$ µg/ml es clasificado como moderadamente activo. La fracción clorofórmica o de mediana polaridad presentó el mayor porcentaje de inhibición relativo sobre *S. aureus* (90,00%) y *B. subtilis*, (84,80%), a la concentración de 20 mg/ml.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el apoyo financiero de la Universidad de Sucre y Universidad de Antioquia (a través de su programa estrategia de sostenibilidad). Los autores agradecen de forma especial a Silvia Blair Trujillo, integrante del grupo de investigación Malaria de la Universidad de Antioquia por la lectura crítica del documento.

REFERENCIAS

- Andayi A, Yenesew A, Derese S, Midiwo J, Gitu P, Jondiko O, Akala H, Liyala P, Wangui J, Waters N, Heydenreich M, Peter M. 2006. Antiplasmodial flavonoids from *Erythrina saculeuxii*. *Planta Médica*, 72: 187-189.
- Arango G, Osorio E, Montoya G, Muñoz K. 2006. Actividad antiplasmodial de alcaloides aporfínicos de *Rollinia pittieri* y *Pseudomalmea boyacana* (Annonaceae). *Vitae*, 13: 49-54.
- Calle J, Pinzón R, Ospina L, Medina N, Carrión A, Bautista E. 1997. Alcaloides isoquinolínicos de la corteza y flores de *Erythrina fusca* Loureiro. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 26: 39-42.
- Campos C, Villalobos M. 2005. Evaluación de extractos vegetales sobre la germinación y desarrollo de semillas de maíz (*Zea mays*) [Tesis de licenciatura]. [Costa Rica]: Universidad Earth. p. 72.
- Carrillo T, Díaz A. 2005. Actividad antimalárica de extractos crudos de plantas en ratones infectados con *Plasmodium berghei*. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 47: 2-9.
- Chacha M, Bojase-Moleta G, Majinda R. 2005. Antimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of *Erythrina latissima*. *Phytochemistry*, 66: 99-104.
- Deharo E, Gautret P, Muñoz V, Sauvain M. 2000. Técnicas de laboratorio para la selección de sustancias antimaláricas. La Paz (Bolivia): Corporación Iberoamericana CYTED, Institut e recherché pour le développement IRD. p. 188.
- Márquez R, Mercado A, Vargas C, de la Rosa C. 2005. Actividad antibacteriana de *Pedilanthus tithymalooides* (L.) Poit (ultimorrial). *Actualidades Biológicas*, 27: 21-25.
- Mesa A, Sáez J, Blair S, Arango E. 2007. Actividad antiplasmodial de extractos de la planta *Calophyllum lucidum* (Clusiaceae). *Scientia Et Technica*, 13: 217-219.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journals of Immunology Methods*, 65: 55-63.
- Njamen D, Talla E, Mbafor J, Fomum Z, Kamanyi A, Mbanya J, Cerdá-Nicolás M, Giner R, Recio M, Ríos J. 2003. Anti-inflammatory activity of erycristagallin, a pterocarpene from *Erythrina mildbraedii*. *European Journal of Pharmacology*, 468: 67-74.
- Pillay C, Jäger A, Mulholland D, Van Staden J. 2001. Cyclooxygenase inhibiting and anti-bacterial activities of South African *Erythrina* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 74: 231-237.
- Pino S, Prieto S, Pérez M, Molina J. 2004. Género *Erythrina*: fuente de metabolitos secundarios con actividad biológica. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 23: 252-258.
- Prego M, Díaz J, Merino F. 1999. Actividad antifúngica de la capsicina frente a varios hongos fitopatógenos. Madrid (España): Memorias, XIII Reunión Nacional de Sociedad Española de Fisiología Vegetal. p. 172.

- Puertas M, Ríos J, Sáez J. 2009. Actividad antioxidante in vitro de extractos de tallos de *Polygala* sp. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 14: 1-12.
- Sato M, Tanaka H, Fujiwara S, Hirata M, Yamaguchi R, Etoh H, Tokuda C. 2003. Antibacterial property of isoflavonoids isolates from *Erythrina variegata* against cariogenic oral bacterial. Phytomedicine, 10: 427-433.
- Smilkstein M, Sriwilaijaroen N, Kelly JX, Wilairat P, Riscoe M. 2004. Simple and inexpensive fluorescence-based technique for high-throughput antimalarial drug screening. Antimicrobial Agents Chemotherapy, 48: 1803-1806.
- Taborda M, Cuca L. 2005. Alcaloides naturales con actividad biológica y el desarrollo de fármacos. Actualidades Biológicas, 27: 142.
- Tanaka H, Sato M, Fujiwara S, Hirata M, Etoh H, Takeuchi H. 2002. Antibacterial activity of isoflavonoids isolated from *Erythrina variegata* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Letter in Applied Microbiology, 35: 494-498.
- Trager W, Jensen J. 1976. Human malarial parasites in continue cultures. Science, 193: 673-675.
- WHO (World Health Organization). 2014. Guidelines for the treatment of malaria. [Internet]. 2^{da} ed. Geneva: World Health Organization. Fecha de acceso: día de mes de año. Disponible en: <<http://www.who.int>>.
- Willcox L, Bodeker G. 2000. Plant based malaria control: research initiative on traditional antimalarial methods. Parasitology Today, 16: 220-221.
- Yenesew A, Derese S, Midiwo J, Bii C, Heydenreich M, Peter M. 2005. Antimicrobial flavonoids from the stem bark of *Erythrina burttii*. Fitoterapia, 76: 469-472.