

**ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO
CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS
PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO:
Croton malambo karst y *Capparis
odoratissima* Jacq.**

Jose Antonio Espinosa Torres.
Estudiante

Fredyc Díaz Castillo. Q.F., MSc., PhD.
Director

Universidad de Cartagena
Facultad de Ciencias Farmacéuticas
Programa de Química Farmacéutica
2011



**ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO:
Croton malambo karst y *Capparis odoratissima* Jacq.**

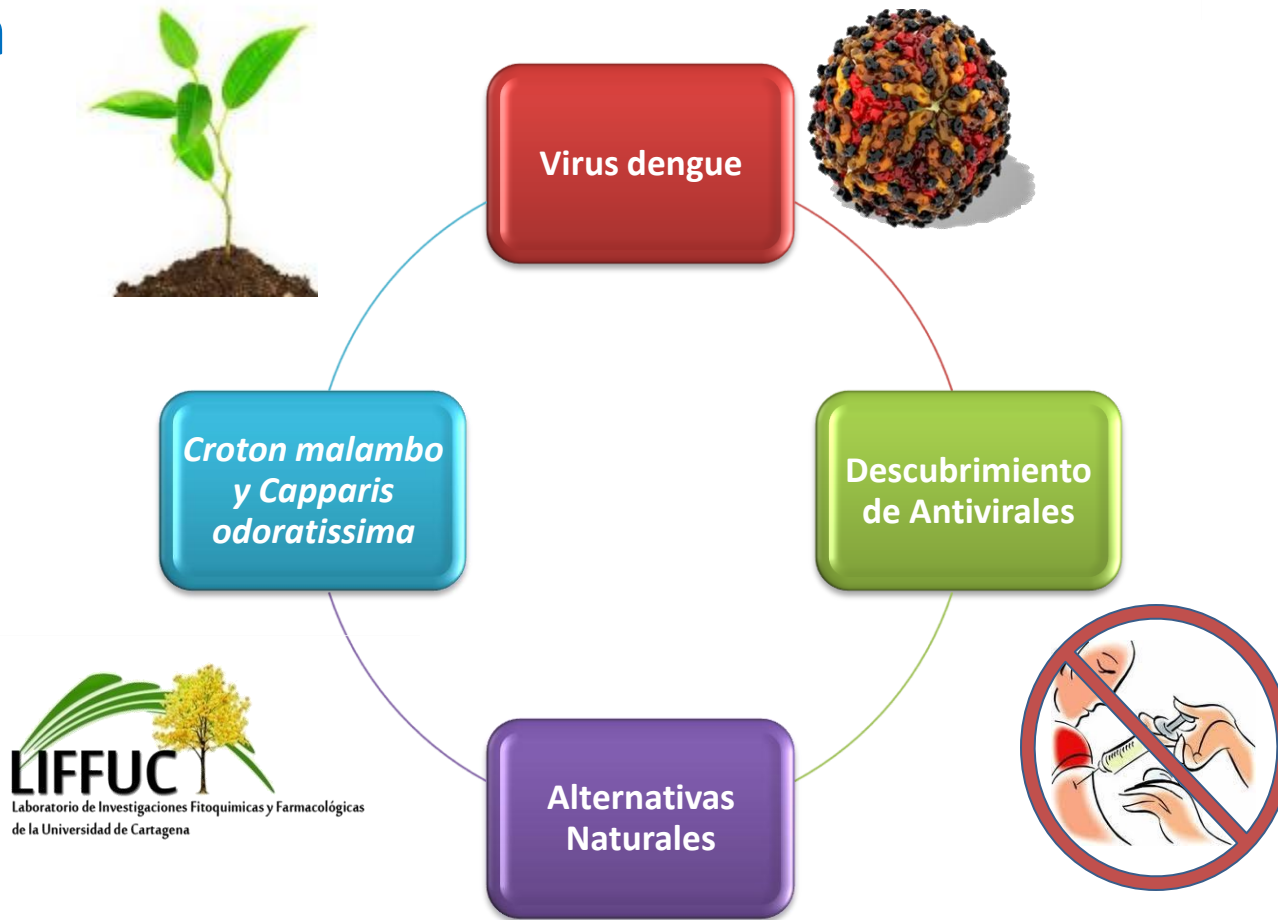
Contenido

1. Resumen
2. Introducción
3. Marco Teórico
4. Materiales y Métodos
5. Resultados y Discusión
6. Conclusiones
7. Recomendaciones
8. Bibliografía



ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Resumen



ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Introducción

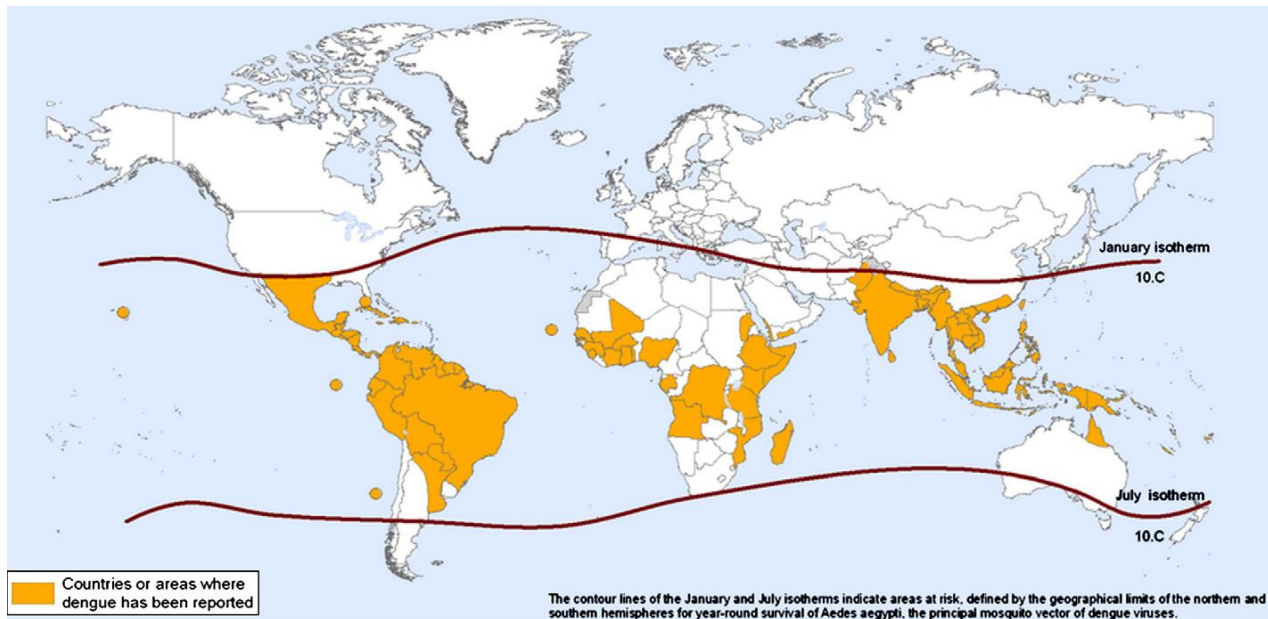


Figura 1. Distribución geográfica del Dengue y zonas de riesgo (OMS, 2010).

- En las últimas décadas la incidencia del dengue ha crecido de forma extraordinaria, por lo que es un problema de salud mundial.
- La OMS informa de que dos quintas partes de la población mundial están en riesgo de infección por dengue, con un aumento en el número anual de casos.
- El aumento de la incidencia y severidad de la enfermedad se atribuye en parte a la expansión geográfica del vector, el mosquito *Aedes aegypti*.

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Introducción

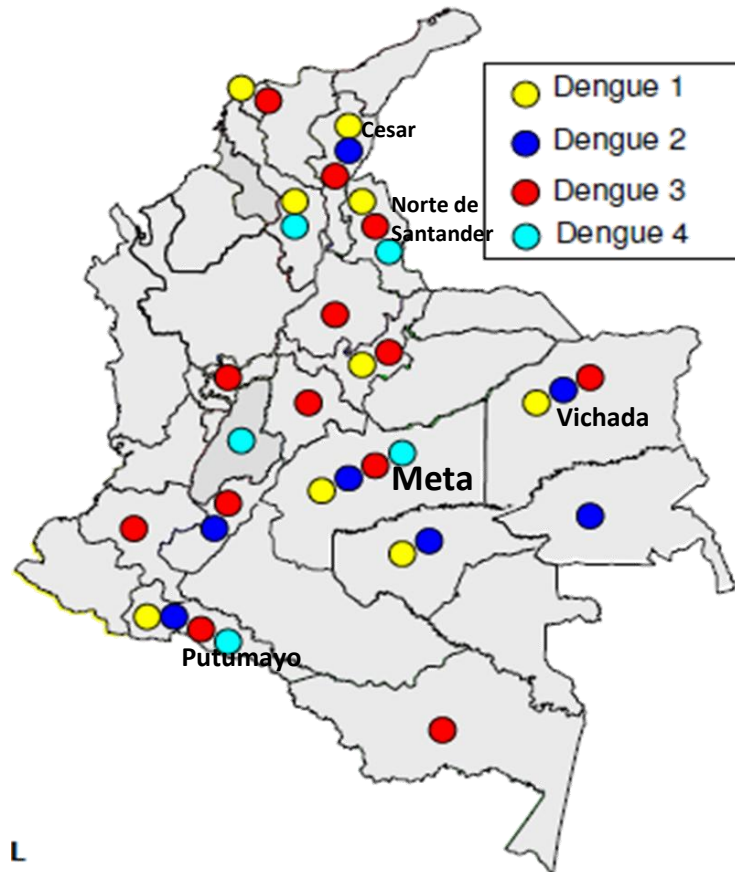


Figura 2. Distribución Geográfica de los serotipos del virus del dengue en Colombia (INS, 2008).

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Introducción

1977

1989

2001

2002

2005-2006

2007

2009

2011



El INS reporta 22.912 casos totales de dengue, los cuales se distribuyen en 21.898 (96%) casos dengue y 1014 (4%) de dengue grave.

asociada
esa época

serotipos ya estaban
circulando.

de
casos
le

43.227 casos,
11% fueron

Los cuatro

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Marco Teórico

GENERALIDADES DE *C. malambo* Karst.

REINO:	Plantae
DIVISIÓN	Magnoliophyta
CLASE	Equisetopsida C. Agardh
ORDEN	Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl
FAMILIA	Euphorbiaceae Juss
TRIBU	Crotoneae
GÉNERO	<i>Croton</i>
ESPECIE	<i>Croton malambo</i>



ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Marco Teórico

GENERALIDADES sobre *Capparis odoratissima* Jacq.

CLASE	Equisetopsida C. Agardh
SUBCLASE	Magnoliidae Novák ex Takht.
SUPERORDEN	Rosanae Takht.
ORDEN	Brassicales Bromhead
FAMILIA	Capparaceae Juss.
GENERO	Capparis L.
ESPECIE	<i>Capparis odoratissima</i> Jacq.



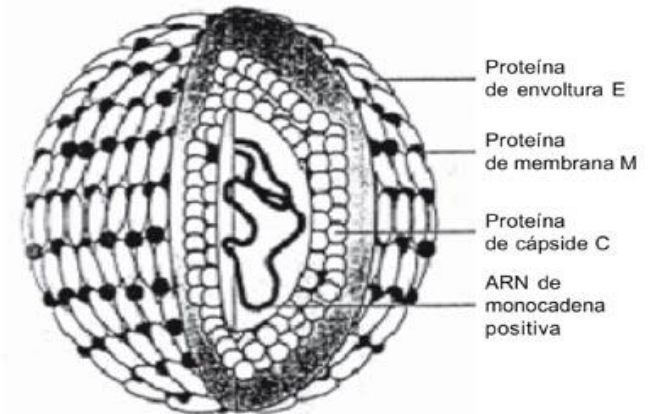
ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Marco Teórico

GENERALIDADES SOBRE EL VIRUS DEL DENGUE (DENV)

Clasificación del virus

Grupo:	IV (Virus ARN monocatenario positivo)
Familia:	Flaviviridae
Género:	Flavivirus



ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Marco Teórico

GENERALIDADES SOBRE EL VIRUS DEL DENGUE (DENV)

(Heparán sulfato, DC-SIGN, Hsp70, Hsp90)

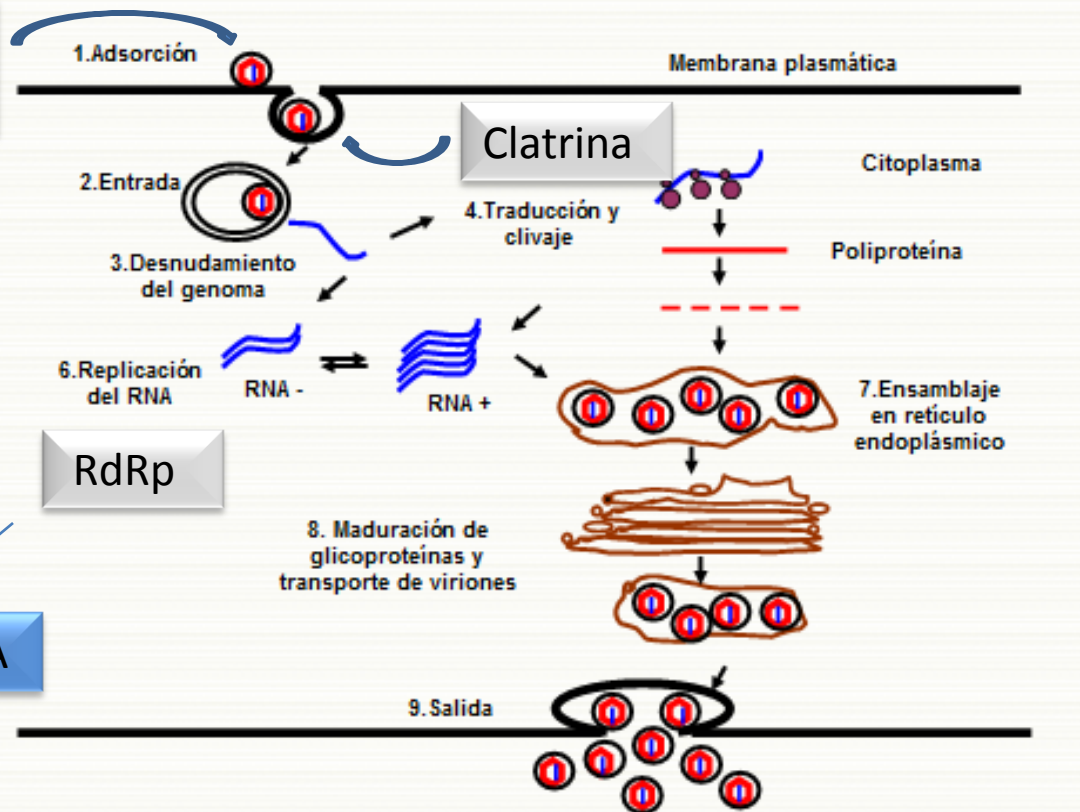


Figura 4. Ciclo replicativo del virus Dengue. (Damonte, 2006).

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo karst* y *Capparis odoratissima* Jacq.

Marco Teórico

Patogénesis de la enfermedad

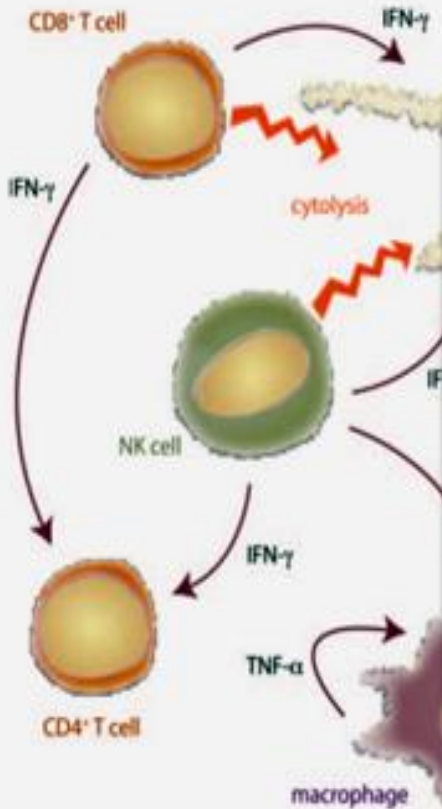
Posibles respuestas en el huésped...

- Respuesta inmunológica protectora o “Disregulación” caracterizada por elevada producción de citoquinas.
- Cambio de respuesta tipo TH1 (IFN Gamma, IL-2 y TNF- β) a TH2 (IL-4,5,10 y 13-anticuerpos) e inversión del índice CD4/CD8.
- Aumento de permeabilidad vascular, hemoconcentración y choque hipovolémico.

Células vasculares endoteliales

Factores de virulencia y respuesta inmune huésped

Pérdida de Plasma



ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Marco Teórico

Antecedentes sobre estudios contra virus del dengue.



Blancos →

Carga viral
Replicación viral
Adhesión y entrada

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Materiales y Métodos

Recolección del Material Vegetal

- Esta recolección fue realizada en los municipios de San Bernardo del Viento (Córdoba), en el año 2009.
- La identificación de las plantas se realizó en el jardín botánico Guillermo Piñeres de la ciudad de Cartagena de Indias, correspondiendo a los registros número JBC 793 para *C. Malambo* y JBC 1492 para *Capparis odoratissima*.



ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Materiales y Métodos

Preparación de Extractos

Especie	Órgano Vegetal	Cantidad de Material vegetal seco y molido (g)	Peso del extracto seco (g)	Rendimiento (%)
<i>Croton malambo</i>	Corteza (FD-I-12C)	1000	200 (JE-I-7A)	20
<i>Capparis odoratissima</i>	Hojas (FD-I-28H)	739	56.258 (JE-I-1A)	7.6

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Materiales y Métodos

Fraccionamiento del EXTRACTO ETANOLICO TOTAL de *Capparis odoratissima* (JE-I-1A)

- Partición líquido-líquido del extracto total de hojas de *C. odoratissima* (JE-I-1A).
- Fraccionamiento Cromatográfico de la fracción soluble en hexano del extracto total de hojas de *C. odoratissima* (JE-I-1C).



ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Materiales y Métodos

REALIZACION DE BIOENSAYOS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIVIRAL DE LOS EXTRACTOS Y FRACCIONES DE *C. malambo* y *C. odoratissima*

- **Mantenimiento de Cultivos Celulares**
Células VERO de mono verde africano y de insecto C6/36HT
- **Producción de Stock Virales**
National Institute for Biological Standards and Control (DENV-1,2,3 y 4)
- **Evaluación de La Concentración Citotóxica 50 (CC50) de Extractos y Fracciones de *C. malambo* y *C. odoratissima*.**
Método MTT
- **Evaluación de la Concentración Efectiva 50 (CE₅₀) de Extractos Y Fracciones de *C. malambo* y *C. odoratissima*.**
Detectada por ensayo de reducción de placa e inhibición de la producción de virus
- **Determinación del Índice de Selectividad de Extractos y Fracciones provenientes de *C. malambo* y *C. odoratissima*.**
 $CC\ 50/CE\ 50 = IS$

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Materiales y Métodos

TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR (TFP) DE EXTRACTOS Y FRACCIONES ACTIVAS.

Metabolito	Reacción	Interpretación
Alcaloides	S.R de Mayer	Turbidez suave (+), Turbidez definida (++) Precipitado coposo (+++)
	S. R. de Wagner	Precipitación escasa (+), Precipitación moderada (++) Precipitación abundante (+++)
	S.R de Dragendoff (CCD)	Manchas rojas o anaranjadas en un fondo amarillento
Taninos y Polifenoles	Gelatina 1%	Precipitación
	NaCl 10 %	Precipitación
	SR. FeCl ₃	precipitación/manchas azules, verdes o negras
Triterpenos y Esteroles	S.R de Lieberman (100 mL)	Cambio inmediato de color (verde, azul, rojo, naranja)
Glucósidos Cardiotónicos	S.R Kedde (Lactonas insaturadas)	Mancha coloreada o un anillo purpura alrededor de la muestra

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo karst* y *Capparis odoratissima* Jacq.



Materiales y Métodos

TAMIZAJE FITOQUÍMICO PRELIMINAR (TFP) DE EXTRACTOS Y FRACCIONES ACTIVAS.

Metabolito	Reacción	Interpretación
Naftoquinonas y Antraquinonas	Azul de metileno (CCD) (100 mL)	Manchas azules (Naftoquinonas no reaccionan)
	Acetato de Magnesio (CCD) (100 mL)	Hidroxiantraquinonas dan manchas anaranjadas
	S.R de Amoniaco	Color rojo
	Azul de metileno (CCD) (100 mL)	Manchas azules (Naftoquinonas no reaccionan)
Saponinas	S.R de Rosenthal (50 mL)	Color violeta (Saponinas de Triterpenos pentaciclicos)
Flavonoides	Reacción con vapores de amoniaco: impregna un papel con extracto diluido	Color amarillo ocre
	Test de Shinoda: virutas de magnesio y HCl concentrado (núcleo de γ -benzopirona)	Coloración rosada, violeta y roja anaranjada
	Test leucoantocianinas : HCl concentrado y calentar	Coloración rojo violáceo

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Resultados y Discusión

Fraccionamiento del EXTRACTO ETANOLICO TOTAL de *Capparis odoratissima* (JE-I-1A).

- Partición líquido-líquido del extracto total de hojas de *C. odoratissima* (JE-I-1A).

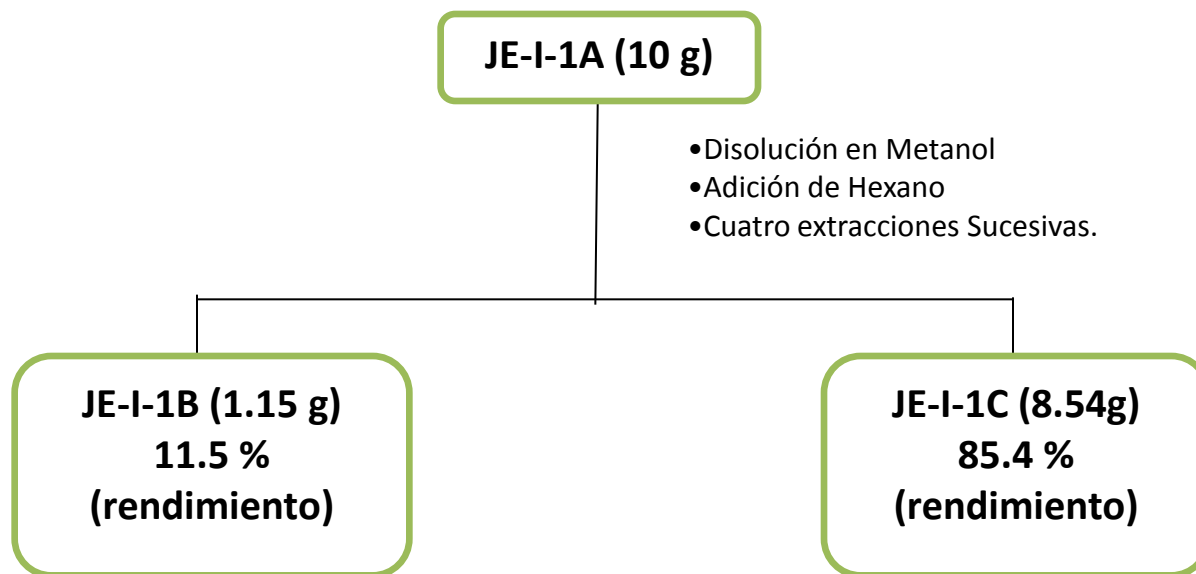


Figura 6. Esquema de partición liquido-liquido realizado al extracto total de *C. odoratissima*. (JE-I-1A).

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Resultados y Discusión

Fraccionamiento del EXTRACTO ETANOLICO TOTAL de *Capparis odoratissima* (JE-I-1A).

- Fraccionamiento Cromatográfico de la fracción soluble en hexano del extracto total de hojas de *C. odoratissima* (JE-I-1C)

No de Fracción	Código	Fase Móvil	Peso (mg)	Rendimiento (%)
1	JE-I-2A	Hexano	69.7	3.485
2	JE-I-2B	Hexano/CH ₂ Cl ₂ (1:1)	29.9	1.495
3	JE-I-2C	CH ₂ Cl ₂	106	5.3
4	JE-I-2D	CH ₂ Cl ₂ /Acetona(7:3)	487.8	24.39
5	JE-I-2E	Acetona	391.2	19.56
6	JE-I-2F	MeOH	756.9	37.845

Fase estacionaria: silicagel 60 (70-230 mesh).

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Resultados y Discusión

Fraccionamiento del EXTRACTO ETANOLICO TOTAL de *Capparis odoratissima* (JE-I-1A).

- Fraccionamiento Cromatográfico de la fracción soluble en hexano del extracto total de hojas de *C. odoratissima* (JE-I-1C)

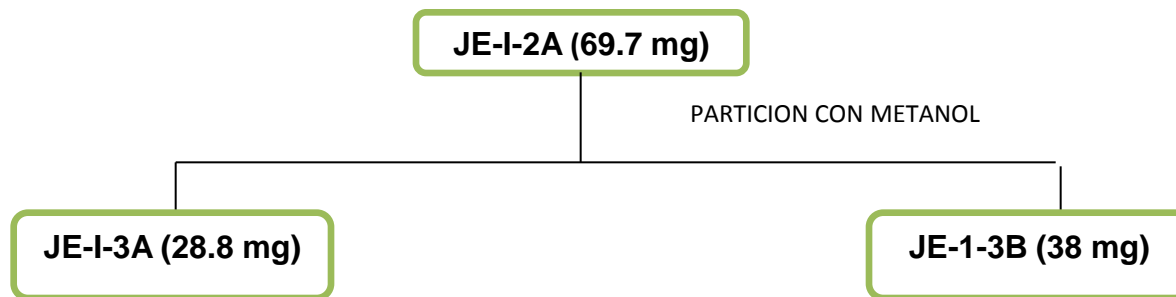


Figura 7. Esquema de partición Sólido-Líquido de la fracción JE-I-2A

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Resultados y Discusión

Fraccionamiento del EXTRACTO ETANOLICO TOTAL de *Capparis odoratissima* (JE-I-1A).

- Fraccionamiento Cromatográfico de la fracción soluble en hexano del extracto total de hojas de *C. odoratissima* (JE-I-1C)

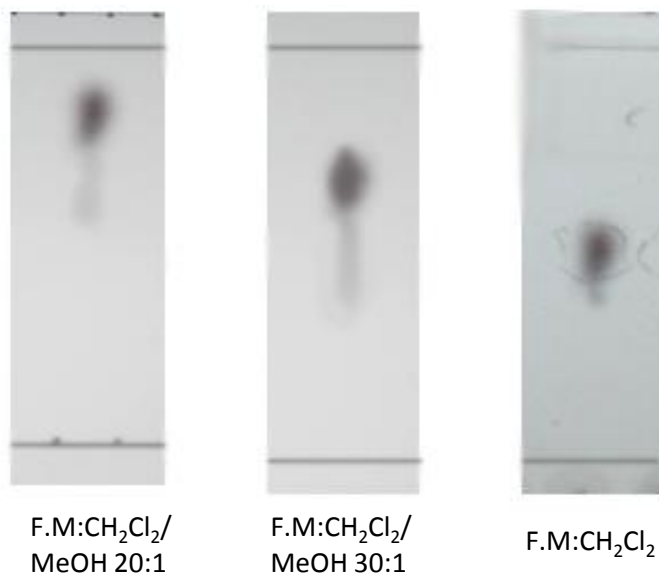


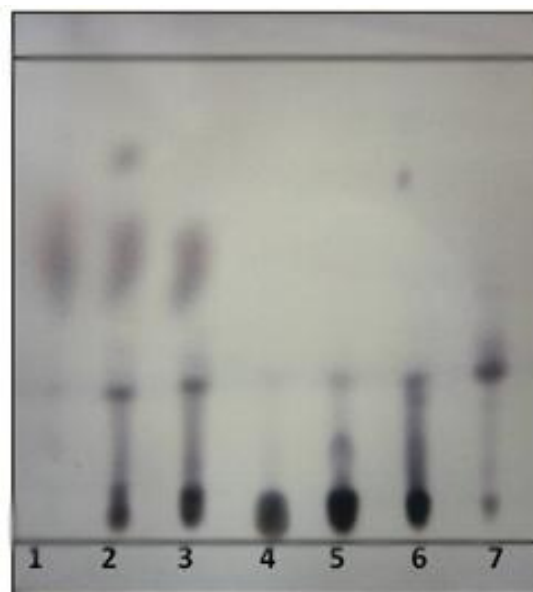
Figura 8. Perfiles Cromatográficos de JE-I-3A con diferentes fases móviles.

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Resultados y Discusión

Fraccionamiento del EXTRACTO ETANOLICO TOTAL de *Capparis odoratissima* (JE-I-1A).

- Fraccionamiento Cromatográfico de la fracción soluble en hexano del extracto total de hojas de *C. odoratissima* (JE-I-1C)



Códigos de muestras de
la placa

1. JE-I-3A
2. JE-I-1A
3. JE-I-1C
4. JE-I-2C
5. JE-I-2D
6. JE-I-2E
7. JE-I-2F

FASE MOVIL:
CH₂Cl₂/MeOH (30:1)

Figura 9. Perfiles Cromatográficos de Fracciones y extracto total de hojas de *C. odoratissima*.

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Resultados y Discusión

DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE INHIBICION DEL CRECIMIENTO VIRAL, CC_{50} , CE_{50} E IS DE EXTRACTOS TOTALES DE *C. malambo* Karst. (JE-I-7A) y *C. odoratissima* Jacq. (JE-I-1A).

Extracto	Código	% Inhibición Viral	CC_{50} (mg/L)	CE_{50} (mg/L)	IS
<i>C. malambo</i> Corteza	JE-I-7A	39.0	ND	ND	ND
<i>C. odoratissima</i> Hojas	JE-I-1A	97.3	91,28	30	3,04

Hasta el momento no se han encontrado reportes científicos de actividad antiviral de *C. odoratissima* Jacq, sin embargo, otros investigadores reportan otras especies del genero *Capparis* con propiedades antivirales, antiinflamatorias y antimicrobianas (Nizar *et al.*, 2010)

**ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO:
Croton malambo karst y *Capparis odoratissima* Jacq.**

Resultados y Discusión

DETERMINACION DE CC_{50} , CE_{50} E IS DE LAS FRACCIONES PROVENIENTES DEL EXTRACTO TOTAL DE *C. odoratissima* Jacq. (JE-I-1A).

Fracción	Código	CC_{50} (mg/L)	CE_{50} (mg/L)	IS
Soluble en Metanol	JE-I-1B	997,0	2387,0	0,41
Soluble en Hexano	JE-I-1C	120,340	12,17	9,88

ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Resultados y Discusión

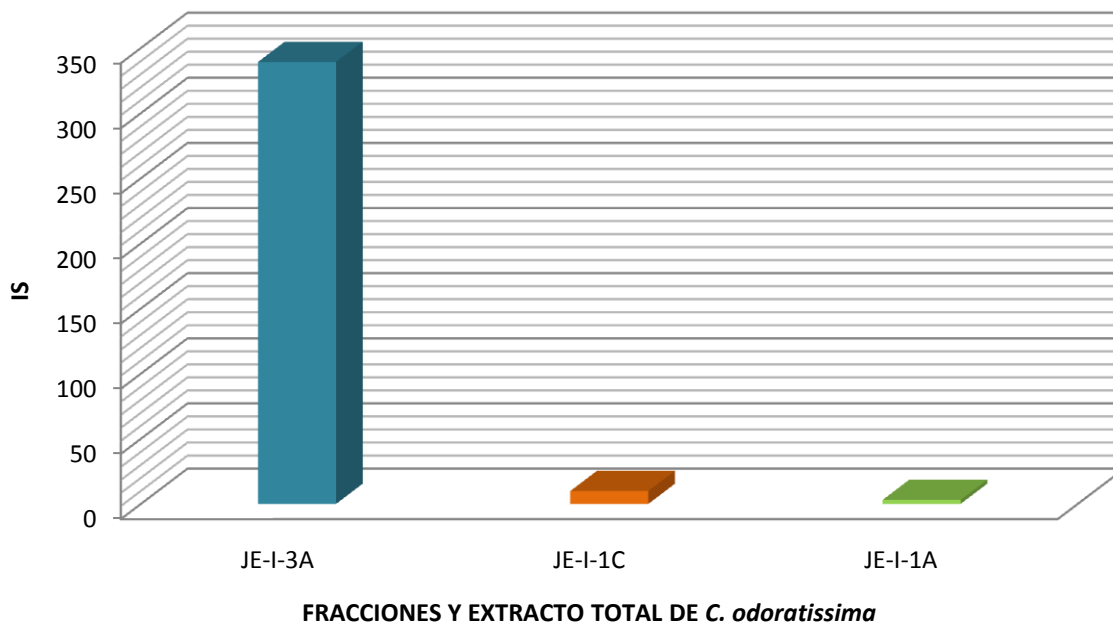
DETERMINACION DE CC_{50} , CE_{50} E IS DE LAS FRACCIONES PROVENIENTES DE LA PORCION SOLUBLE EN HEXANO DEL EXTRACTO TOTAL DE *C. odoratissima* Jacq. (JE-I-1C).

No Fracción	Código	Fase Móvil	CC_{50} (mg/L)	CE_{50} (mg/L)	IS	Cantidad (mg)	Rendimiento (%)
1	JE-I-3A	Hexano	2636,53	7,77	339,32	28.8	1.44
2	JE-I-5A	Hexano/ CH_2Cl_2 (1:1)	152,71	125	1,21	21.9	1.095
3	JE-I-2C	CH_2Cl_2	184,62	15,60	11,83	106	5.3
4	JE-I-2D	CH_2Cl_2 /Acetona (7:3)	33,06	15,63	2,11	487.8	24.39
5	JE-I-2E	Acetona	152,12	162,74	0,93	391.2	19.56
6	JE-I-2F	MeOH	26,370	31.25	0.84	756.9	37.845

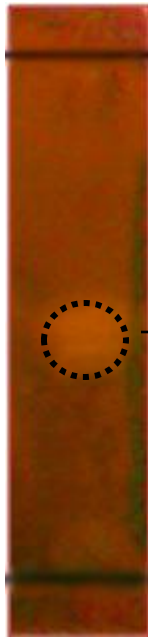
ESTUDIO QUÍMICO BIODIRIGIDO CONTRA VIRUS DEL DENGUE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DOS PLANTAS DEL CARIBE COLOMBIANO: *Croton malambo* karst y *Capparis odoratissima* Jacq.

Resultados y Discusión

DETERMINACION DE CC_{50} , CE_{50} E IS DE LAS FRACCIONES PROVENIENTES DEL EXTRACTO TOTAL DE *C. odoratissima* Jacq. (JE-I-1A).

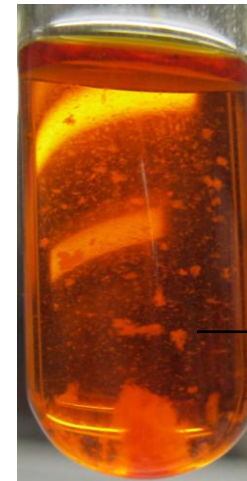


Prueba de identificación de alcaloides en la fracción promisoriosa (JE-I-3A)



Zonas
anaranjadas:
prueba positiva
para alcaloides

TFP en placa analítica de JE-I-3A
utilizando como revelador R. de
Dragendorff (FM: CH_2Cl_2)



Precipitado
coposo

TFP microquímico de JE-I-3A
con R. de Dragendorff.

Conclusiones



De las dos especies evaluadas solo *Capparis odoratissima* fue promisorio por lo que fue sometida a fraccionamiento biodirigido utilizando partición liquido-liquido y cromatografía en columna abierta, obteniendo así seis fracciones de las cuales JE-1-3A presentó el mayor IS (339.32) y muestra según TFP

En la actualidad se han logrado muchos avances en el descubrimiento de fármacos

Este entonces, es el primer informe que se conoce hasta la fecha sobre la actividad biológica como antiviral y fitoquímica preliminar de la especie *C. odoratissima*.

de la población mundial.

Recomendaciones



- En la culminación de este trabajo se sugiere seguir trabajando e investigando sobre la actividad antiviral contra virus del dengue con la fracción activa de las hojas de *C. odoratissima*. Esos estudios podrán estar encaminados a conocer, cual es el sitio de acción de los metabolitos secundarios presentes en esta fracción activa.
- Continuar con el aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios, correspondientes a alcaloides de baja polaridad que estuvieron presentes en la fracción activa JE-I-3A.
- Una vez se halla realizado el aislamiento y purificación se debe proceder a la elucidación estructural de estos compuestos para conocer si son nuevos ó compuestos conocidos de los cuales no se conoce su actividad antiviral contra virus del dengue.

Recomendaciones



- Por ultimo, una vez conocida la estructura de los metabolitos activos se deberá proceder a llevar a cabo rutas sintéticas o semisinteticas que faciliten su obtención en cantidades apreciables en caso de tratarse de compuestos lo suficientemente promisorios. Así mismo se sugiere con ayuda del PECET la realización de ensayos biológicos más sofisticados que puedan indicar el posible mecanismo de acción de estos compuestos o fracciones.

Bibliografía



Balmaseda, A., S. N. Hammond, *et al.* **2005**. "Short report: assessment of the World Health Organization scheme for classification of dengue severity in Nicaragua." *Am J Trop Med Hyg* 73(6): 1059-62.

Blaney, J. E., Jr., J. M. Matro, *et al.* **2005**. "Recombinant, live-attenuated tetravalent dengue virus vaccine formulations induce a balanced, broad, and protective neutralizing antibody response against each of the four serotypes in rhesus monkeys." *J Virol* 79(9): 5516-28.

Bracho, R. and Crowley, K., 1996. The essential oils of some Venezuelan Croton species. *Phytochemistry* 5 (5): 921-926.

Chambers, T., Monath, T P, Shatkin, A J, **2003**. *The Flaviviruses: Structure, Replication and Evolution*, Elsevier.

Chen, Y., T. Maguire, *et al.* **1997**. "Dengue virus infectivity depends on envelope protein binding to target cell heparan sulfate." *Nat Med* 3(8): 866-71.

Clyde, K., J. L. Kyle, *et al.* **2006**. "Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis." *J Virol* 80(23): 11418-31.

Courageot, M. P., M. P. Frenkiel, *et al.* **2000**. "Alpha-glucosidase inhibitors reduce dengue virus production by affecting the initial steps of virion morphogenesis in the endoplasmic reticulum." *J Virol* 74(1): 564-72.

Crance, J. M., N. Scaramozzino, *et al.* **2003**. "Interferon, ribavirin, 6-azauridine and glycyrrhizin: antiviral compounds active against pathogenic flaviviruses." *Antiviral Res* 58(1): 73-9.

Damonte, E. 2006. Dengue: Un viejo y nuevo desafío para la quimioterapia antiviral. *Revista Química Viva Vol 2*, (51-62).

Damonte, E. B., M. C. Matulewicz, *et al.* **2004**. "Sulfated seaweed polysaccharides as antiviral agents." *Curr Med Chem* 11(18): 2399-419.

Diamond, M. S., M. Zachariah, *et al.* **2002**. "Mycophenolic acid inhibits dengue virus infection by preventing replication of viral RNA." *Virology* 304(2): 211-21.

Eddouks M, Maghrani M, Lemhadri A, Ouahidi ML, Jouad H. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *J Ethnopharmacol* 2002;82:97–103.

Eisen L, Lozano-Fuentes S. **2009**. Use of mapping and spatial and space-time modeling approaches in operational control of *Aedes aegypti* and Dengue. *PLoS Negl Trop Dis*; 3(4):e411.

Bibliografía



Farrar, J., D. Focks, *et al.* **2007**. "Towards a global dengue research agenda." *Trop Med Int Health* 12(6): 695-9.

Garcia, B.H., 1992. *Flora Medicinal de Colombia, Tercer Mundo*, Bogotá.

Gil, R. Carmona, J., Rodríguez A., M. C. **2006**. *Plantas Medicinales de la Mesa de Los Indios, Municipio Campo Elías (Estado Mérida, Venezuela)*. , 4(1):55-67.

Gubler DJ, Meltzer M. **1999**. Impact of dengue/dengue hemorrhagic fever on the developing world. *Adv Virus Res*; 53:35–70.

Holden, K. L., D. A. Stein, *et al.* **2006**. "Inhibition of dengue virus translation and RNA synthesis by a morpholino oligomer targeted to the top of the terminal 3' stem-loop structure." *Virology* 344(2): 439-52.

INS (Instituto Nacional de Salud) **2011**, Boletín No. 34 - 2011 de Vigilancia Epidemia por Dengue en Colombia. Consultado el 19 de Septiembre de 2011.
http://new.paho.org/col/index.php?option=com_content&task=view&id=1257&Itemid=468

INS (Instituto Nacional de Salud), 2008. *Uso De Sistemas De Información Geográfica Y Sensores Remotos Como Herramientas Para Salud Pública En Colombia*. Consultado el 19 de Septiembre del 2011.
<http://www.oosa.unvienna.org/pdf/sap/2008/colombia/presentations/5-3.pdf>

Jaenisch T, W. B. **2008**. Results from the DENCO study. TDR/WHO Expert Meeting on Dengue Classification and Case Management. Implications of the DENCO study. Geneve.

Jouad H, Haloui M, Rhiouani H, ElHilaly J, Eddouks M. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez- Boulemane). *J Ethnopharmacol* 2001;77:175–82.

Kinney, R. M., C. Y. Huang, *et al.* **2005** "Inhibition of dengue virus serotypes 1 to 4 in vero cell cultures with morpholino oligomers." *J Virol* 79(8): 5116-28.

Krishnan, M. N., B. Sukumaran, *et al.* **2007**. "Rab 5 is required for the cellular entry of dengue and West Nile viruses." *J Virol* 81(9): 4881-5.

Kurane, I. and T. Takasaki **2001**. "Dengue fever and dengue haemorrhagic fever: challenges of controlling an enemy still at large." *Rev Med Virol* 11(5): 301-11.

Bibliografía

Kwan, W. H., A. M. Helt, *et al.* **2005**. "Dendritic cell precursors are permissive to dengue virus and human immunodeficiency virus infection." *J Virol* 79(12): 7291-9.

Kyle JL, Harris E. **2008**. Global spread and persistence of dengue. *Annu Rev Microbiol*; 62: 71–92.

Lam, S. K., & Ng, T. B. (2009). A protein with antiproliferative, antifungal and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from caper (*Capparis spinosa*) seeds. *Phytomedicine*, 16, 444–450.

Lee, B. 2004 Dengue Fever and Dengue Hemorrhagic Fever: A Review of the History, Transmission, Treatment, and Prevention. *Seminars in pediatric Infectious Disease*: 60-65

Leung, D., K. Schroder, *et al.* **2001**. "Activity of recombinant dengue 2 virus NS3 protease in the presence of a truncated NS2B co-factor, small peptide substrates, and inhibitors." *J Biol Chem* 276(49): 45762-71.

Lei, H. Y., T. M. Yeh, *et al.* **2001**. "Immunopathogenesis of dengue virus infection." *J Biomed Sci* 8(5): 377-88.

Lindenbach, B. D., Thiel, H. J. & Rice, C. M. (2007). *Flaviviridae: the viruses and their replication*. In *Fields Virology*, 5th edn, pp. 1101–1152. Edited by D. M. Knipe & P. M. Howley. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.

Lotina, B; Gutiérrez, M; Aldana, L; Valdés, M; Hernández, C; Figueroa, R. **2005**. ACTIVIDAD INSECTICIDA DE *Croton ciliatoglanduliferus* (Euphorbiaceae) sobre *Spodoptera frugiperda*. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, 62731, Yautepec, Morelos, México. Pag 1-3.

Mabalirajan, U., T. Kadiravan, *et al.* **2005**. "Th(2) immune response in patients with dengue during defervescence: preliminary evidence." *Am J Trop Med Hyg* 72(6): 783-5.

Maha Mohamed Soltan, Adel Kamal Zaki. 2009. Antiviral screening of forty-two Egyptian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 126 (2009) 102–107.

Martínez, M. Querevalú, L., De Los Rios, E., Ruiz, S. Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. *Rev. Med. Vallejiana*. Vol. 4 N° 2 (121-131).

Bibliografía



Morais, S; Calvalcanti, E; Bertini, L; Oliveira, C; Rodriguez, J; Cardoso, J. **2006**. Larvicidal activity of essential oils from brazilian *croton* species against *Aedes aegypti* I. Journal of the American Mosquito Control Association 22(1):161-164.

Morales, A., Pérez, P., Mendoza, R., Compagnone, R., Suarez, A., Arvelo, F., Ramírez, J. and Galindo I., 2005. Cytotoxic and proapoptotic activity of ent-16 β -17 α -dihydroxykaurane on human mammary carcinoma cell line MCF-7. Cancer Letters. 218 (1):109-116.

Mukhopadhyay, S., R. J. Kuhn, *et al.* **2005**. "A structural perspective of the flavivirus life cycle." Nat Rev Microbiol 3 (1): 13-22.

Murrel, S., Wu, S., Butler, M., 2011. Review of dengue virus and the development of a vaccine. Biotechnology Advances 29 (2011) 239–247.

Nizar Tlili, Walid Elfalleh, Ezzeddine Saadaoui, Abdelhamid Khaldi, Saida Triki, Nizar Nasri. 2010. The caper (Capparis L.): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. Fitoterapia 82 (2011) 93–101.

OMS. **1992**. Resistencia de los Vectores de Enfermedades a los Plaguicidas. 15^o Informe del Comité de Expertos de la OMS en Biología de Vectores y Lucha Antivectorial (Serie de Informes Técnicos N^o 818). Ginebra. Suiza.

OMS (Organización Mundial de la Salud) 2005. Presupuesto por programas 2004-2005: evaluación de la ejecución. Consultada el 28 de septiembre del 2011. http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/PBPA_04-05_spa.pdf

Palucka, A. K. **2000**. "Dengue virus and dendritic cells." Nat Med 6(7): 748-9.

Perea, R. J., D. Tamborero, *et al.* **2008**. "Left atrial contractility is preserved after successful circumferential pulmonary vein ablation in patients with atrial fibrillation." J Cardiovasc Electrophysiol 19(4): 374-9.

Pujol, C. A., J. M. Estevez, *et al.* **2002**. "Novel DL-galactan hybrids from the red seaweed *Gymnogongrus torulosus* are potent inhibitors of herpes simplex virus and dengue virus." Antivir Chem Chemother 13(2): 83-9.

Qi, R. F., L. Zhang, *et al.* **2008**. "Biological characteristics of dengue virus and potential targets for drug design." Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai) 40(2): 91-101.

Raviprakash, K., D. Wang, *et al.* **2008**. "A tetravalent dengue vaccine based on a complex adenovirus vector provides significant protection in rhesus monkeys against all four serotypes of dengue virus." J Virol 82(14): 6927-34.

Bibliografía



- Raviprakash, K., K. Liu, *et al.* **1995**. "Inhibition of dengue virus by novel modified antisense oligonucleotides." *J Virol* 69(1): 69-74.
- Reyes-Del Valle, J., S. Chavez-Salinas, *et al.* **2005**. "Heat shock protein 90 and heat shock protein 70 are components of dengue virus receptor complex in human cells." *J Virol* 79(8): 4557-67.
- Rico-Hesse R. **1990**. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. *Virology*; 174(2):479–93.
- Romero-C. R. **1965** Flora del Centro de Bolivar Bogotá, Colombia 437pp.
- Rothman, A. L., and F. A. Ennis. 1999. Immunopathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Virology* **257**:1-6.
- Schul, W., W. Liu, *et al.* **2007**. "A dengue fever viremia model in mice shows reduction in viral replication and suppression of the inflammatory response after treatment with antiviral drugs." *J Infect Dis* 195(5): 665-74.
- Setiati, T. E., A. T. Mairuhu, *et al.* **2007**. "Dengue disease severity in Indonesian children: an evaluation of the World Health Organization classification system." *BMC Infect Dis* 7: 22.
- Shigeta, S., S. Mori, *et al.* (2003). "Broad spectrum anti-RNA virus activities of titanium and vanadium substituted polyoxotungstates." *Antiviral Res* 58(3): 265-71.
- Simasathien S, Watanaveeradej V. **2005**. Dengue vaccine. *J Med Assoc Thai*; 88(Suppl 3): S363–77.
- Simpson, **1996**. "Arbovirus. In: Cook G, ed. *Manson's tropical diseases*. London: Saunders."
- Solomon, T. and M. Mallewa **2001**. "Dengue and other emerging flaviviruses." *J Infect* 42(2): 104-15.
- Suárez, A., Compagnone, R., Salazarbookaman, M., Tillett, S., Monache, F., Di giulio, C. and Bruges, G. (2003). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton malambo* bark aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology*. 88 (1): 11-14.
- Sze-Kwan Lam, Tzi-Bun Ng. 2009. A protein with antiproliferative, antifungal and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from caper (*Capparis spinosa*) seeds. *Phytomedicine* 16 (2009) 444–450.

Bibliografía



Tabares P, Avila, L. Torres, F. Cardona, D. 2007. Metabolitos secundarios y efectos antivirales de algunas especies de la familia Euphorbiaceae. *Scientia et Technica* Año XIII, No 33. UTP. ISSN 0122-1701

Talarico, L. B., C. A. Pujol, *et al.* **2005**. "The antiviral activity of sulfated polysaccharides against dengue virus is dependent on virus serotype and host cell." *Antiviral Res* 66(2-3): 103-10.

Thongtan, J., Kittakoop, P., Ruangrunsi, N., Saenboonrueng, J. And Thebtaranonth, Y., **2003**. New Antimycobacterial and Antimalarial 8, 9-Secokaurane Diterpenes from *Croton kongensis*. *Journal of Natural Products*. 66: 868-870.

Vanden berghe DA, haemers A, vlietinck A, **1993**. Antiviral agents from higher plants and an example of structure activity relationship of 3-methoxyflavones, in: *colegate SM*, ed. *Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination*. boca raton, fl: CRC press, 405-440.

Vlietinck, A.J. Van Hoof, L. Totté J. Vanden Berghe, D. **1995**. Screening of hundred Rwandese medicinal plants for antimicrobial and antiviral properties. *Journal of Ethnopharmacology* 46:31-47

Whitby, K., T. C. Pierson, *et al.* **2005**. "Castanospermine, a potent inhibitor of dengue virus infection in vitro and in vivo." *J Virol* 79(14): 8698-706.

WHO- World Health Organization (1997) *Dengue Haemorrhagic Fever*. Diagnosis, treatment, prevention and control. 2da. Ed., Geneva: 1-84. Consultada el 28 de septiembre del 2011. <http://www.who.int/csr/resources/publications/dengue/Denguepublication/en/>

WHO (World Health Organization), 2009. Dengue and dengue hemorrhagic fever. Consultada el 20 de mayo del 2011. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/2009.

WHO (World Health Organization), 2010. W.P.R. Dengue in the Western Pacific Consultada el 28 de mayo del 2011. http://www.wpro.who.int/health_topics/dengue/overview.htm2010.

Zeniquel M, 2008. Dengue. Consultado el 20 de Agosto del 2011. <http://www.tecnologiahechapalabra.com/salud/miscelanea/articulo.asp?i=2564>

Muchas
Gracias



sroma