Evaluación de la actividad Citotóxica in vitro de cinco plantas medicinales peruanas (Abuta, Ajo sacha, Moena, Murure y Tahuari)

Castañeda, B, MD; Ibáñez, L, QFD; Ramos, E, QF.*
Universidad de San Martín de Porres

RESUMEN

Objetivos: *Evaluar la actividad citotóxica en bioensayo con Artemia salina Leach, de los extractos etéreo, etanólico y acuoso de la corteza de Abuta grandifolia, Ajo sacha (hoja), Anis moena (hoja), Morure (corteza) y Tahuari (hojas).*

Material y métodos: *Se utilizó técnicas del CYTED. Luego de estabilizar las muestras, se procedió a la molienda y al fraccionamiento, según la técnica de Ciulei. Se filtraron los extractos y se evaporaron los solventes, realizándose el cálculo de los porcentajes de sólidos totales y el bioensayo.*

Resultados: *En* ***Artemia salina Leach,*** *la Concentración Letal Media de* ***Abuta grandifolia,*** *extracto acuoso, fue 14,28 ppm (al 95%, los límites superior e inferior: 30.16 y 6.76); extracto etanólico: 363,20 ppm (Límite superior e inferior, al 95%: 448, 30 y 59,21); extracto etéreo: 252,93 ppm (Límite superior e inferior, al 95%: 637,86 y 100,30).* **Ajo sacha,** *extracto acuoso, fue 96,34 ppm (Límite superior e inferior al 95%: 292,53 y 31,753); extracto etanólico: 39,79 ppm (Límite superior e inferior al 95%: 92,12 y 17,18); extracto etéreo: 80,08 ppm (Límite superior e inferior al 95%: 182,89 y 35,06).* **Anis moena,** *extracto acuoso, fue: 22,36 ppm (Límite superior e inferior al 95%: 60,43 y 8); extracto etanólico: 444,89 ppm (Límite superior e inferior al 95%: 625,82 y 316,27); extracto etéreo: 9,46 (Límite superior e inferior al 95%: 21,65 y 4.13).* **Morure,** *extracto acuoso, fue: 28,03 ppm (Límite superior e inferior al 95%: 60,34 y 13,02); extracto etanólico: 77,99 ppm (Límite superior e inferior al 95%: 254,83 y 23,87); extracto etéreo: 220,07 ppm (Límite superior e inferior al 95%: 519,60 y 93,21).* **Tahuari,** *extracto acuoso, fue: 94,01 ppm (límite superior e inferior al 95%: 293,69 y 30,09); extracto etanólico: 311,12 ppm (Límite superior e inferior*

* bcastaneda@usmp.edu.pe
ISSN: 1817-0285
CULTURA: Lima (Perú) 22: 141-168, 2008

al 95%: 746,10 y 129,73); extracto etéreo: 255,58 ppm (Límites superior e inferior al 95%: 473,19 y 138,04), con un valor de p< 0,01.

Discusión: *El extracto acuoso de Abuta y el extracto etéreo de Anis Moena, que presentaron las concentraciones letales-50 más bajas, podrían presentar actividad antitumoral de utilidad clínica, por lo que sería pertinente realizar todos los estudios necesarios orientados a confirmar o descartar esta posibilidad.*

Conclusión: *El extracto acuoso de Abuta grandifolia y el extracto etéreo de Anis moena presentaron las CL50 más bajas, de 14,28 y 9,46 ppm, respectivamente, en el bioensayo en Artemia salina.*

Palabras clave: *Actividad citotóxica, bioensayo, Artemia salina Leach, Abuta grandifolia, Ajo sacha, Moena, Morure, Tahuari*

Evaluation of Cytotoxic activity of five peruvian medicinal plants (Abuta, Ajo sacha, Moena, Murure and Tahuari)

ABSTRACT

Objetivs: *To evaluate the cytotoxic activity on Artemia salina of the different extracts of five peruvian medicinal plants: Abuta grandifolia, Ajo sacha (leaves), Anis moena (leaves), Morure (bark), and Tahuari (leaves).*

Material and methods: *We utilized CYTEC technics. Then we stabilized de samples and pulverized and fractioning its following the Ciulei technic. The extracts were filtered and the solvents evaporated; finally we calculted the percentage of whole solids and the bioassay.*

Results: *On Artemia salina, the medium letal concentration (CL50) of* **Abuta grandifolia** *were: for watery extract 14.28 ppm (with upper and lower limits of 30.16 and 6.76 respectivily); for ethanolic extract 363.20 ppm (with upper and lower limits of 448.30 and 59.21 respectively); for ethereal extract 252.93 ppm (with upper and lower limits of 637.86 and 100.30 respectively).* **Ajo sacha**, *watery extract 96.34 ppm (with upper and lower limits of 292.53 and 31.753 respectively); for ethanolic extract 39.79 ppm (with upper and lower limits of 92.12 and 17.18 respectively); for ethereal extract 80.08 ppm (with upper and lower limits of 182.89 and 35.06, respectively).* **Anis moena**, *watery extract 22.36 ppm (with upper and lower limits of 60.43 and 8, respectively); for ethereal extract 9.46 ppm (with upper and lower limits of 21.65 and 4.13 respectively).* **Morure**, *watery extract 28.03 ppm (with upper and lower limits of 60.34 and 13.02 respectively); for ethanolic extract 77.99 (with upper and lower limits of 254.83 and 23.87 respectively); for ethereal extract 220.07 ppm (with upper and lower limits of 519.60 and 93.21, respectively),* **Tahuari**, *watery extract 94.01 ppm (with upper and lower limits of 293.69 and 30.09 respectively); for ethanolic extract 311.12 ppm (with upper and lower limits of 746.10 and 129.73 respectively); for ethereal extract 255.58 ppm (with upper and lower limits of 473.19 and129.43 respectively). In all this cases p= 0.01.*

Discusion: *The watery extract of Abuta and the ethereal extract of Anis moena, that presented the lower letal concentrations could present anti tumoral activity and must be evaluated in clinical assays.*

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

Conclusion: *The watery extract of Abuta grandifolia and the ethereal extract of Anis moena presented the lower medium letal concentrations (CL50), 14.28 and 9.46 ppm, respectively, in the Artemia salina bioassay.*

Key words: *Cytotoxic activity, bioassay, Artemia salina Leach, Abuta,grandifolia, Ajo sacha, Moena, Morure, Tahuari.*

INTRODUCCIÓN

La necesidad de disponer de medicamentos, cada vez más seguros y eficaces, cuyo uso en terapéutica sea racional desde el punto de vista científico, y la necesidad de nuevos tratamientos etiológicos para diferentes enfermedades, entre ellas el cáncer, determinarán, en gran medida, el contenido y las estrategias de la futura investigación en Fitoterapia, en la que deberemos considerar los siguientes aspectos relevantes.

1. Métodos altamente tecnificados para el análisis químico y estandarización de los extractos vegetales.
2. Búsqueda de nuevos compuestos bioactivos para el desarrollo de nuevos medicamentos.
3. Integración de los nuevos métodos de farmacología molecular, para el tamizado farmacológico de plantas y sus constituyentes, y
4. Desarrollo de estudios clínicos protocolizados y de ensayos de biodisponibilidad de los extractos vegetales estandarizados[1].

La evaluación de la actividad citotóxica de productos derivados de plantas medicinales, se ha convertido en un método de uso muy frecuente en los últimos años, como parte de un largo y laborioso proceso de evaluación y desarrollo de un fitofármaco o de un nuevo medicamento. En dichos experimentos se incuban células de una línea celular específica, a una serie de diluciones de la preparación de interés, para tener valores reproducibles de citotoxicidad de cada producto evaluado. Las plantas son, hasta la actualidad, parte integral de la cultura dentro de un determinado grupo étnico, lo cual, a veces, ofrece un testimonio de su seguridad y eficacia. Sin embargo, pocas de ellas han sido estudiadas siguiendo métodos científicos válidos y atendiendo a las normas éticas definidas internacionalmente, ya que si bien el uso popular es un indicador importante, no es garantía de la eficacia y seguridad de las mismas. El uso de sustancias químicas, requiere de estudios científicos que demuestren el escaso o nulo potencial tóxico de las mismas, cumpliendo con la legislación internacional o de cada país[2].

Los medicamentos reconocidos oficialmente están sujetos a ensayos y especificaciones de identidad, pureza, y contenido de los principales constituyentes activos o marcadores para cada droga vegetal, a la garantía de conservación de la especie y a especificaciones de pureza microbiológica.

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

Actualmente, los requisitos de calidad de las diferentes farmacopeas nacionales varían de unos países a otros; sin embargo, la Federación internacional de Asociaciones de Fabricantes de Medicamentos (IFPMA) ha dado un primer paso hacia la implantación a nivel global de criterios armonizados. Algunos países y organizaciones han elaborado o están elaborando sus propias monografías como por ejemplo la Comisión E del Ministerio de Sanidad Alemán, la OMS, ESCOP (European Scientific Cooperative on Phytotherapy), China o Brasil. Estas monografías recogen los estándares de calidad aplicables a las drogas y fitopreparados del mercado farmacéutico. La identificación taxonómica puede resolverse utilizando la nueva aproximación molecular de análisis del ADN, especialmente las técnicas de secuenciación genética y análisis de restricción (RELPs) combinadas con la investigación micromorfológica. Este método requiere una cantidad relativamente reducida de material vegetal, usando marcadores moleculares independientes de ADN nuclear o cloroplástico aislado. Las secuencias son transferibles, editables, y analizables por medio de programas informáticos que reconstruyen las relaciones filogenéticas y las similitudes genéticas[1].

El uso de la tecnología permite, hoy a los investigadores, poder optimizar la eficacia, la normalización y la valoración clínica de los medicamentos de uso tradicional para alcanzar los estándares internacionales.

Nuestro país tiene aproximadamente 25,000 especies, de las cuales alrededor de 17,140 son plantas angiospermas y gimnospermas, siendo considerados mundialmente como centro de Vavilov por el elevado número de especies domesticadas en esta parte del planeta las cuales en su mayoría no han sido investigadas de una manera científica[3].

En 19 países de América Latina viven, actualmente, más de cuarenta millones de indígenas principalmente en Bolivia, Brasil, Ecuador, Guatemala, Colombia y Perú. En algunos países la población autóctona es casi la mitad del total de sus pobladores. Desde el punto de vista europeo se hablaba del encuentro de 2 mundos o dos culturas, sin embargo la conquista desde la perspectiva de los pobladores de América no fue así[4]. La OMS, formuló una definición de la medicina tradicional: «La medicina tradicional es la suma de conocimientos teóricos y prácticos, comprensible o no, utilizado con el propósito de prevenir y curar desordenes físicos, psíquicos, y sociales basándose únicamente en la experiencia y la observación transmitida de generación en generación en forma oral o escrita»[5] .

Las técnicas de tamizado farmacológico, permiten estudiar miles de extractos y materiales vegetales, empleando diversos modelos, en un período relativamente breve, seguido por el aislamiento y determinación estructural de todos los principios activos, incluso si están presentes

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

La evaluación de la citotoxicidad, constituye un parámetro básico en la evaluación de muestras. Los cultivos celulares, en crecimiento exponencial, son expuestos al medio que contiene los compuestos de prueba. Los controles comprenden al diluyente sólo y al efecto de los compuestos, que son evaluados mediante pruebas de viabilidad. Los métodos que permiten dicha evaluación deben ser considerados según el tipo de muerte celular producida, dado que ésta puede tener lugar por distintas vías, que implican claras diferencias en la respuesta celular[9].

Las técnicas de citotoxicidad, en las que se puede realizar un recuento celular, comparados con los de apoptosis, nos permiten tener una idea del número de células muertas por necrosis (citotoxicidad menos apoptosis)[9].

La importancia social y económica de las plantas con actividad farmacológica, en la medicina moderna, se debe a que estos productos son relativamente más baratos que los medicamentos convencionales; además, las plantas de eficacia comprobada, podrían ser cultivadas por la población de reducidos ingresos, teniendo en cuenta la calidad de las mismas y la gran posibilidad de incrementar el ingreso familiar. En este sentido, la investigación etnobotánica y etnofarmacológica de las especies vegetales, para su posible utilización fitoterapéutica, exige un adecuado protocolo de trabajo, incluyendo toda la escala de pruebas, que van desde la correcta selección de la planta hasta la realización de una exhaustiva gama de ensayos farmacológicos, químicos, fitoquímicos, toxicológicos y clínicos, que permitan la utilización de la planta como medicamento, con garantía de su eficacia y seguridad. Para la utilización segura de las plantas medicinales, es necesario comprobar que no produzcan toxicidad ni a corto ni a largo plazo. La evolución del medicamento durante la segunda mitad del siglo XX hacia la síntesis y la utilización de la moderna biotecnología, hizo que las plantas medicinales perdieran la primacía que ostentaban, en tiempos pasados, dentro del arsenal terapéutico. El enorme atractivo del producto de síntesis, que en un principio no hizo más que imitar a lo que la naturaleza proporcionaba, unido a los avances del desarrollo del conocimiento de los procesos fisiopatológicos, complementados por las técnicas de ADN recombinante, fueron postergando el estudio sobre plantas medicinales[6].

Investigaciones realizadas en diversas partes del mundo aplicando diversas técnicas de evaluación citotóxica, han permitido evaluar en base a su uso tradicional, el efecto antitumoral de algunas plantas, sobre diferentes tipos de tumores, en estudios in vitro[10, 12].

Los medicamentos, reconocidos oficialmente, están sujetos a ensayos y especificaciones de identidad, pureza y contenido de los

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

principales constituyentes activos o marcadores para cada droga vegetal, a la garantía de conservación de la especie y a especificaciones de pureza microbiológica. Los estudios clínicos realizados, han hecho posible integrar los preparados fitoterapéuticos en el concepto de terapia racional. El mayor reto de la investigación, puede definirse como una estrategia de medicación, caracterizada como una terapia multi-diana. Tomando como ejemplo la terapia antitumoral, esta nueva estrategia está dirigida a destruir las células tumorales sin que produzcan daño sobre las células sanas (la bola mágica de Paul Erlich). Esta medicación puede estar orientada, por ejemplo a inducir la apoptosis en las células tumorales, a inhibir la angiogénesis, a estimular los mecanismos inmunológicos de defensa tanto específicos como inespecificos, a inducir la expresión de los antioncogenes y a activar la producción de proteínas del estrés (*heat shock proteins*)[1].

Gracias a los últimos avances en investigación, las «indicaciones poéticas» de antaño de muchos preparados fitoterápicos han podido eliminarse, las indicaciones para muchos otros, han podido ser confirmadas y mejor delimitadas y para algunos se han podido describir nuevas indicaciones[1]. Sorprendentemente cerca de un 20% de los fitopreparados investigados han mostrado una equivalencia terapéutica con los fármacos convencionales, con los que se compararon para una misma indicación.

Tabla 1

Equivalencia terapéutica entre extractos estandarizados de drogas vegetales y fármacos de síntesis, evidenciados por estudios clínicos comparativos controlados con placebo

EXTRACTO	FARMACO DE SINTESIS	INDICACION
Crataegus sp. (espino albar)	Captopril	Insuficiencia cardiaca I-II NYHA
Hypericum perforatum (hipérico)	Imipramina Amitriptilina	Depresión leve y moderada
Sabal serrulata (Sabal)	Proscar (finasteride)	Hiperplasia prostàtica benigna I-II
Hedera helix (hiedra)	Ambroxol	Bronquitis crónica
Boswellia serrata (incenso de la India)	Sulfasalazina	Enfermedad de Crohn

Fuente (Revista de Fitoterapia 2006; 6 (2). Wagner).

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

La Organización mundial de la salud, ha efectuado una revisión de la situación legal de las medicinas tradicionales y de las terapias complementarias o «alternativas» en 123 países. A lo largo del tiempo, la industria farmacéutica ha desarrollado métodos de tamizado *(high throughput screening*) que han sido automatizados y perfeccionados, hasta el punto de que pueden ser tamizados mensualmente hasta 10,000 muestras de compuestos (aislados o sintéticos) o de extractos. Estos métodos, de alta tecnología, son prometedores sólo cuando puede usarse una batería de pruebas. Los ensayos de unión a receptores han cobrado gran importancia debido a su selectividad y sensibilidad. Asimismo, algunos laboratorios tienden a transformar los principios activos de las plantas en derivados estructurales con mayor efectividad, mejor biodisponibilidad y mayor estabilidad. También se ha dedicado esfuerzos a reducir la toxicidad potencial de un determinado compuesto o a convertirlo en un medicamento más fácilmente aplicable. Como ejemplo mencionaremos el ácido betulínico, compuesto presente en diferentes especies de Betuna, tales como en Calophyllum brasiliense y en otras plantas, que ha demostrado ejercer una actividad antitumoral, in vitro, mediante mecanismos de inducción de la apoptosis[10, 11]. Un grupo de investigadores franceses, encabezados por la Prof Lacaille Dubois[1], ha sintetizado 38 derivados del Acido betulínico, mediante sustitución de radicales en las posiciones C3 y C28. El efecto inductor de apoptosis sobre células de melanoma, puede aumentar desde un valor IC50 de 1,1 ug/mL hasta 0,7 ug/mL. Sorprendentemente, en una segunda aproximación, los investigadores encontraron que el ácido betulínico era, también, efectivo contra la infección por HIV[1, 11]. La sustitución del C3-OH y del grupo COO- en C28, por un grupo dimetilsuccinil y w-aminoalcanoil, respectivamente, aumentaba diez veces la actividad anti HIV. Asimismo, en ensayos farmacológicos en los que se comparaba los compuestos aislados con los extractos o fracciones extractivas originales, han confirmado el conocimiento general de que muchos constituyentes vegetales, como por ejemplo los compuestos fenólicos y terpenoides, ejercen efectos farmacológicos polivalentes. Ello podría explicar los efectos de sinergia farmacológica y que, frecuentemente, los extractos producen un efecto terapéutico mayor que sus principios activos aislados[1].

Con la finalidad de llevar a cabo estudios toxicológicos, en base a la información etnográfica y a los estudios ya conocidos de la planta, se recurre a los métodos de investigación alternativos, a fin de disminuir el uso de animales en los estudios científicos, garantizando los estándares de máxima seguridad para los pacientes y consumidores, de productos testados en estas pruebas. Los métodos alternativos desarrollados y apoyados por la comunidad Europea pretenden contribuir a la Reducción, Refinamiento y Reemplazo de la experimentación, y las pruebas con

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

animales, lo que se conoce como las 3 R; estos métodos pueden ser usados para pruebas con fármacos, sustancias químicas y cosméticos, comparan la toxicidad entre células y tejidos experimentales con los efectos en humanos, sin que se requieran animales para ello. En su lugar se usan por ejemplo cultivos celulares in Vitro, lo cual reduce el costo de las investigaciones, comparándolas siempre con fármacos de uso en la medicina convencional para determinadas enfermedades, para evaluar, en algunos casos, sus mecanismos de acción o la inhibición de algunas enzimas que intervienen en el desarrollo y reproducción de ciertos virus causantes de enfermedades.

El **Control de calidad** de los fitofármacos, involucra varias etapas que van desde el conocimiento del material vegetal botánico hasta la padronización del producto final (Padronización = Obtención de un producto estandarizado en base a marcadores químicos o farmacológicos). La calidad, es un requisito básico que deben cumplir todos los medicamentos, no sólo por su significación intrínseca, sino porque constituye la base sobre la que reposa la seguridad y la eficacia de los mismos. . Normalizar es «elegir una determinada planta por su interés comercial y su valor terapéutico, definiendo unos caracteres morfológicos, organolépticos, anatómicos, fisicoquímicos y farmacológicos para asegurar la calidad y la actividad». La garantía de calidad de un producto fitoterapéutico es un concepto amplio que involucra la suma total de medios personales y materiales, así como las actividades desarrolladas para conseguir estos productos con calidad, seguridad, eficacia y uniformidad de lotes. Para las principales plantas vegetales existen normas y ensayos en las distintas farmacopeas (Farmacopea europea: Ph. Eur., francesa (Ph Fr), alemana: DAB, Suiza: Ph Helv, USP entre otras), pero para muchas otras, es necesario establecer algunos ensayos para el Control. En el control botánico se deberá definir el género y la especie para evitar sustituciones que en ocasiones pueden ser peligrosas, además es importante indicar el origen geográfico y las condiciones en que se obtiene la droga vegetal [13, 14].

El control químico, consiste en la detección y cuantificación de determinados compuestos químicos presentes en la especie vegetal. Estos compuestos denominados marcadores químicos, pueden o no ser los principios activos. Los ensayos disponibles son variados y van desde sencillas reacciones de color y precipitación para detectar la presencia de determinados componentes hasta técnicas cromatográficas que permiten la identificación y cuantificación. Estas técnicas también son útiles para la detección de adulterantes, es decir identificar otras plantas o compuestos adicionados fraudulentamente al producto auténtico con la finalidad de potenciar el efecto. En plantas y sus preparados,

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

el principal índice analítico es el referido al contenido en principio o principios activos responsables de su actividad farmacológica. En el caso de que no se pudiera realizar la cuantificación de los principios activos, se puede proceder a la cuantificación de otros compuestos químicos presentes en ellas, denominados «marcadores». Con independencia de que la cuantificación se realice sobre los principios activos o sobre los marcadores; es imprescindible hacer uso de las técnicas adecuadas (GC, HPLC) que permitan establecer el perfil químico o huella dactilar de la especie vegetal[14]. Debemos tener en cuenta que el contenido en principios activos, de la planta, principal exponente de la calidad, ha dependido hasta hace algunos años, del material que espontáneamente ofrecía la naturaleza. Sin embargo, ahora la aplicación o la obtención de plantas medicinales, con técnicas agrícolas modernas o de los medios de cultivo in Vitro, previa selección de los individuos vegetales idóneos, permite disponer de materia prima normalizada en cuanto a contenido en principios activos. Estos sistemas de cultivo de plantas medicinales aseguran, además, la ausencia de adulteraciones por otras especies vegetales[13, 14].

El control farmacológico y toxicológico, consiste en verificar la seguridad y eficacia del producto. La seguridad es verificada a través de la determinación de la citotóxicidad, toxicidad aguda y crónica, mientras que la eficacia es determinada a través de la constatación del efecto farmacológico esperado y en algunos países se están investigando y reportando la presencia de **marcadores farmacològicos**. Inicialmente, estos estudios se realizan en modelos celulares, animales y posteriormente en humanos. Estos estudios son particularmente importantes en los casos de la introducción de nuevas plantas al arsenal terapéutico. Las estrategias científicas para la evaluación, in vitro, de productos naturales con actividad biológica, han cambiado con el paso de los años, un desarrollo reciente es la investigación altamente automatizada de las pruebas de farmacología molecular basadas en métodos colorimétricos que cuantifican la proliferación de los cultivos celulares[12, 14].

En el presente trabajo queremos evaluar la citotoxicidad de cinco plantas medicinales peruanas, usando un método rápido y seguro, como es el de la *Artemia salina*, a fin de contribuir con los estudios de seguridad del uso de las mismas. El bioensayo ***en Artemia salina Leanch*** sirve para una rápida evaluación, ya que permite su correlación con otras pruebas biológicas, permitiendo percibir sustancias con alta bioactividad. Mediante este test, son consideradas activas las sustancias que obtienen valores de CL50 menores a 1000 ppm[15].

Veamos algunas características etnobotánicas de las plantas evaluadas:

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

Abuta:[16, 22]

Descripción botánica: liana robusta, aplanada, con ramas glabras; hojas glabras, ovado-oblongas oacuminadas con el limbo de color verde pálido de 10-20 cm de longitud con nervaduras palmeadas, inflorescencia estaminada fruto drupa elipsoide, glabra de color amarillento de 2 a 2,5 cm de longitud.

Parte utilizada: hojas y corteza.

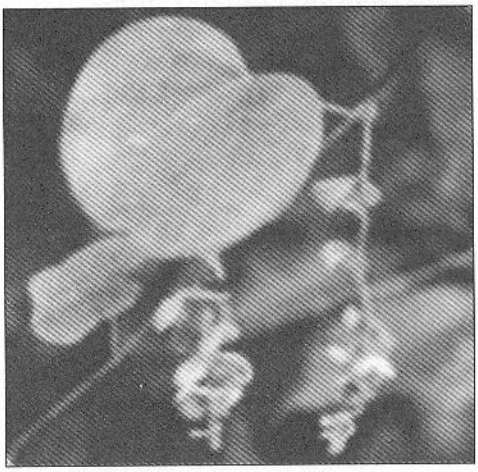


FOTO de Natural Standard Bottom Line Monograph, Copyright © 2008

Usos populares: A las infusiones de hojas y raíces le atribuyen varias propiedades tónicas, diuréticas antigonorreicas, hipocolesterolémicas, hipoglucemiantes, eupépticas, antitusivas, antidiarreicos, antiparasitarias y febrífugas. Los nativos del Brasil emplean esta planta macerada en vino o por medio del emplasto de sus hojas, como antídoto contra la mordedura de serpientes. En Guyana los miembros de la tribu palikur emplean emplastos con las hojas como antiinflamatorio de uso tópico. Otros usos en la India se relacionan con actividad hipertensora arterial y antimalárica. Se usa tambien como un tónico cardiaco, la raíz en casos de anemia, tonico cerebral , paludismo, tifoidea.

Química y Farmacología: Las hojas contienen saponinas flavonas, alcaloides isoquinólicos hayatina y hayabinina. También posee taninos, resina, carbohidratos principios amargos, gomas aceite esencial, malato de Calcio, nitrato de potasio (+) quercitol, ácidos araquídico y

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

linoléico. De las hojas y corteza se han aislado una chalcona denominada cisampeloflavona .

El alcaloide Cisampirina demostró citotoxicidad frente a cultivos de celulas tumorales KB(Kupchan et al,1965), aunque la citotoxicidad fue menor para la chalcona cisampeloflavona frente a líneas celulares humanas KB , La pareirubrina Ay B demostraron propiedades antileucémicas en cultivos celulares, lo cual estaría vinculado con la presencia de un anillo tropológico en dichos alcaloides. Asimismo una fracción del extracto etanòlico de la corteza mostró efecto antitumoral con la línea celular de carcinoma epidermoide laringeo humano HEP-2.

Ajo sacha hembra:[16,17]

Foto del Libro «Plantas medicinales usadas por mujeres nativas y mestizas en la región Ucayali». (Clavo P. Mirella. 2003)

Descripción botánica: Arbusto lianescente de 2 a 3 m de altura. Hojas bifoliadas con zarcillos trifidos, foliolos elípticos o abobados, 5-27 x 2-18 cm , oblongos, elípticos, ápice agudo a obtuso, base cuneada; glabros en ambos lados. Con olor fuerte similar al del ajo. Flores en racimos o panículas. Capsula linear-oblonga, lignificada, semillas aladas, con dos alas membranaceas. Se distribuye en el Perú , México y Brasil

Parte utilizada: hojas y corteza.

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

Usos populares: Reumatismo, artritis: Machacar las hojas para preparar un emplasto, calentar, colocar en la parte afectada. Abstenerse de tomar bebidas alcohólicas, tener relaciones sexuales, comer carne de chancho, de monte y pescado, además de comidas ácidas.

Prevención de la gripe: Colocar el raspado de la corteza del tallo fresco en una botella de aguardiente, dejar macerar, tomar cuatro cucharadas al día.

Repelente de insectos: machacar las hojas , aplicar en las partes expuestas del cuerpo.

Química y Farmacología: Contiene estigmasterol, alcaloides, saponinas, flavonas, pigmentos flavónicos, allicina, allina, alil-disulfoxido, sulfuro de dialil, sulfuro de divinilo, disulfuro propylalilo y dos naftoquinonas citotoxicas : la 9 metoxy-alfa lapachona y la 4 hydroxy-9-methoxy-alfa-lapachona.

Presenta acción analgésica (hojas), antipirética (hojas y tallo) y antiinflamatoria (Tallo y raíz). Las comunidades indígenas de loreto, usan la infusión de las hojas en baños, para el tratamiento del «manchari». Los «Achulaes» (PERU) usan las raíces como antireumático. Los Wayapi (Brasil) lo usan como antipirético[17].

Moena: [23, 35]

Descripción botánica: es un árbol de 30-80 cm de diámetro y 20-30 m de altura. **Corteza externa** lenticelada, color marrón claro, las lenticelas circulares, de 4-5 mm de diámetro, poco protuberantes, regularmente distribuidas. **Corteza interna** homogénea, color amarillento; oxida rápidamente a marrón; al cortarla es perceptible en ella un olor fuerte y característico algo picante, fragante. **Hojas** simples, alternas y dispuestas en espiral, los peciolos de 1-1.5 cm de longitud, las láminas de 20-25 cm de longitud y 6-7 cm ancho, oblongo-alargadas a falcadas, inequiláteras, enteras, el ápice agudo, usualmente con un acumen de 1-2 cm de longitud, la base aguda u obtusa, asimétrica, la nervación pinnada, los nervios secundarios 10-12 pares, promínulos en haz y envés, eucamptodromos las láminas cartáceas, glabradas, de color rojizo a amarillento cuando secas.

Parte utilizada: hojas y corteza.

Usos populares: *neuroestimulante, antitumoral, antiinflamatorio,*

Química y Farmacología: Se han evaluado en especies de nectandra, cumarinas alcaloides , glicosidos cardiotónicos, taninos etc.

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

Morure:[16,26,29]

Nombre Común : Congona, Moruré Murure y tamamuri

Descripción botánica: árbol grande de 15-25 m de altura. Hojas con estípulas lanceoladas, sericeas. Receptaculo floral globoso. Fruto globoso con pericarpo coriáce, semillas hemisféricas con un lado agudo.

Parte utilizada: Raíz. hojas y corteza.

Usos populares: *antireumático (corteza), estimulante del apetito, antihelmintica, antisifilítica y depurativa. Tambien es considerada afrodisiaca. Los «Palikur» y «Wayapi» (Brasil) la emplean como alucinógena y la corteza en cocimiento en baños como antipirético.*

Química y Farmacología: las especies de esta familia contienen alcaloides, **flavonoides**[28], flavonas, heterósidos, esteroles e hidrocarburos. Se ha identificado el 5 hydroxytriptamine (bufotenine), 4' Hydroxy-7,8-/2-(2-hydroxyisopropyl)dihydrofuran/ flavan and 4',7-dihydroxy-8-(3,3-dimethylallyl)flavan [27], Mururins A y B (1 and 2) y liugnanos[26] . Presenta actividad antitumoral[28].

Tahuari:[16,17,25,30,32]

Foto del Libro «Plantas medicinales usadas por mujeres nativas y mestizas en la región Ucayali». (Clavo P. Mirella. 2003)

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

Descripción botánica: árbol de hasta 30m de altura, ramitas cilíndricas glabrescentes o poco pubescentes en el ápice. Hojas folioladas de 5 a 7 foliolos, elípticos a estrechamente elípticos –aovados, ápice acuminado, base redondeada, bordes enteros o conspicuamente aserrados. Flores con el cáliz campanulado de color amarillo. Frutos cápsulas lineares subleñosas. Semillas aladas.

Parte utilizada: corteza del tallo.

Usos populares: Infección vaginal (descensos). Raspar la corteza, colocar en agua hervida, tomar como agua del tiempo.

Hepatitis: hervir un trozo de corteza por 20 a 25 minutos, tomar como agua del tiempo tres veces al día durante buen tiempo.

Dolores reumáticos: Tomar 15 gotas del extracto de la corteza, también con este extracto se prepara un ungüento para dolores reumáticos. Abstenerse de consumir ají y bebidas alcohólicas.

Antidiabético: Cocinar 25 g de corteza en un litro de agua. Tomar como agua del tiempo.

Ulceras: raspar el tallo, mezclar con agua hervida. Tomar media taza en ayunas.

La corteza interna es usada por algunas tribus como envoltura en la preparación de cigarrillos. Los «Yaguas «(PERU) utilizaban la corteza en cocimiento, para el tratamiento de tumores malignos y como anticancerigeno . Los creoles (jamaica) preparan un jarabe con azucar y las flores en cocimiento, para el tratamiento de afecciones bronquiales, como antitusigeno y antigripal. Los Palikur (Brasil) emplean la corteza en forma de emplasto, en el tratamiento de la leishmaniasis y los Wayapi (brasil la usan como antipiretico [16].

Química y Farmacología: Presenta saponinas, taninos, **quinonas**[30], alcaloides, catequinas esteroides, fenoles simples flavonas, flavonoles flavononas heterósidos cianogénicos, resinas , saponinas triterpenos, xantonas, acetaldehídos, alfa-lapachona, antraquinonas, ácidos benzoicos, bencenos, beta-lapachona, flavonoides, lapachenol, lapachol, tabebuin, tectoquinonas, ácido vanillico, vainillina, ácido veratrico, xyloidano.

La lapachona tiene actividad antimicrobiana *contra Bacillus subtilis, salmonella tiphymurium y Candida albicans*, así también como el lapachol tiene actividad **antitumoral**[31], antimalárica.

* bcastaneda@usmp.edu.pe

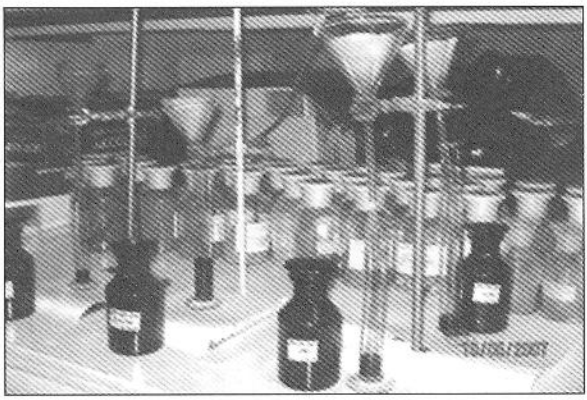
ISSN: 1817-0285

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la obtención y recolección del material biológico se solicitó apoyo al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP).

Material vegetal para el estudio de Toxicidad en *Artemia salina:*
1. Abuta, 2. Ajo sacha, 3. Moena, 4.Murure y 5.Tahuarí

Dichas muestras fueron estabilizadas y sometidas a una maceración, a temperatura ambiente, con los diferentes solventes, según la metodología de Ciulei[15], obteniendo 3 extractos de cada planta: en éter etílico, en alcohol etílico y el acuoso, a una concentración de 1 a 3 p/v por 48 horas; posteriormente se filtraron y concentraron al vacío, en un Rotavapor, hasta la total eliminación del solvente. El screening fitoquímico preliminar, se realizó siguiendo el Método descrito por Ciulei. Los extractos etéreo, alcohólico y acuoso fueron sometidos a una secuencia de pruebas químicas de coloración y precipitación para la detección de compuestos orgánicos.



Filtrado de extractos después de maceración

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA EN *ARTEMIA SALINA* SEGÚN ANDERSON, MEYER, THOMPSON (CYTED, 1995)

Material: Peceras de vidrio, viales, micropipetas, Beackers, erlemeyer, placas petri, lunas de reloj, fiolas, balanza, tanque de oxígeno pequeño, focos de luz, *Artemia salina*, algas, levadura seca, cloruro de sodio Q.P, dimetilsulfóxido (DMSO), agua destilada, 200 mg de los extractos de Abuta -acuoso, Abuta- etanol, Abuta- etéreo; Ajo sacha-acuoso, Ajo sacha etanol, Ajo sacha- etéreo, Moena -acuoso, Moena etanol, Moena-etéreo, Morure-acuoso, Morure-etanol, Morure- etéreo, Tahuari-acuoso, Tahuari-etanol, Tahuari-etéreo.

Procedimiento:

Se efectúa en larvas de *Artemia salina*. Estas, son mantenidas en agua de mar artificial

Día 1: Se preparó agua de mar artificial (3.8 g de sal de mar comercial en 100ml de agua destilada). Se filtró. Se colocaron aproximadamente 50 mg de huevos de *Artemia salina* en un erlemeyer con 350 ml de agua de mar. Se les colocó en un lugar con luz artificial o natural y con una bomba de oxígeno con burbujeo lento.

Día 2: Se transfirieron la mayor cantidad de nauplios vivos a un erlemeyer con agua fresca.

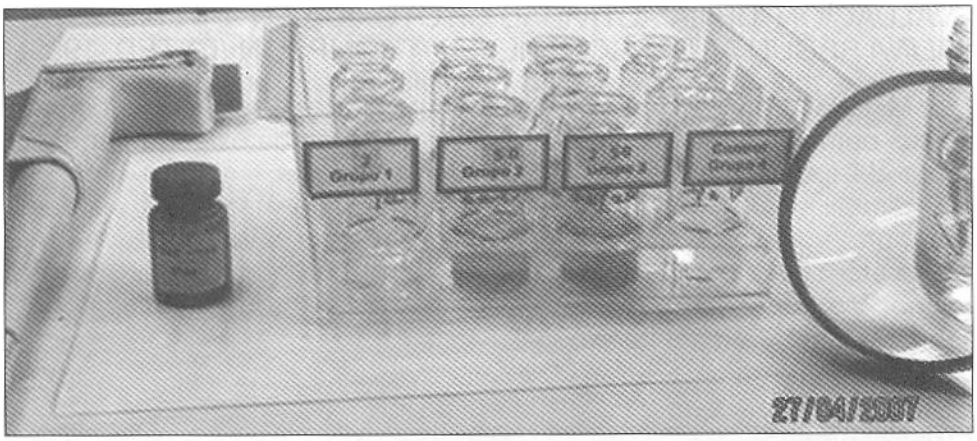
Se pesaron 20 mg de cada extracto.

Día 3: Se disolvieron 20 mg de la muestra en 2 ml de disolvente, 0.5 ml de DMSO y 1.5 ml de agua destilada (lo que hizo un total de 2 mL). A partir de esta solución, se prepararon diluciones de 1000, 100 y 10 ppm transfiriendo a cada vial 500, 50, y 5 ul respectivamente. Siendo 3 viales por cada concentración (9 en total). Se hizo un control por muestra. A algunas muestras apolares se le agregó, al control, 50ul de DMSO. Los nauplios estuvieron listos para el ensayo. A cada vial se le agregaron 10 nauplios (30 nauplios por dilución) y la dilución del extracto requerido. Luego, se agregó agua de mar hasta completar 5 mL por vial. A cada vial se le agregó, además, una gota de suspensión de levadura (3 mg de levadura seca se disuelven en 5 mL de agua de mar como alimento).

Día 4: Después de 24 horas, se contó y anotó el número de sobrevivientes en cada dilución. Se analizaron los datos con el programa de computadora Finney (DOS) para determinar valores CL50. (basado en D.J Finney Statistical Method in Biological Assay, Hafner Pub Co New Cork. 1952

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285



RESULTADOS

Los resultados son presentados en las tablas y gráficas que presentamos a continuación; la determinación taxonómica se presenta en la tabla Nº 2.

Tabla 2

Clasificación botánica de cinco plantas medicinales

PLANTA	AJO SACHA HEMBRA	MOENA	MURURE	TAHUARI	ABUTA
REYNO	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae
DIVISIÓN	Magnoliophyta	Magnoliophyta	Magnoliophyta	Magnoliophyta	Magnoliophyta
CLASE	Magnolipsidae	Magnolipsida	Magnolipsidae	Magnolipsidae	Magnolipsida
SUB-CLASE	Asteridae	Magnoliidae		Asteridae	Magnoliidae
ORDEN	Scrophulariales	Laurales	Hamamelidae	Scrophulariaceae	ranunculales
FAMILIA	Bignoniaceae	Lauraceae	Urticales	Bignonaceae	Menispermaceae
GÉNERO	Mansoa	Nectandra	Brosimum	Tabebuia	Abuta
ESPECIE	Mansoa Alliacea	Nectandra longifolia	Brosimun acutifolium	Tabebuia serratifolia	Abuta grandifolia
NOMBRE VUL.	Sacha ajo		Congona, morure, mururé y Tamamuri———		
NOMBRE CIENTÍFICO	Mansoa Alliacea	*Nectandra longifolia* (R&P) Nees.	*Brosimun acutifolium* Huber Subs. Obovatum (Ducke) C.C. Berg.	*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nichol	*Abuta grandifolia* (C. Martius) Sandwith

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

Tabla 3

Porcentaje de sólidos totales en los extractos

Nro.	Código Muestra	Porcentaje Solidos Totales %
1	EEE- ABUTA-001	0.58
2	EEE- AJO SACHA-002	0.43
3	EEE- MOENA-004	4.08
4	EEE-TAHUARI-005	2.14
5	EEE-MURURE-007	0.52
6	EAE-ABUTA-001	0.90
7	EAE-AJO SACHA-002	0.56
8	EAE-MOENA-004	1.50
9	EAE-TAHUARI-005	3.82
10	EAE-MURURE-007	2.75
11	EAD-ABUTA-001	1.57
12	EAD-AJO SACHA-002	2.30
13	EAD-MOENA-004	3.32
14	EAD-TAHUARI-005	3.79
15	EAD-MURURE-007	2.00

Leyenda:

EEE: Extracto Eter Etílico

EAE: Extracto Alcohol Etílico

EAD: Extracto Agua Destilada

Tabla 4

Screening Fitoquímico de cinco plantas medicinales

Metabolitos Secundarios	PLANTAS EN ESTUDIO														
	ABUTA(Corteza)			AJO(Sancha)			MOENA(Hoja)			TAHUARI(Hoja)			MARURE(Corteza)		
	EE	AE	AD	EE	AE	AD	EE	AE	AD	EE	AE	AD	EE	AE	AD
Grasas y Aceites	-			-			-			-			++		
Alcaloides	+	+	+++	+	-	++	+	-	+	+	++	+	+	++	+
Lactosas y Coumarinas		-			-			+			+			+	
Triterpenos y/o Esteroides	++	+++		++	+		+++	+++		+++	+++		+++	+++	
Catequinas															
Resinas		+			+			++			+++			+	
Azúcares Reductores		++	+		+	++		++	+++		++	++		++	+
Saponinas de Tipo Esferoidal y Triterpenoide		++	++		+	-		-	+++		+++	+		+	++
Fenoles y Taninos		++	+++		+	+++		+++	+++		+++	+++		+++	++
Aminoácidos Libres o Aminas		-			+++			-			-			-	
Quinonas		-			-			+			-			+++	
Flavonoides		-	-		-	-		-	-		-	++		+++	+++
Antocianidinas		-			-			+++			-			+++	
Principios Amargos			-			-			-			+			++
Mucilagos			+++			-			-			+			-

Fecha : Marzo 2007
Leyenda : (+) Leve; (++) Moderado; (+++) Abundante
Analista : Asistente de Laboratorio Q. F. Eva Ramos Llica
Responsable : Profesora Investigadora Dra. Lucy Ibáñez Vázquez

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

Tabla 4

Bioensayo en *Artemia salina*, Concentración Letal Media en ppm, de los diferentes extractos de las plantas estudiadas:

PLANTA	EXTRACTO								
	ACUOSO			ETÉREO			ETANÓLICO		
	CL50	LS-95%	LI-95%	CL50	LS-95%	LI-95%	CL50	LS-95%	LI-95%
ABUTA	14.28	30.16	6.76	252.93	637.86	100.30	363.20	448.30	59.21
AJO SACHA	96.34	292.53	31.754	80.08	182.89	35.06	39.79	92.12	17.18
MOENA	22.36	60.43	8.27	9.46	21.65	4.13	444.89	625.82	316.27
MURURE	28.03	60.34	13.02	220.07	519.60	93.21	77.99	254.83	23.87
TAHUARI	**94.01**	**293.69**	**30.09**	**255.58**	**473.19**	**138.04**	**311.12**	**746.10**	**129.73**

p< o.o1

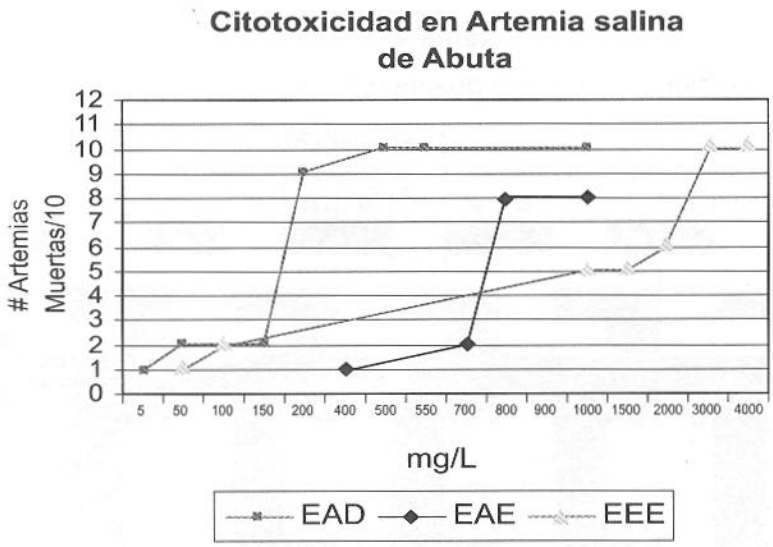


Figura 1

Citotoxicidad de Abuta en Artemia salina

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

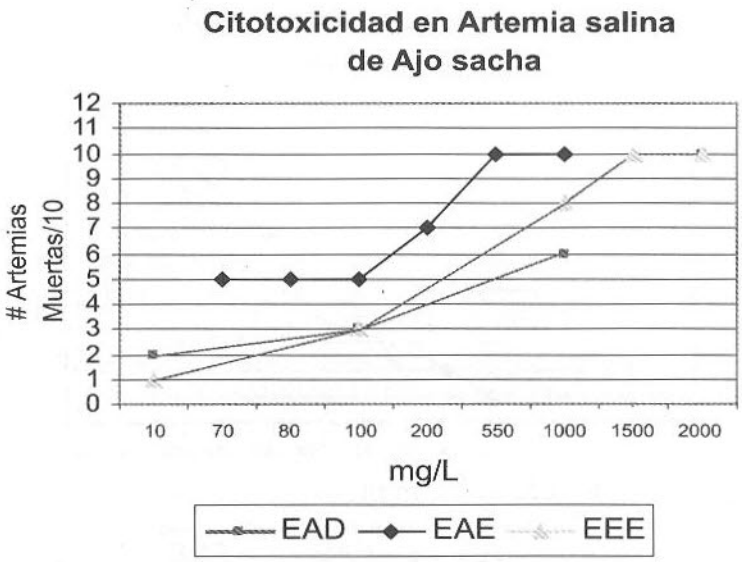


Figura 2

Citotoxicidad de Ajo sacha en Artemia salina

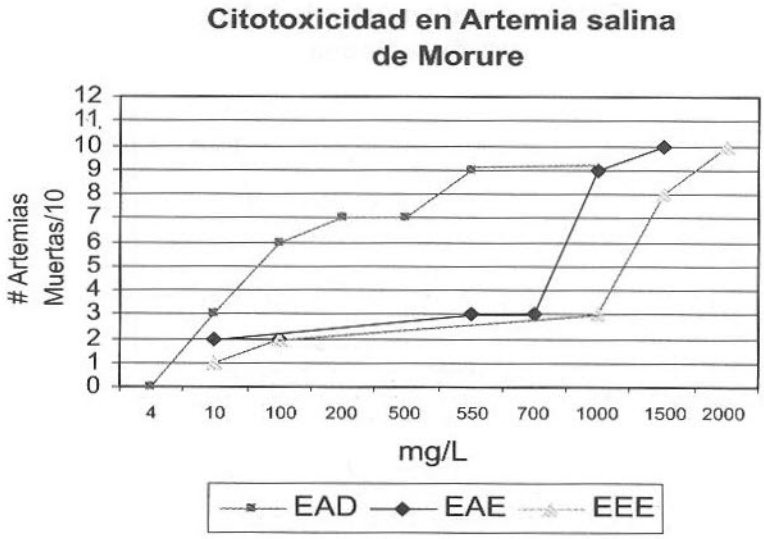


Figura 3

Citotoxicidad de Morure en Artemia salina

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

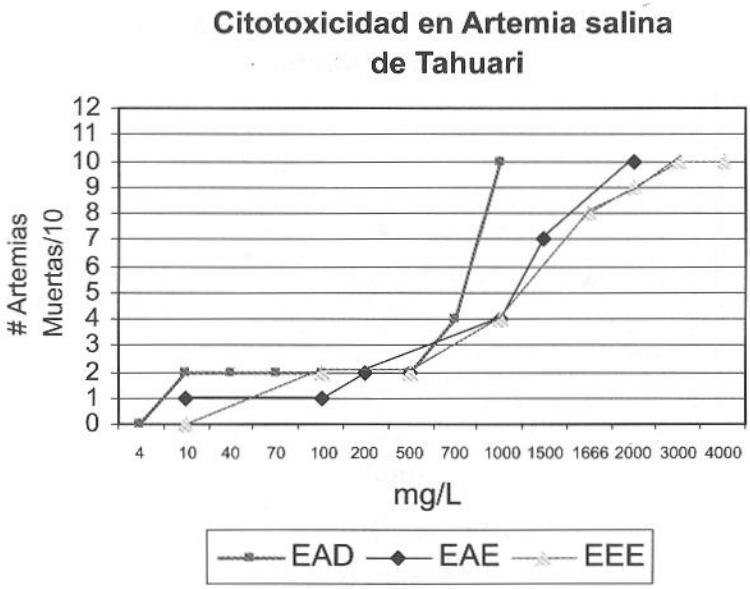


Figura 4

Citotoxicidad de Tahuari en Artemia salina

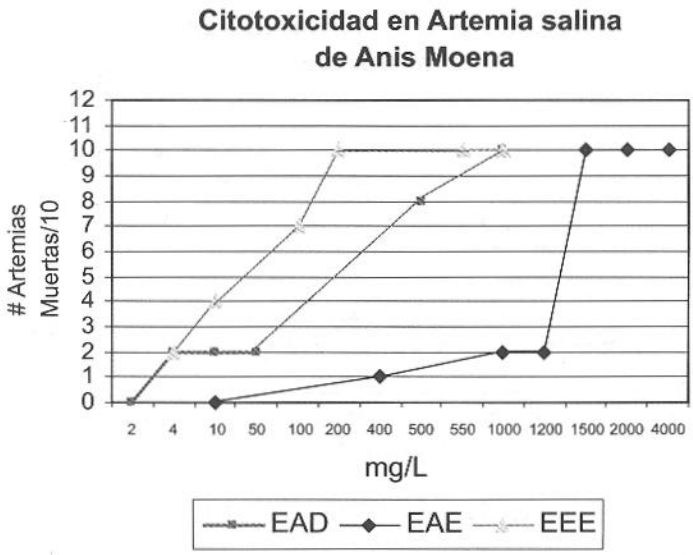


Figura 5

Citotoxicidad de Moena en Artemia salina

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

DISCUSIÓN

Es obligación de las instituciones universitarias, la validación de la medicina tradicional, demostrando eficacia y seguridad, para ponerla al servicio de la población menos favorecida económicamente; uno de los aspectos más importantes de esta medicina milenaria, en muchos países del mundo, lo constituye la utilización de plantas medicinales, usadas en múltiples formas y en diversas patologías, en nuestro país, como en otras partes del orbe. Como es sabido, el Perú es un país mega diverso con un riquísimo potencial de desarrollo, poseedor de una gran biodiversidad, especialmente en recursos vegetales y marinos. Poseemos una gran cantidad de plantas medicinales, con amplias indicaciones terapéuticas, pero que no han sido estudiadas con apego estricto al método científico, para demostrar la eficacia y seguridad, indispensables para sostener la importancia el uso y las indicaciones terapéuticas de las mismas. La seguridad de los recursos terapéuticos, incluyendo las plantas medicinales, se determina en base a los estudios de toxicidad (aguda, subcrónica y crónica), la citotoxicidad, mutagenicidad y embriotoxicidad. Una de las formas de realizar los estudios de citotoxicidad, en forma fácil, segura y barata, es a través de los bioensayos en *Artemia salina*, motivo del presente estudio, determinando la concentración letal-50 (CL50). Esta prueba es utilizada como preliminar para evaluar extractos con posibles efectos antitumorales, si la CL50 es baja, significa que tiene una mayor potencia antitumoral. En nuestro caso, los extractos acuoso de Abuta y etéreo de Moena, con las concentraciones letales-50 más bajas, entre los diferentes extractos de las cinco plantas evaluadas, podrían constituir los posibles candidatos para evaluación clínica antitumoral, y deberían ser sometidos a los estudios clínicos pertinentes, en sus diferentes fases, siguiendo estrictamente los protocolos establecidos para estos casos. Una vez más, la ciencia nos demuestra que las plantas pueden transformarse en verdaderos medicamentos (fitomedicamentos) con una fuerte bioactividad que alcanza a todos nuestros órganos y tejidos y que utilizada de una forma racional, pueden mejorar la calidad de vida y permitir el acceso de los sectores más pobres de nuestro país, que constituyen los denominados grupos de riesgo sanitario; tanto así que la Organización Mundial de la salud, desde la reunión de Alma Ata (Kazajstán , ex URSS) ha instado a los diferentes gobiernos del mundo a reconocer y validar aquellas prácticas tradicionales insertas en el acervo cultural de los diferentes países que integran el planeta, sobretodo, en los países en vías de desarrollo. Por ello, no resulta extraño que en los centros de atención primaria de la salud (APS) de estas naciones, la utilización de plantas medicinales se haya constituido en política de estado, generándose así una gran cantidad de cultivos orgánicos con sello verde, organizados

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

y supervisados por las autoridades sanitarias, donde participan mancomunadamente el estado, las universidades y la propia población. Hoy en día el esfuerzo conjunto de botánicos, farmacólogos, químicos farmacéuticos, químicos, ingenieros agrónomos, médicos y profesionales de la salud, con el fin común de descubrir nuevas moléculas de interés para el hombre, se conoce como bioprospección. Esta realidad, ha llevado a la implementación de programas de bioprospección locales, regionales, y multinacionales en varias partes del mundo. A pesar de que los recursos genéticos (biodiversidad) parecen concentrarse mayoritariamente en el hemisferio Sur, los recursos tecnológicos que hacen uso de esta biodiversidad se encuentran en los países desarrollados, observándose una nueva era , en la que los intercambios entre la biotecnología y la biodiversidad comenzaron a darse en el marco de convenios que buscan el reparto equitativo de los beneficios obtenidos, facilitando el acceso de los países desarrollados a los recursos genéticos de los estados en vías de desarrollo, a cambio de la transferencia tecnológica, de información y de un porcentaje de los beneficios económicos que pudieran surgir de los mismos.

CONCLUSIONES

El extracto acuoso de *Abuta grandifolia* y el extracto etéreo de *Moena* presentaron los CL50 más bajos de 14,28 y 9,46ppm respectivamente, y podrían constituir los más importantes para ser evaluados en los ensayos clínicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Wagner H. Futuro en la investigación en Fitoterapia: Tendencias y retos. Revista de Fitoterapia 2006; 6(2): 107-117.
2. CYTED. Manual de Técnicas de Bioevaluación de Nuevos agentes contra la Tuberculosis. Toxicidad in vitro e in vivo y eficacia de Productos Naturales. 2006. Pág. 141. ISBN 84-96023-57-5
3. Instituto de Fitoterapia Americano. 2do Congreso Internacional FITO 2003. II Congreso Peruano de Plantas Medicinales. 06 -10 Agosto 2003. Página 23.
4. Zdzislaw Jan Ryn. Medicina Indígena. 2007. Editorial Literaria – Wydawnictwo Literackie.
5. Enciclopedia Iberoamericana de psiquiatría, Buenos aires 1995, p 1539

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

6. CYTED. Manual de Técnicas Experimentales utilizadas en el estudio Preclínico de Fármacos con Actividad gastrointestinal. 2006. Pág. 15. ISBN 84-611-0618-0.

7. Cuninghan E. R. Innovación tecnológica y docencia en la interfase Universidad Empresa CYTED Programa Iberoamericano de ciencia y Tecnología para el desarrollo. 1998

8. Piulats Xancó, J. Nuevas aportaciones a la terapia oncológica. V Ciclo de Conferencias. Investigación y Siglo XXI. Real Academia Nacional de Farmacia. 2003. Pagina 17.

9. CYTED. Técnicas in vitro para el estudio de fármacos Antiinflamatorios. 2002. Pág. 27-41.

10. Alonso J. Desmachelier C. Plantas Medicinales autóctonas de Argentina. Bases científicas para su aplicación en Atención Primaria de Salud. Argentina Abril 2006. Ediciones FITOCIENCIA. ISBN10: 987-22875-0-3.

11. Ibáñez V.L. 2004. Evaluación citotóxica, antimitótica, antimutagénica y antiviral de *Calophylum brasiliense*. http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2004/ibanez_vl/html/index-frames.html

12. Instituto de Fitoterapia Americano. 3er Congreso Internacional FITO 2007. III Congreso Peruano de Plantas Medicinales. Marcadores y efecto antitumoral, Anti VIH de las hojas y corteza de Calophyllum brasiliense C. lagarto caspi, Santa María, Bari de las zonas de Satipo y Pucallpa. Agosto 01-05. Página 92-95.

13. Instituto de Fitoterapia Americano. 3er Congreso Internacional FITO 2007. III Congreso Peruano de Plantas Medicinales. Control de Calidad de productos Fitoterapéuticos. 01-05 Agosto. Pág 9 -12.

14. Calvo M. María Isabel. Control de Calidad, criterios de Evaluación: materias primas, productos en proceso y productos terminados. Concepto de marcadores químicos. 2007. Pág. 9-18. 3er Congreso Internacional III Congreso Peruano de Plantas Medicinales. Primera edición. Lima-Perú.

15. CYTED. Manual de Técnicas de Investigación.1995

16. Instituto de Medicina Tradicional. IPSS. Plantas Medicinales de la amazonia peruana Iquitos , 1995.

17. Brack Egg, Antonio. Diccionario enciclopédico de Plantas útiles del Perú. Cuzco. Centro de estudios regionales andinos. Bartolome de las casa. Programa de las Naciones Unidas para el desarrollo 1999.

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

18. Kupchan S.M., Patel A and Fujita E. Tumor inhibitors VI. Cissampareine, new cytotoxic alkaloid from Cissampelos pareira, Cytotoxicity of bisbenzylisoquinoline alkaloids, Journal of Pharmaceutical Science 1995; 54 (4): 580-583.

19. Rojas V J. Soto R, Anaya E, retuerto F, Fuertes C.. Efecto antitumoral de los alcaloides hidrosolubles de Abuta grandifolia (Mart) Sandwith, en Linea Celualra HEP2 . Ciencia e Investigación VII (1) Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM. 2004, ISSN 1561-0861.

20. Garavito G, Rincón J, Arteaga L, Hata Y, Bourdy G, Gimenez A, Pinzón R, Deharo E. Antimalarial activity of some Colombian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2006 Oct 11;107 (3):460-2.

21. Kloucek P, Svobodova B, Polesny Z, Langrova I, Smrcek S, Kokoska L. Antimicrobial activity of some medicinal barks used in Peruvian Amazon. J Ethnopharmacol. 2007 May 4;111(2):427-9

22. Steele J. C .P; Simmonds M.S.J ; Veitch N. ; Warhurst D. C. Evaluation of the anti-plasmodial activity of bisbenzylisoquinoline alkaloids from Abuta grandifolia Planta medica ISSN 0032-0943 1999, Vol. 65, N° 5, pp. 413-416 (22 ref.)

23. Clavo P. Mirella. Plantas medicinales usadas por mujeres nativas y mestizas en la región Ucayali.. IVITA-INIA-ICRAF, Pucallpa 2003. ISBN: 9972-9792-0-2.

24. Montoya V. M. Estudio Fitoquímico de semillas prehispanicas de Nectandra sp. ECI PERU 2007. Vol 4 Nº 1.

25. Reynel C, Pennington R.T Pennington T.D, Flores C, Daza C. Árboles útiles de la amazonía peruana. . Un manual con apuntes de identificación, ecología y propagación de las especies 2003.

26. Takashima J, Ohsaki A, Brosimacutins A-I, Nine New Flavonoids from *Brosimum acutifolium*. J. Nat. Prod. 2002, 65 (12), 1843 -1847.

27. Torres S, Arruda M, Arruda A, Müller A. and Silva Adolfo H. Flavonoids from *Brosimum acutifolium*. Phytochemistry. Volume 53, Issue 8, April 2000, Pages 1047-1050

28. Takashima, J et al «Brosimacutins J-M, four new flavonoids from Brosimum acutifolium and their cytotoxic. Planta Med. 2005; 71(7): 654-8.

29. Torres S, Arruda M, Arruda A, Müller A, Silva S. Flavonoids from Brosimum acutifolium. Phytochemistry. 2000 Apr; 53(8):1047-50.

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285

30. Rao MM, Kingston . Plant anticancer agents XII. Isolation and structure elucidation of new cytotoxic quinones from tabebuia cassinoides. J. Nat Prod. 1982 Sep-Oct; 45(5): 600-4.

31. Vidal-Tessier AM, Deleveau P, Champion B, Jacquemin H. Lipophilic quinones of the trunk wood of tabebuia serratifolia (Vahl.) Nichols. Ann Pharm Fr. 1988, 46(1): 55-7.

32. Velasquez J. Rojas L.B y Usubillaga A. Antifungal activity of naphtoquinone from Tabebuia serratifolia (Vahl. Nicholson). CIEN v.12 n 1. Maracaibo mar 2004. ISSN 1315-2076.Monks N. R et al Antitumor screening of Brazilian plants. Pharma Biol. 2002; 40(8): 603-616.

* bcastaneda@usmp.edu.pe

ISSN: 1817-0285