

ARTICULO ORIGINAL

ACTIVIDAD CITOTOXICA DE PLANTAS MEDICINALES USADAS POR EL GRUPO ÉTNICO BOLIVIANO TACANA

CYTOTOXIC ACTIVITY OF MEDICINAL PLANTS USED BY THE TAKANA ETHNIC GROUP IN BOLIVIA

Muñoz V*, Rojas I**, Bourdy G***, Deharo E***, Quenevo C****, Frade C***** Sauvain M**

RESUMEN

Pregunta de investigación

¿Las plantas utilizadas en la Medicina Tradicional por los Tacanas, manifiestan actividad citotóxica in vitro con el test de la sulforodamina B?

Objetivo

Determinar la actividad citotóxica in vitro de extractos de plantas utilizadas en la Medicina Tradicional por los Tacanas.

Lugar

Población Tacana, IBBA.

Métodos

Cultivo de líneas celulares humanas, KB (carcinoma nasofaríngeo), HeLa (carcinoma cervical)

Ensayo colorimétrico de sulforodamina B, in vitro

Resultados

118 extractos etanólicos de especies vegetales estudiadas in vitro utilizando dos líneas tumorales humanas.

14 especies vegetales mostraron actividad citotóxica in vitro.

De las 14 especies citotóxicas, 12 especies vegetales presentaron $CI_{50} \leq 10 \mu\text{g/ml}$

Conclusión

Un 13% de las plantas estudiadas presentaron actividad citotóxica, pese, a no ser seleccionadas por su uso tradicional como anticancerígenos, pues, la actividad anticancer de las plantas estudiadas no consta en la medicina tradicional de los Tacanas.

La actividad antitumoral, antioxidante y antimutagénica de las especies citotóxicas en este trabajo y otras especies diferentes, pero, de los mismos géneros estudiados fue reportada por científicos de otras latitudes, lo que nos podría indicar que los principios activos serían comunes en estos géneros, permitiéndonos identificar nuevas fuentes de medicamentos

Todas las especies activas merecen estudios complementarios.

Palabras clave

Plantas citotóxicas. Medicina Tradicional. Bolivia. Tacanas.

ABSTRACT

Research question

Do the plants used in traditional medicine by the Tacanas, demonstrate cytotoxic activity in vitro of sulforhodamine B assay?

Objectives

To assess the cytotoxic activity in vitro of plant extracts used in traditional medicine by the Tacanas.

Place

Tacana population, IBBA.

Methods

Culture of: Humana cervical epithelioid carcinoma cells (HeLa) and human epidermoid carcinoma in nasofaríngeo (KB)

Sulforhodamine B assay

Results

118 ethanol extracts of plants were examined in vitro using 2 cell lines.

14 plants displayed in vitro cytotoxic activity.

Of the 14 species of plants, 12 plants displayed $IC_{50} \leq 10 \mu\text{g/ml}$

* Docente investigador PhD, Cátedra de Parasitología, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, UMSA. E mail: victoriamuo@hotmail.com

*** Investigador. Institut de Recherche pour le Développement, 213 rue Lafayette, 75010 Paris, France

**** Consejo Indígena de los pueblos Tacana (CIPTA), Tumupasa, Departamento de Provincia Iturrealde, La Paz, Bolivia.

***** Médico. Centro de Especialidades. Caja Nacional de Salud. La Paz, Bolivia

Conclusions

13% of the examined plants have shown cytotoxic activity, even though they have not been by used traditionally as anticancer medication, since anticancer activity of the plants studied is not known to Tacana traditional medicine.

Anti-tumor, antioxidant and anti-mutagenic activity of cytotoxic species reported in the present paper, and other different species,

have been reported by scientists of other latitudes, a fact that might indicate that the active principles could be common in these plants, thus identifying new sources of medicines.

All active species merit further studies.

Key words

Cytotoxic plants. Traditional medicine. Bolivia. Tacanas

INTRODUCCIÓN

En Bolivia desde siempre se ha podido observar la práctica y utilización de la medicina tradicional, en particular, por los diferentes grupos étnicos, últimamente se ha observado un incremento del ejercicio y utilización de esta medicina consecuencia de la grave crisis económica que confronta nuestra población. Las plantas medicinales son constituyentes fundamentales en la medicina tradicional, pese a la enorme riqueza de especies vegetales con propiedades terapéuticas presentes en nuestro medio, son pocas las plantas que han sido científicamente exploradas. Los metabolitos secundarios de las plantas, como los alcaloides, flavonoides, terpenos y otros son motivo de mayor estudio en los últimos años debido a la diversidad de las propiedades farmacológicas que poseen, como la citotóxica y efectos quimiopreventivos para el cáncer.

Actualmente cada año mueren aproximadamente 7 millones de personas de cáncer ¹, pese a que la quimioterapia sistémica continúa siendo uno de los principales métodos de tratamiento, es evidente que hay una clara necesidad de descubrir nuevos agentes activos.

Una gran variedad de productos naturales han sido evaluados por su actividad anticancer y algunos de ellos como los alcaloides, vincristina, vinblastina aislados de *Catharanthus roseus*, planta originaria de Madagascar, el diterpenoide taxol (paclitaxel), aislado de la corteza de *Taxus brevifolia* Nutt y de otras especies de *Taxus*, la elipticina, que se la obtiene de algunas especies de la familia Apocynaceae, como *Bleekeria vitensis* A.C.Sm., *Aspidosperma subicanum* Mart. y especies de *Ochrosia* son utilizados a la fecha como agentes terapéuticos anticancerígenos ²⁻⁴.

T La búsqueda de extractos vegetales citotóxicos con el fin de desarrollar potenciales agentes anticancerígenos, requiere la aplicación de una batería de bioensayos de variada complejidad y costo ⁵, estas pruebas, además, permiten ir disminuyendo el

número de extractos en estudio. Uno de los adelantos recientes son los bioensayos altamente automatizados como los tests colorimétricos que cuantifica la proliferación de los cultivos de líneas celulares, es el caso del test de sulforodamina B ⁶. Esta técnica es rápida y económica para la evaluación de la citotoxicidad de un gran número de productos naturales y facilita el aislamiento y la purificación de los principios activos a través de un fraccionamiento biodirigido.

Bolivia no solo presenta una gran variedad de plantas, cuenta con más de 30 grupos étnicos diferentes con identidades geográficas y culturales propias. Es así que las plantas provenientes de la región habitada por los Tacanas fueron estudiadas en este trabajo, muchas de estas especies son comunes en toda la amazonía Boliviana.

Los Tacanas vive en la Provincia Abel Iturralde, Departamento de La Paz, en los bosques bajos, en las últimas sierras de la Cordillera Oriental de los Andes (Ixiamas, Tumupasa y San Buenaventura), la población Tacana está ampliamente distribuida en las riveras de los rios Beni, Madre de Dios y Orthon en los departamentos de Beni y Pando ⁷.

Las zonas en las cuales se colectaron las plantas están dentro y colindantes con el Parque Nacional Madidi que es el hogar de una amplia gama de flora y fauna, lo que hace a la región y al parque en particular uno de los más ricos en cuanto a la diversidad de vida animal y vegetal en Sudamérica ⁸. La población Tacana mantiene un amplio conocimiento relacionado con su medio ambiente. En estudios previos, Bourdy et al., (2000) ⁹, Bourdy 1999 ¹⁰, Dewal et al., (1999) ¹¹, destacan un gran número de especies usadas, de las cuales más del 32% se emplean con fines medicinales, se investigó principalmente su actividad antimalarial ¹².

Al contar con una gran variedad de extractos vegetales en el laboratorio y teniendo en cuenta que la posibilidad de encontrar actividad biológica entre

las plantas medicinales con reconocido uso es mayor en relación a las plantas recolectadas al azar, encaramos la búsqueda de plantas citotóxicas con el fin de desarrollar potenciales agentes anticancerígenos.

El objetivo de este trabajo es el de evaluar, la actividad citotóxica in vitro de 118 extractos etanólicos de plantas usadas en la medicina tradicional por la población Tacana aplicando el test de sulforodamina B.

MATERIAL Y MÉTODOS

La metodología empleada en el estudio etnobotánico, la selección de plantas, como también el tratamiento de los ejemplares vegetales, está ampliamente detallada en artículos anteriores^{9,12}.

Cultivo de células

Las líneas celulares empleadas fueron: células humanas de cáncer cervical epidermoide (HeLa) y células humanas de carcinoma nasofaríngeo (KB).

Las células se cultivaron en frascos de cultivo celular de 25cm² (Corning) conteniendo el medio MEM Eagle (medio mínimo esencial), (Sigma Cat. No. 0769), adicionado con la solución de bicarbonato de sodio 7,5 % p/v, 200 mM de L-glutamina, 100 UI/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomina y 5% de suero bovino fetal. Los frascos se incubaron a 37 °C, con una humedad del 90% y 5% CO₂.

Para mantener las células cultivadas en la fase logarítmica de crecimiento en monocapas subconfluentes del 80-90% (2 x 10⁶ células/ml aproximadamente), la monocapa fue lavada dos veces con solución de PBS (solución tampón fosfato) pH 7,2, tripsinizada y subcultivada con una cantidad inicial de 1-2 x 10³ células/ml, dos veces a la semana.

Citotoxicidad in vitro. Ensayo de sulforodamina B (SRB).

Los extractos inicialmente se disolvieron en dimetilsulfoxido (DMSO), la concentración inicial fue de 200 µl/ml, a partir de esta solución se prepararon 3 concentraciones consecutivas: 100, 50 y 20 µg/ml con el medio MEM. En general se evaluaron 4 concentraciones cada una de ellas en triplicado.

Los subcultivos se obtuvieron después del desprendimiento de las células por agitación en presencia de una solución de tripsina (Sigma T8918) a 0,25% y de EDTA (Acido etilenamino diamina

tetracético 0,02%), (Sigma E4884) durante 5-10 minutos a 37 °C. Las células fueron contadas con una cámara de Neubauer, luego lavadas con el medio de cultivo sin suero.

Para determinar la toxicidad in vitro de los extractos, las células son distribuidas a razón de 3000 células en 100 µl de MEM suplementado con 10% de suero bovino fetal en cada alveolo de las microplacas de cultivo celular (de 96 alveolos de fondo plano). 100 µl de cada concentración de extracto a evaluar disueltos en MEM se añadió en cada alveolo, teniendo como concentraciones finales de 100, 50, 25 y 10 µg/ml. Las microplacas fueron incubadas por 72 horas a 37 °C en una estufa húmeda con 5% de CO₂.

Posteriormente se fijaron las células al sustrato plástico, por la adición de 50 µl de ácido tricloroacético frío acuoso al 50%. Después de una incubación de una hora a 4 °C, los alveolos son lavados 4 veces con agua destilada y la placa se secó a temperatura ambiente. Las células luego se colorearon con 100 µl de sulforodamina B (Sigma) al 0.4% en ácido acético glacial al 1% durante 30 minutos. La placa se la lavó 4 veces con una solución de ácido acético al 1% y se la secó a temperatura ambiente. Los colorantes fijados a las proteínas se disuelven con 200 µl de tris base 10 mM, pH 10, durante 5 minutos en agitación constante.

La lectura de la densidad optica (D.O.) se la realizó a 492 nm con el lector de microplacas (Multiskan MCC/340, Titertek USA). El porcentaje de desarrollo de células de cada alveolo es calculado utilizando la siguiente formula:

$$\% \text{ de desarrollo} = \frac{\text{D.O. (células+extracto)} - \text{D.O. (día cero)}}{\text{D.O. (células sin droga)} - \text{D.O. (día cero)}} \times 100$$

El control de día cero consiste en un número idéntico de células en 200 µl de MEM a 5%, dejadas en reposo 30 minutos, al cabo de los cuales fueron fijadas en ácido tricloroacético (ATA) 50% frío, enjuagadas con agua destilada estéril cuatro veces, secadas y guardadas hasta el día de la lectura.

La CI₅₀ (concentración inhibitoria del 50 % del desarrollo de las células) de los extractos fueron obtenidos en gráficos dosis-efecto. En cada ensayo se incluyeron controles positivos (mitomicina C) y negativos (DMSO).

RESULTADOS

Un número de 118 extractos fueron evaluados, a diferentes dosis: 100, 50, 25, 10 μ g/ml. Los extractos se consideraron activos cuando el valor del CI_{50} (concentración que se requiere para inhibir el 50% del crecimiento celular) es menor a 20 μ g/ml. Este criterio de actividad fue establecido por el National Cancer Institut ¹³.

14 de los 118 extractos fueron activos.

De los 14 extractos citotóxicos en este trabajo 12 presentan actividad citotóxica a concentraciones

menores o iguales de 10 μ g /ml

El Cuadro # 1 muestra la familia de las especies activas, parte de la planta evaluada y el número de herbario.

El uso tradicional y la modalidad de preparación de estas especies que muestran actividad citotóxica se indica en el Cuadro # 2. Los CI_{50} de todos los extractos activos fueron calculados y se los presentan en el Cuadro # 3.

**CUADRO # 1
ESPECIES VEGETALES CON ACTIVIDAD CITOTÓXICA**

Familia	Especie	Parte de la planta evaluada	Nº de herbario
ANACARDIACEAE	<i>Astronium urundeveva</i> (Allem.) Engl.	Corteza	GB1559
APOCYNACEAE	<i>Himatanthus sucuuba</i> (Spruce) Woodson	Corteza	SD805
BIXACEAE	<i>Bixa orellana</i> L.	Hojas, semilla, cubierta de semilla	AS240
CAESALPINIACEAE	<i>Caesalpinia pluviosa</i> DC.	Corteza	AS43
CHRYSOBALANACEAE	<i>Licania arborea</i> Seem.	Partes aéreas	SD682
COMBRETACEAE	<i>Terminalia amazonica</i> (J. F. Gmelin) Exell	Corteza	SD78
GUTTIFERAE	<i>Rhedia acuminata</i> Miers	Corteza	SD140
MELIACEAE	<i>Cedrela odorata</i> L.	Corteza	SD771
MELIACEAE	<i>Trichilla pleeanea</i> (Adr. Juss.) C.DC.	Corteza, hoja, raíz	SD153
RUBIACEAE	<i>Psychotria viridis</i> R. & P.	Hojas	SD339
RUBIACEAE	<i>Uncaria tomentosa</i> (Willd. Ex Roemer & Schultes) DC.	Raíz, corteza, hojas	SD459
STERCULIACEAE	<i>Sterculia tessmannii</i> Mildbraed	Corteza	SD192
TILIACEAE	<i>Heliocarpus americanus</i> L.	Corteza, raíz, hojas	AS47
VERBENACEAE	<i>Vitex cymosa</i> Bertero ex Sprengel	Corteza	GB1587

CUADRO # 2.
USO TRADICIONAL, MODO DE PREPARACIÓN DE LAS ESPECIES
VEGETALES QUE PRESENTARON MAYOR ACTIVIDAD CITOTÓXICA.

Nombre científico Familia Nombre Tacana Otro nombre local N° de herbario	Uso tradicional ⁽¹⁰⁾	Modo de preparación ⁽¹⁰⁾
<i>Astronium urundeuva</i> (Allem.) Engl. (Anacardiaceae) Mud'ud'uqui Cuchi GB1559	Fracturas, traumatismos. Cortaduras y heridas. Su aplicación reduce las inflamaciones y acelera la cicatrización. Úlcera de estómago Hemorragias en las mujeres, con menstruaciones abundantes	Se obtiene un pedazo de corteza, la parte interna se hace hervir en agua hasta la obtención de un líquido espeso, de la textura de la miel de abeja. Se sumerge un pedazo de tela en este líquido y se aplica como cataplasma en el lugar afectado. El cataplasma es pegajoso y se deja hasta que desprenda por sí mismo. Y se va cambiando hasta que se observa una mejoría. Para el tratamiento de úlceras en el estómago se "sancocha" la corteza hasta la obtención de un líquido del color del té y se toma. En el caso de hemorragias en las mujeres, se hacer hervir un pedazo de corteza de la planta, hasta obtener una preparación muy oscura. Se deja enfriar y se sumerge un pedazo de gasa limpia. Luego se introduce esta gasa en la vagina de la mujer.
<i>Bixa orellana</i> L. (Bixaceae) Mat're Urucú GB 1905	Manchas de viruela Alimenticio, se añade a los alimentos como colorante rojo	Las hojas se hierven en agua durante dos minutos, se deja enfriar. Las personas con manchas de viruela se bañan en esta preparación, que ayuda a calmar la picazón y acelera la cicatrización de los granos. Para obtener el colorante rojo, se hierve una gran cantidad de semillas en agua, hasta que las semillas se vuelvan blancas y todo el colorante se quede en el agua. Se filtra las semillas y el agua roja se hace hervir hasta la obtención de una pasta espesa. Luego se añade aceite de comer y se guarda en frascos.
<i>Caesalpinia pluviosa</i> DC. (Caesalpinaceae) Tad'e dhebe Momoqui AS43	Disentería Diarrea	Un pedazo de corteza se tritura y se somete a decocción en dos litros de agua, hasta que se reduzca a la mitad. La preparación debe tomarse "en vasos", cuando la persona tiene sed, los niños también pueden servirse pero en cucharas.
<i>Cedrela odorata</i> L. (Meliaceae) Cuabad'u Cedro SD771	Diarreas Escabiasis	En caso de diarreas, se hierve un pedazo de corteza de 10 por 3 cm en 2 litros de agua hasta que se reduzca a un litro. Se toma "vasos" de esta preparación dos veces al día. Para la sarna se hace hervir una pedazo de esta corteza

Nombre científico Familia Nombre Tacana Otro nombre local N° de herbario	Uso tradicional ⁽¹⁰⁾	Modo de preparación ⁽¹⁰⁾
	Hemorragias en las mujeres embarazadas y en las mujeres después de dar a luz	más otra corteza de <i>Theobroma cacao</i> , con esta preparación la persona enferma se baña hasta sanar. Para las mujeres con hemorragia, se hace hervir la corteza raspada en dos litros de agua hasta que se reduzca a la mitad, luego se debe tomar "pequeños vasos" de la preparación, cada hora, hasta que ya no se observe el flujo sanguíneo.
	Reducir hematomas Evita la formación de abscesos	Para disminuir el hematoma y prevenir la aparición de abscesos, se hace hervir la corteza, esta preparación se toma como agua y al mismo tiempo se debe aplicar sobre la parte afectada.
<i>Heliocarpus americanus</i> L. (Tiliaceae) Pud Llausa GB1487	Alivia dolores de las picaduras de la de raya y buna Inflamación de los ganglios de la ingle Ayuda al parto	Triturar bien las hojas y aplicarlas en la herida Triturar bien las yemas de las hojas, ponerlas a calentar en aceite y aplicarlas como cataplasma en la parte inflamada. Cambiar a menudo hasta que desaparezca la inflamación. Cuando el trabajo de parto se prolonga, se estrujan las yemas de las hojas con un poco de agua y se preparan uno o dos vasos grandes de este jugo. La mujer toma esta preparación para facilitar el nacimiento rápido.
<i>Himatanthus sucuuba</i> (Spruce ex Muell. Arg.) Woodson (Apocynaceae) Bashi pasha Sucuhua o Bellaco caspi SD805	Problemas pulmonares Contra golpes, fracturas y traumatismos Cuerpo extraño incrustado en la piel Contra forúnculos	El látex se aplica en un pedazo de tela y se coloca como cataplasma en la espalda y los hombros. El cataplasma se deja hasta que se desprenda espontáneamente, aproximadamente en una semana. Cuando se desprenda se aplica otro, continuándose este tratamiento hasta que la persona se sienta mejor. Este tratamiento se lo realiza también en los niños. Para las incrustaciones de cuerpos extraños en la piel se aplica la "leche" en un trapo limpio sobre la herida. Al secar la savia, esta absorberá el cuerpo extraño. Para tratar los forúnculos, el fruto se parte en dos, se raspa y se pone en la parte afectada, en un cataplasma.
<i>Licania arborea</i> Seeman (Chrysobalanaceae) D'reu Caripé GB1790	Para producir cerámicas Construcción	Las cortezas se secan y se queman, el carbón duro se muele y se convierte en polvo que se mezcla con una greda azul, elaboran la cerámica, las secas y las cocinan.

Nombre científico Familia Nombre Tacana Otro nombre local N° de herbario	Uso tradicional ⁽¹⁰⁾	Modo de preparación ⁽¹⁰⁾
<i>Rheedia acuminata</i> Miers (Guttiferae) Camaruru Ocoró SD140	Alimenticio Juguetes	Los frutos de todos los Camaruru se comen crudos o se preparan como refresco, su sabor azucarado y un poco ácido es muy agradable y refrescante. Los niños tallan la madera de los Camaruru para hacer trompos.
<i>Sterculia tessmannii</i> Mildbraed (Sterculiaceae) Bata SD192	Anticonceptivo Para subir de peso	Se hace hervir la cáscara de la corteza, el agua se filtra y se guarda en una botella. La mujer que no desea tener hijos debe tomar un vaso en luna nueva en ayuna en la mañana y al acostarse, durante dos días. El efecto dura un mes. El mes siguiente, la mujer tiene que tomar solamente por un día.
<i>Terminalia amazonica</i> (J.F. Gmelin) Exell. (Combretaceae) Shacuaqui dhebe Verdolago negro AS0163	Construcción de casas Construcción de muebles Leña Para teñir	La corteza de este árbol se remoja en agua con ropas, tiñéndolas de negro.
<i>Trichilla pleeanea</i> (Adr. Jussieu) C.DC. (Meliaceae) Shapuraqui pasha SD153	Pulmones, hígado, riñón	Se hierve un puñado de la corteza de este árbol en un litro de agua. Esta preparación se toma todo el día, cuando el enfermo tiene sed, hasta terminar el litro en el día.
<i>Uncaria tomentosa</i> (Willdenow ex Roemer&Schultes) DC. (Rubiaceae) Bereu quid'a Uña de gato DS459	Antiemético Reumatismo Para regular las menstruaciones Problemas intestinales, de hígado, de riñones	Cortar trozos pequeños de la corteza. Hacer hervir dos cucharillas de trozos en dos litros de agua hasta que se reduzca a un litro. Tomar tres tazas por día, mínimo un mes. También se puede preparar un jarabe con trozos de corteza porque la decocción es muy amarga.
<i>Vitex cymosa</i> Bertero ex Sprengel (Verbenaceae) Etid'equi Taruma macho AS5	Diarrea Escabiosis, problemas de la piel	Un kilo de corteza interna, raspada, se macera en dos litros de agua hasta obtener un litro. Esta preparación se toma en pequeños vasos, tres veces al día, hasta que ceda la diarrea. Este remedio se puede administrar también a los niños en cucharillas.

CUADRO # 3
ACTIVIDAD CITOTÓXICA IN VITRO DE LOS EXTRACTOS VEGETALES MÁS ACTIVOS

No de herebario	Nombre científico	Familia	Actividad in vitro	
			Linea celular	
			KB Cl ₅₀ µg/ml	HeLa Cl ₅₀ µg/ml
GB1559	<i>Astronium urundeuva</i> (Allem.) Engl.	Anacardiaceae	< 5	< 5
AS240	<i>Bixa orellana</i> L.	Bixaceae	< 5	< 5
AS43	<i>Caesalpinia pluviosa</i> DC.	Caesalpinaceae	< 13	< 11
SD771	<i>Cedrela odorata</i> L.	Meliaceae	10	< 9.4
GB1487	<i>Heliocarpus americanus</i> L.	Tiliaceae	< 10	14.5
SD805	<i>Himatanthus sucuuba</i> (Spruce ex Muell. Arg.) Woodson	Apocynaceae	< 10	< 10
GB1790	<i>Licania arborea</i> Seeman	Chrysobalanaceae	< 7.3	< 8.3
SD140	<i>Rheedia acuminata</i> Miers	Guttiferae	11.5	12
SD192	<i>Sterculia tessmannii</i> Mildbraed	Sterculiaceae	< 10	< 10
SD78	<i>Terminalia amazonica</i> (J.F. Gmelin) Exell	Combretaceae	< 10	< 10
SD153	<i>Trichilla pleeanea</i> (Adr. Jussieu) C.DC.	Meliaceae	12	< 10
DS112	<i>Uncaria tomentosa</i> (Willdenow ex Roemer&Schultes) DC.	Rubiaceae	7.2	9
GB1703	<i>Vitex cymosa</i> Bertero ex Sprengel	Verbenaceae	< 10	<10

DISCUSIÓN

Es oportuno aclarar que frente a la confusión ocasionada por la definición de los términos: citotoxicidad, antitumoral y anticancer, el National Cancer Institute define estos términos de la siguiente manera ²:

Agente citotóxico, es el elemento tóxico para células de tumores cultivadas en el laboratorio, esta relacionado con los resultados in vitro.

El término antitumoral, está relacionado con los sistemas experimentales in vivo, es decir, la toxicidad

que se da en células de tumores presentes en animales.

Anticancer, está vinculado con los ensayos clínicos en el hombre, o sea, elementos tóxicos para las células tumorales en humanos.

Ante estas definiciones parecería que el rol de la citotoxicidad de las plantas es mínimo en relación a el cáncer.

Luego de analizar la aplicación en la medicina tradicional de las plantas citotóxicas utilizadas por

los Tacana, observamos que la actividad anticancer no consta en esta medicina, sin embargo, actualmente en estudios realizados por diferentes investigadores se reportan actividad citotóxica, antitumoral, antioxidante y antimutagénica en las especies estudiadas o especies diferentes pero del mismo género.

Una interesante revisión de *Himatanthus sucuuba* (M. Arg.) Woodson (Apocynaceae) indica que esta especie es ampliamente usada en la medicina tradicional en la región amazónica de algunos países vecinos ¹⁴⁻¹⁵.

La información etnobotánica de este árbol, es algo contradictoria, así en el Perú, la infusión de la corteza de tronco se la usa para curar heridas, para el tratamiento de tumores, forúnculos, disminuir la hinchazón, para la artritis, como vermífugo ¹⁶ y alucinógeno ¹⁷, en el Brasil indican que las cortezas tienen propiedades contra las úlceras, afrodisiacas y el látex se lo utilizaría como un agente antitumoral ¹⁸. En Colombia se indica que las raíces son venenosas ¹⁹. Los Tacanas utilizan principalmente el látex para tratar problemas pulmonares, fracturas, traumatismos y para eliminar los cuerpos extraños incrustados en la piel ¹⁰.

Wood et al. (2001) ²⁰ aislaron de *H. Sucuuba* una espirolactona iridoide bioactiva, plumericin, que sería la responsable in vitro del daño al DNA y cuatro triterpenos pentacíclicos, uno de ellos, el cinnamate, esta asociado con varias actividades biológicas como la inhibición del desarrollo de tumor inducido tanto por los iniciadores y promotores de tumor. Este mismo compuesto evaluado en líneas celulares de tumor, no mostraría actividad citotóxica. Tras un análisis observamos que las contradicciones etnobotánicas se extienden a los resultados de los ensayos biológicos.

Otra especie ampliamente estudiada es *Bixa orellana* L. (Bixaceae), de la cual se aislaron principalmente los carotenoides, compuestos muy estudiados, uno de ellos el norbixin, soluble en agua extraído de las semillas y comercializado con el nombre de annatto, colorante de alimentos ²¹⁻²³. Kovary et al. (2001) ²⁴ manifiestan que el norbixin, puede proteger al DNA contra el daño oxidativo, pero, parece que es un peligroso guardián del DNA genómico y podría también aumentar la extensión del daño oxidativo.

Alves de Lima et al. (2003) ²⁵, indican que annatto, no es mutagénico ni antimutagénico, pero debe usarse cuidadosamente las concentraciones altas,

porque podría aumentar el efecto mutagénico. Estudios en ratas indican que este compuesto no es tóxico ²⁶⁻²⁷. Diversos estudios constatan otras actividades biológicas: antimicrobiana ²⁸ y antigonorreá ²⁹.

Uncaria tomentosa (Willdenow ex Roemer&Schultes) DC., también conocido como "Uña de gato", es una especie que pertenece a la familia de las Rubiaceas, ampliamente usada en la medicina tradicional de Sud América para el tratamiento de cáncer, artritis, gastritis y enfermedades epidémicas. Sandoval et al. (2002) ³⁰ compararon la actividad citotóxica, antiinflamatoria y antioxidante entre *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis* e indican que ambas especies son activas, pero, la última tendría mayor actividad.

Tras el análisis de diferentes estudios sobre la composición química de esta especie, se constata la presencia de dos nuevos nor-triterpenos glicósidos tomentosides A y B ³¹. Riva et al. (2001) ³², en un interesante trabajo, demostraron que algunos extractos y sus fracciones cromatográficas de la corteza de *U. tomentosa* ejerce una actividad antiproliferativa en líneas celulares humanas de cáncer de seno (MCF7). Williams et al. (2001) ³³ afirman que esta especie presenta una actividad antiviral e inmunomoduladora.

Desmarchelier et al. (1999) ³⁴ en estudios de diferentes extractos de corteza de tronco con actividad antioxidante, observaron que la mayor actividad presentaba el extracto metanólico de *Astronium urundeuva* Engl. (Anacardiaceae), la actividad antioxidante podría tener un importante rol en la actividad antiinflamatoria reportada por los Tacanas. Diferentes trabajos de investigación manifiestan que esta especie podría tener una actividad antidiarreica ³⁵ e inhibiría la inducción de lesiones gástricas ³⁶.

No se encontraron reportes sobre la actividad citotóxica de las especies vegetales: *Licania arborea* Seeman (Chrysobalanaceae), *Terminalia amazonica* (J.F. Gmelin) Exell (Combretaceae), *Psychotria viridis* R. & P. (Rubiaceae), *Caesalpinia pluviosa* DC. (Caesalpinaceae) y *Vitex cymosa* Bertero ex Sprengel (Verbenaceae), sin embargo, otras especies diferentes del mismo género refieren esta actividad.

Es así que, Fernandes et al. (2003) ⁴¹, después de un fraccionamiento dirigido por la actividad citotóxica de *Licania tomentosa* Bench obtuvo triterpenos

pentacíclicos que inhibieron el desarrollo e inducieron a una apoptosis de la línea celular eritroleucémica K562, también se describe la inhibición de la proliferación de Lucina 1, un derivado de K562 que presenta la característica multidrogaresistente.

Los extractos de raíces de otra especie del mismo género, *Licania michauxii* Prance, mostraron citotoxicidad en cultivos de células humanas de hepatoma (HepG2) y carcinoma de colon (Caco-2). Las características morfológicas y nucleares de las células tratadas tienen relación con muerte por necrosis ⁴². Chaudhuri et al. (2002) ⁴³ luego de un fraccionamiento biodirigido de los extractos de raíz de esta especie obtuvieron dos nuevos ent-kaurene dipertenos citotóxicos, licamichauxiioic-A y -B ácido.

Oberlies et al. (2001) ⁴⁴ realizaron un fraccionamiento biodirigido empleando las células KB del extracto metanólico de las raíces de *Licania intrapetiolaris*, dió como resultado dos nuevos clerodane diterpenos (intrapetacins A y B) y un conocido triterpeno cucurbitacin B, siendo este último el más activo contra las células KB. También se describió la presencia de flavonoides antioxidantes en *Licania licaniaeflora* ⁴⁵.

Una variedad de plantas tienen actividad alucinógena y sedativa, es así que las infusiones de ayahuasca que se obtienen de las lianas y raíces de diferentes plantas con propiedades psicoactivas como *Psychotria viridis* R. & P. (Rubiaceae) y *Banisteriopsis caapi* que tienen como principal constituyente a la beta-carbolina harmine y al NN-dimetiltriptamina. La ayahuasca es usada ampliamente por las poblaciones aborígenes por sus presumibles beneficios espirituales y medicinales ^{37,38}.

En la búsqueda de actividad citotóxica de esta planta o de otra especie del mismo género, Hayashi et al. (1987) ³⁹ aisló Psychorubrin, una nueva naftoquinona citotóxica de *Psychotria rubra* y también realizó estudios de la relación estructura actividad, este compuesto tiene una importante actividad en el desarrollo de las células KB. Roth et al. (1986) ⁴⁰ aislaron alcaloides polyindolin con actividad citotóxica de *Psychotria forsteriana* (Rubiaceae).

Los antimutágenos y antioxidantes naturales pueden prevenir el cáncer y son de gran interés para los oncólogos y el público en general. El test de Ames apoya el potencial antimutagénico de el extracto supercrítico de dióxido de carbono de hojas de *Terminalia catappa*, el extracto fue más citotóxicos

para las células humanas de hepatoma Huh 7 que para las células de hígado Chang ⁴⁶.

El extracto clorofórmico de otra especie del mismo género, *Terminalia bellerica*, presentó mayor actividad antimutagénica y es probable que un compuesto polifenólico pueda ser el responsable de esta actividad ⁴⁷. Esta misma actividad fue detectada para *Terminalia chebula* ⁴⁸, y Naik et al. (2003) ⁴⁹ describe la actividad antioxidante.

Nakamura et al. (2002) ⁵⁰ afirma que *Caesalpinia ferrea* MART disminuye significativamente tanto el número promedio de los papilomas por ratón como la formación de tumor de piel en ratones.

Los extractos metanólicos de hojas de *Caesalpinia bonducella* presentaron una actividad significativa antitumor y antioxidante en ratones albinos Swiss con carcinoma ascitis Ehrlich ⁵¹.

Diaz et al. (2003) ⁵², aislaron la flavona vitexicarpin de *Vitex negundo* (Verbenaceae), que muestra una amplia citotoxicidad en un panel de líneas celulares de cáncer humano, lamentablemente resultó inactivo en estudios in vivo.

El extracto etanólico de los frutos de *Vitex agnus-castus* muestra actividad citotóxica sobre diferentes líneas celulares, la muerte celular puede ser atribuida al aumento de la oxidación intracelular por el tratamiento con el extracto de esta planta ⁵³. Los flavonoides aislados de la corteza de las raíces producirían también efecto citotóxico ⁵⁴.

No se encontraron reportes de actividad citotóxica, antioxidante y antimutagénico para las especies: *Sterculia tessmannii* Mildbraed (Sterculiaceae), *Trichilla pleenea* (Adr. Jussieu), CDC. (Meliaceae), *Rhedia acuminata* Miers (Guttiferae), *Cedrela odorata* L. (Meliaceae), *Heliocarpus americanus* L. (Tiliaceae).

En conclusión indicamos que un 13% de las plantas estudiadas presentaron actividad citotóxica, pese a no ser seleccionadas por su uso tradicional como anticancerígenas, pues, la actividad anticancer de las plantas estudiadas no consta en la medicina tradicional de los Tacanas.

La actividad citotóxica, antitumor, antioxidante, antimutagénica de 3 especies (*Himatanthus succuba* (M. Arg.) Woodson, *Uncaria tomentosa* (Willdenow ex Roemer & Schultes) DC. *Bixa orellana* L. y *Astronium urundeuva* Engl.) fueron reportadas ampliamente por científicos de otras latitudes.

Diversos trabajos constatan estas mismas actividades en especies diferentes pero del mismo género (*Licania arborea* Seeman (Chrysobalanaceae), *Terminalia amazonica* (J.F. Gmelin) Exell (Combretaceae), *Psychotria viridis* R. & P. (Rubiaceae), *Caesalpinia pluviosa* DC. (Caesalpiniaceae) y *Vitex cymosa* Bertero ex Sprengel (Verbenaceae), lo que nos podría indicar que los principios activos podrían ser comunes en estos géneros, permitiendonos identificar nuevas fuentes de medicamentos.

No se encontraron reportes de actividad citotóxica, antioxidante y antimutagénico para las especies: *Sterculia tessmannii*, *Trichilla pleenea*, *Rheedia acuminata*, *Cedrela odorata* L. (Meliaceae), *Heliocarpus americanus*, o diferentes especies del mismo género. Todas las especies vegetales citotóxicas en este estudio, merecen estudios complementarios.

Finalmente, la constitución química de las plantas incluye una variedad de metabolitos, lo que indica que podrían presentar múltiples efectos biológicos y no siempre las plantas con actividad citotóxica son potenciales agentes anticancerígenos.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto (N° F/1840-3F) fue financiado por la International Foundation for Science, por el Fondo Nacional del Medio Ambiente (FONAMA), Cuenta Iniciativa para las Américas, EIA y el Institut de Recherche pour le Développement, IRD.

Se agradece al Herbario Nacional de Bolivia, a la Lic. L.R. Chávez de Michel.

A los informantes Tacanas y a toda la comunidad Tacana, que nos han permitido acceder a sus valiosos conocimientos en plantas medicinales.

REFERENCIAS

1. Boik J. Cancer and Natural Medicine. Minnesota: Oregon Medical Press; 1996.
2. Suffness M, Douros J. Currents status of the NCI plant and animal product program. J Nat Prod 1982; 45: 1-16.
3. Farnsworth NR. La medicina moderna y las plantas: un encuentro entre la ciencia y el folklore. Foro Mundial de la Salud 1985; 6: 89-94.
4. Shu YZ. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. J Nat Prod 1998; 61: 1053-71.
5. Cordell GA, Farnsworth NR, Beecher CW, Soejarto DD, Kinghorn AD, Pezzuto JM, Wall ME, Wani MC, Brown DM, O'Neill MJ, Lewis JA, Tait RM, Harris TJ. Novel strategies for the discovery of plant-derived anticancer agents. En: Kinghorn A, Balandrín M. Human medicinal agents from plants. New York. American Chemical Symposium series 534, American Chemical Society, , 1993. 191-204.
6. Skehan P, Storeng R, Scudiero DA, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. J. Nat. Cancer Inst 1990; 82: 1107-12.
7. Enciclopedia Boliviana. Los pueblos originarios. El pueblo Tacana. La Paz: Editorial Océano; 2000.p.615-6.
8. Steve K. Madidi. National Geographic. 2000; 6: 3-29.
9. Bourdy G, De Walt SJ, Chavez de Michel LR, Roca A, Deharo E, Muñoz V, Balderrama L, Quenevo C, Giménez A. Medicinal plants uses of the Tacana, an Amazonian Bolivian ethnic group. J. Ethnopharmacol 2000; 70: 87-109.
10. Bourdy G. Tacana: Conozcan nuestros árboles, nuestras hierbas (Tacana: ecuanosha aquí ecunasha id'rene cuana, me schanapaque). La Paz, Bolivia FONAMA-EIA, IRD, UMSA, CIPTA; 1999.
11. De Walt S, Bourdy G, Chavez de Michel LR, Quenevo C. Ethnobotany of the Tacana: quantitative inventories of two permanent plots of northwestern Bolivia. Economic Botany 1999; 53: 237-60.
12. Muñoz V, Bourdy G, Deharo E, Callapa J, Quenevo C, Sauvain M. Actividad antipalúdica in vitro e in vivo de plantas usadas por el grupo étnico boliviano Tacana. Cuadernos 2002; 47: 7-26.
13. Suffness M, Pezzuto JM. Assay related to the cancer drug discovery. Med. Plant. Biochem 1991; 6: 71-91.
14. Villegas LF, Fernandez ID, Maldonado H, Torres R, Zavaleta A, Vaisberg AJ, Hammond GB.. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. J Ethnopharmacol 1997; 55: 193-200.

15. de Miranda AL, Silva JR, Rezende CM, Neves JS, Parrini SC, Pinheiro ML, Cordeiro MC, Tamborini E, Pinto AC. Anti-inflammatory and analgesic activities of the latex containing triterpenes from *Himatanthus sukuuba*. *Planta Med* 2000; 66: 284-286.
16. Perdue GP, Blomster RN. South American plants III: Isolation of fulvoplumierin from *Himatanthus sukuuba* (M. Arg.) Woodson (Apocynaceae). *J Pharm Sci* 1978; 67: 1322-1323.
17. Luna LE. The healing practices of a Peruvian shaman. *J Ethnopharmacol* 1984;11:123-33.
18. Van Der Berg MA. Ethnobotany in the Neotropics. *Advances in Economic Botanic*. Ed. By France GT, Kallunki JA. N.Y.: New York Botanical Garden;1984.p. 140-9.
19. Schultes RE. De plantis toxicariis e mundo novo tropicale commentationes. XIX. Biodynamic apocynaceous plants of the northwest Amazon. *J Ethnopharmacol* 1979;1:165-92.
20. Wood AC, Lee K, Vaisberg JA, Kingston GID, Neto CC, Hammond BG. A bioactive spirolactone iridoid and triterpenoids from *Himatanthus sukuuba*. *Chem Pharm. Bull* 2001; 49: 1477-1478.
21. Evans WC. Annatto: a natural choice. *Biologist (London)*. 2000; 47:181-4.
22. Carvalho PR. Annatto: technological advances and perspectives. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(3 Suppl 1):71S-3S.
23. Wurts ML, Torreblanca RA. Analysis of the seed *Bixa orellana*, L. (annatto) and the waste generated in the extraction of its pigments. *Arch Latinoam Nutr* 1983;33: 606-19.
24. Kovary K, Louvain TS, Costa e Silva MC, Albano F, Pires BB, Laranja GA, Lage CL, Felzenszwalb I. 2001. Biochemical behaviour of norbixin during in vitro DNA damage induced by reactive oxygen species. *Br J Nutr* 85: 431-40.
25. Alves de Lima RO, Azevedo L, Ribeiro LR, Salvadori DM. Study on the mutagenicity and antimutagenicity of a natural food colour (annatto) in mouse bone marrow cells. *Food Chem Toxicol* 2003 Feb;41:189-92.
26. Bautista AR, Moreira EL, Batista MS, Miranda MS, Gomes IC. Subacute toxicity assessment of annatto in rat. *Food Chem Toxicol* 2004; 42: 625-9.
27. Paumgarten FJ, De-Carvalho RR, Araujo IB, Pinto FM, Borges OO, Souza CA, Kuriyama SN. Evaluation of the developmental toxicity of annatto in the rat. *Food Chem Toxicol* 2002; 40:1595-601.
28. Fleischer TC, Ameade EP, Mensah ML, Sawyer IK. Antimicrobial activity of the leaves and seeds of *Bixa orellana*. *Fitoterapia* 2003;74:136-8.
29. Caceres A, Menendez H, Mendez E, Cohobon E, Samayoa BE, Jauregui E, Peralta E, Carrillo G. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. *J Ethnopharmacol* 1995; 48: 85-8.
30. Sandoval M, Okuhama NN, Zhang XJ, Condezo LA, Lao J, Angeles FM, Musah RA, Bobrowski P, Miller MJ. Anti-inflammatory and antioxidant activities of cat's claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. *Phytomedicine* 2002; 9: 325-37
31. Kitajima M, Hashimoto K, Yokoya M, Takayama H, Sandoval M, Aimi N. Two New Nor-triterpene Glycosides from Peruvian "Una de Gato" (*Uncaria tomentosa*). *J Nat Prod* 2003; 66: 320-3.
32. Riva L, Coradini D, Di Fronzo G, De Feo V, De Tommasi N, De Simone F, Pizza C. The antiproliferative effects of *Uncaria tomentosa* extracts and fractions on the growth of breast cancer cell line. *Anticancer Res* 2001; 21(4A): 2457-61.
33. Williams JE. Review of antiviral and immunomodulating properties of plants of the Peruvian rainforest with a particular emphasis on Uña de Gato and Sangre de Grado. *Altern Med Rev* 2001; 6: 567-79.
34. Desmarchelier C, Romao RL, Coussio J, Ciccio G. Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the 'Caatinga' region in northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol* 1999; 67: 69-77.
35. Menezes AM, Rao VS. Effect of *Astronium urundeuva* (aroeira) on gastrointestinal transit in mice. *Braz J Med Biol Res* 1988; 21: 531-3.
36. Rao VS, Viana GS, Menezes AM, Gadelha MG. Studies on the anti-ulcerogenic activity of *Astronium urundeuva* Engl. II. Aqueous extract. *Braz J Med Biol Res* 1987; 20: 803-5.
37. Freedland CS, Mansbach RS. Behavioral profile of constituents in ayahuasca, an Amazonian psychoactive plant mixture. *Drug Alcohol Depend* 1999; 54:183-94.
38. Carod Artal FJ. Neurological syndromes associated with the ingestion of plants and fungi with a toxic component (II). Hallucinogenic fungi and plants, mycotoxins and medicinal herbs *Rev Neurol* 2003; 36: 951-60.

39. Hayashi T, Smith FT, Lee KH. Antitumor agents. 89. Psychorubrin, a new cytotoxic naphthoquinone from *Psychotria rubra* and its structure-activity relationships. J Med Chem. 1987; 30: 2005-8.
40. Roth A, Kuballa B, Bounthanh C, Cabalion P, Sevenet T, Beck JP, Anton R. Cytotoxic activity of polyindoline alkaloids of *Psychotria forsteriana* (Rubiaceae) (1). Planta Med 1986; 6: 450-3.
41. Fernandes J, Castilho RO, da Costa MR, Wagner-Souza K, Coelho Kaplan MA, Gattass CR. Pentacyclic triterpenes from Chrysobalanaceae species: cytotoxicity on multidrug resistant and sensitive leukemia cell lines. Cancer Lett 2003; 190:165-9.
42. Badisa RB, Chaudhuri SK, Pilarinou E, Rutkoski NJ, Hare J, Levenson CW. *Licania michauxii* Prance root extract induces hsp 70 mRNA and necrotic cell death in cultured human hepatoma and colon carcinoma cell lines. Cancer Lett 2000; 149: 61-8.
43. Chaudhuri SK, Badisa RB, Pilarinou E, Walker EH. Licamichauxiioic-A and -B acids—two ent-kaurene diterpenoids from *Licania michauxii*. Nat Prod Lett 2002; 16: 39-45.
44. Oberlies NH, Burgess JP, Navarro HA, Pinos RE, Soejarto DD, Farnsworth NR, Kinghorn AD, Wani MC, Wall ME. Bioactive constituents of the roots of *Licania intrapetiolaris*. J Nat Prod 2001; 64: 497-501.
45. Braca A, Sortino C, Politi M, Morelli I, Mendez J. Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. J Ethnopharmacol 2002; 79: 379-81.
46. Ko TF, Weng YM, Lin SB, Chiou RY. Antimutagenicity of Supercritical CO₂ Extracts of *Terminalia catappa* leaves and cytotoxicity of the extracts to human hepatoma cells. J Agric Food Chem 2003; 51: 3564-7.
47. Kaur S, Arora S, Kaur S, Kumar S. Bioassay-guided isolation of antimutagenic factors from fruits of *Terminalia bellerica*. J Environ Pathol Toxicol Oncol 2003; 22: 69-76.
48. Arora S, Kaur K, Kaur S. Indian medicinal plants as a reservoir of protective phytochemicals. Teratog Carcinog Mutagen 2003; 23: 295-300.
49. Naik GH, Priyadarsini KI, Satav JG, Banavalikar MM, Sohoni DP, Biyani MK, Mohan H. Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine. Phytochemistry 2003; 63: 97-104.
50. Nakamura ES, Kurosaki F, Arisawa M, Mukainaka T, Takayasu J, Okuda M, Tokuda H, Nishino H, Pastore F. Cancer chemopreventive effects of a Brazilian folk medicine, Juca, on in vivo two-stage skin carcinogenesis. J Ethnopharmacol 2002; 81: 135-7.
51. Gupta M, Mazumder UK, Kumar RS, Thangavel Sivakumar T, Mohan Vamsi ML. Antitumor Activity and Antioxidant Status of *Caesalpinia bonducella* Against Ehrlich Ascites Carcinoma in Swiss Albino Mice J Pharmacol Sci 2004; 94: 177–84.
52. Diaz F, Chavez D, Lee D, Mi Q, Chai HB, Tan GT, Kardono LB, Riswan S, Fairchild CR, Wild R, Farnsworth NR, Cordell GA, Pezzuto JM, Kinghorn AD. Cytotoxic Flavone Analogues of Vitexicarpin, a Constituent of the Leaves of *Vitex negundo*. J Nat Prod 2003; 66: 865-7.
53. Ohyama K, Akaike T, Hirobe C, Yamakawa T. Cytotoxicity and apoptotic inducibility of *Vitex agnus-castus* fruit extract in cultured human normal and cancer cells and effect on growth. Biol Pharm Bull 2003; 26: 10-8.
54. Hirobe C, Qiao ZS, Takeya K, Itokawa H. Cytotoxic flavonoids from *Vitex agnus-castus*. Phytochemistry 1997; 46: 521-4.

