



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Capacidad antioxidante, polifenoles y efecto citotóxico
en líneas celulares del extracto hidroalcohólico de
Handroanthus obscurus (Bureau & K. Schum.) Mattos
“tahuari negro”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Farmacia y

Bioquímica

AUTOR

Nadia Lys CHÁVEZ SUMARRIVA

ASESOR

Dra. Norma Julia RAMOS CEVALLOS

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Chávez, N. Capacidad antioxidante, polifenoles y efecto citotóxico en líneas celulares del extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” [Tesis doctoral]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2019.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

Código Orcid del autor (dato opcional): orcid.org/0000-0001-5940-987X

Código Orcid del asesor o asesores (dato obligatorio): orcid.org/0000-0003-4361-1330

DNI del autor: 41695439

Grupo de Investigación: FARMACLI

Institución que financia parcial o totalmente la investigación: Autofinanciado

Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Debe incluir localidades y coordenadas geográficas.

- 1- Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Dirección: Jr. Puno 1002. Cercado de Lima 15001. Perú. Coordenadas: Latitud: S12.0552758; Longitud: O77.0256027
- 2- Unidad de Biología Celular y Virología de la Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Dirección: Av. Honorio Delgado 430, San Martín de Porres 15102. Perú. Coordenadas: Latitud: S12.0234506; Longitud: O77.058736.

Año o rango de años que la investigación abarcó: Desde abril 2018 hasta octubre 2019.



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Siendo las **12:00 hrs. del 17 de octubre de 2019** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Evaluador de tesis, presidido por el Dr. Américo Jorge Castro Luna e integrado por los siguientes miembros: Dra. Norma Julia Ramos Cevallos (Asesora), Dr. José Amiel Pérez y el Dr. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **“Capacidad antioxidante, polifenoles y efecto citotóxico en líneas celulares del extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”,** presentada por la Magíster en Ciencias de la Educación **NADIA LYS CHÁVEZ SUMARRIVA.**

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Doctor en Farmacia y Bioquímica.** Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por la graduando.

A continuación el Jurado Evaluador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

EXCELENTE - 19 (DIECINUEVE)

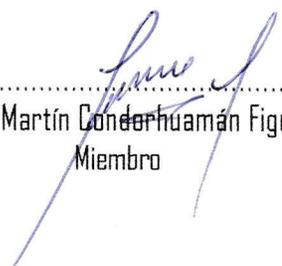
Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Magíster en Ciencias de la Educación **NADIA LYS CHÁVEZ SUMARRIVA,** el Grado Académico de Doctor en **Farmacia y Bioquímica.**

Siendo las **13:10** hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las **13:20** hrs. del 17 de octubre de 2019.


.....
Dr. Américo Jorge Castro Luna (P.P., D.E.)
Presidente


.....
Dra. Norma Julia Ramos Cevallos (P. Asoc., D.E.)
Miembro - Asesora


.....
Dr. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa P.Asoc., T.C.)
Miembro


.....
Dr. José Amiel Pérez
Miembro

Observaciones:

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINAS
ÍNDICE GENERAL	ii
RESUMEN	iv
ABSTRACT.....	v
RESUMO	vi
Lista de figuras.....	vii
Lista de tablas	ix
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Situación problemática	1
1.2. Formulación del problema.....	2
1.2.1.Problema general	2
1.2.2.Problemas específicos.....	2
1.3. Justificación teórica	2
1.4. Justificación práctica	4
1.5. Objetivos de la investigación.....	4
1.5.1.Objetivo general	4
1.5.2.Objetivos específicos	4
1.6. Pruebas de Hipótesis.....	5
1.6.1.Hipótesis general	5
1.6.2.Hipótesis específicas.....	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	7
2.1. Antecedentes del problema.....	7
2.2. Bases teóricas	11
2.2.1.Aspectos botánicos	11
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	22
3.1. Tipo y diseño de investigación	22
3.1.1.Tipo de investigación.....	22
3.1.2.Diseño de investigación.....	22
3.2. Selección de muestra	23
3.3. Colecta del material biológico	24
3.4. Clasificación taxonómica	24

3.5. Tratamiento de la muestra	24
3.6. Preparación del extracto	24
3.7. Marcha fitoquímica.....	25
3.8. Determinación de la actividad antioxidante	25
3.8.1. Método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) ...	26
3.8.2. Método de captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín) – 6-sulfónico (ABTS ^{•+})	27
3.9. Determinación de polifenoles totales.....	28
3.10. Determinación de la actividad citotóxica <i>in vitro</i>	28
3.11. Análisis estadístico	29
CAPÍTULO IV: RESULTADOS.....	30
4.1. Análisis, interpretación y discusión de resultados.....	30
4.1.1. Rendimiento.....	30
4.1.2. Marcha fitoquímica.....	30
4.1.3. Determinación de la capacidad antioxidante	31
4.1.4. Determinación de polifenoles totales. Método de Folin-Ciocalteu	36
4.1.5. Efecto citotóxico usando líneas celulares	36
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	52
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	62
CAPÍTULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
CAPÍTULO VIII: ANEXOS.....	78

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo evaluar la capacidad antioxidante, polifenoles y efecto citotóxico en líneas celulares del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”. La especie vegetal se sometió a un análisis fitoquímico, métodos de captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS^{•+}), captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•]), Folin-Ciocalteu y ensayo de citotoxicidad que usa el colorante Sulforodamina B (SRB) como marcador ante diversas líneas celulares. El extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” presenta como metabolitos secundarios: flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, saponinas, antranas, antranonas, naftoquinonas, triterpenoides y esteroides. Por el método de captación del radical ABTS^{•+} y el método de captación del radical DPPH[•], se obtuvo la capacidad inhibitoria media (IC50) de 26.966 µg/mL y 36.425 µg/mL expresado en peso seco del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” mostrando actividad antioxidante siendo comparada con estudios análogos, mientras que el estándar de referencia Trolox® presentó un IC50 de 3.008 µg/mL y 2.513 µg/mL, respectivamente. El contenido de polifenoles totales determinado por el método de Folin-Ciocalteu fue de 5.330 mg ácido gálico/g de extracto en muestra seca. No presentó efecto citotóxico selectivo en las concentraciones probadas empleando el método SRB usando líneas celulares no tumorales y tumorales: 3T3 (embrión de *Mus musculus*: fibroblastos normales), H460 (*Homo sapiens*: carcinoma de pulmón de células no pequeñas), HuTu 80 (*Homo sapiens*: carcinoma de duodeno), DU 145 (*Homo sapiens*: carcinoma de próstata), MCF7 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de mama), M14 (*Homo sapiens*: melanoma amelanótico) y HT-29 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de colon).

Palabras clave: *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”, extracto hidroalcohólico, línea celular, antioxidante, citotoxicidad.

ABSTRACT

The research aimed to evaluate the antioxidant capacity, polyphenols and cytotoxic effect in cell lines of the hydroalcoholic extract of the bark of *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos "black tahuari". The plant species was subjected to a phytochemical analysis, radical scavenging assay using 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical (ABTS^{•+}), and the radical scavenging assay using 2,2-diphenyl-1-picrilhidrazil (DPPH[•]), Folin-Ciocalteu and cytotoxicity assay using Sulforhodamine B (SRB) dye as a marker against various cell lines. The hydroalcoholic extract of *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos "black tahuari" has as secondary metabolites: flavonoids, phenolic compounds, tannins, saponins, anthrones, anthranones, naphthoquinones, triterpenoids and steroids.

The results obtained using the ABTS^{•+} and DPPH[•] radical scavenging assay for the 50% inhibitory concentration (IC₅₀) were 26.966 µg/mL and 36.425 µg/mL expressed in dry weight of the hydroalcoholic extract of the bark of *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos "black tahuari" show antioxidant activity being compared with similar studies, while the Trolox® reference standard presented an IC₅₀ of 3.008 µg/mL and 2.513 µg/mL, respectively. The total polyphenol content, determined by the Folin-Ciocalteu, method was 5.330 mg gallic acid/g of dry sample extract. There was no selective cytotoxic effect at the concentrations tested using the SRB method working with non-tumor and tumor cell lines: 3T3 (*Mus musculus* embryo: normal fibroblasts), H460 (*Homo sapiens*: lung cell carcinoma not small), HuTu 80 (*Homo sapiens*: duodenal carcinoma), DU 145 (*Homo sapiens*: prostate carcinoma), MCF7 (*Homo sapiens*: breast adenocarcinoma), M14 (*Homo sapiens*: amelanotic melanoma) and HT-29 (*Homo sapiens*: colon adenocarcinoma).

Key words: *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos "tahuari black", hydroalcoholic extract, cell line, antioxidant, cytotoxicity.

RESUMO

A pesquisa teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante, os polifenóis e o efeito citotóxico em linhagens celulares do extrato hidroalcoólico da casca de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos "tahuari preto". A espécie vegetal foi submetida a uma análise fitoquímica, métodos de captura do radical ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolin) -6-sulfônico (ABTS^{•+}), captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•]), Folin-Ciocalteu e ensaio de citotoxicidade usando o corante Sulforodamina B (SRB) como marcador contra várias linhas celulares. O extrato hidroalcoólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos "tahuari preto" apresenta metabólitos secundários: flavonóides, compostos fenólicos, taninos, saponinas, antranas, antranonas, naftoquinonas, triterpenóides e esteróides. Pelo ensaio de captura de radicais livres ABTS^{•+} e pelo ensaio de captura de radicais livres DPPH[•]; a capacidade inibitória média (IC50) foi de 26.966 µg/mL e 36.425 µg/mL expressa em peso seco do extrato hidroalcoólico da casca do *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos "tahuari preto" mostrando atividade antioxidante comparada com estudos semelhantes, enquanto o padrão de referência Trolox® apresentou um IC50 de 3.008 µg/mL e 2.513 µg/mL, respectivamente. O conteúdo total de polifenóis determinado pelo método de Folin-Ciocalteu foi de 5.330 mg de ácido gálico/g de extrato seco da amostra. Não houve efeito citotóxico seletivo nas concentrações testadas pelo método SRB usando linhas celulares não tumorais e tumorais: 3T3 (embrião *Mus musculus*: fibroblastos normais), H460 (*Homo sapiens*: carcinoma de células pulmonares não pequeno), HuTu 80 (*Homo sapiens*: carcinoma duodenal), DU 145 (*Homo sapiens*: carcinoma da próstata), MCF7 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma da mama), M14 (*Homo sapiens*: melanoma amelanótico) e HT-29 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma do cólon).

Palavras-Chave: *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum) Mattos "tahuari negro" extrato hidroalcoólico, linha celular, antioxidante, citotoxicidade.

Lista de figuras

	PÁGINAS
Figura 1. Flujograma de la investigación	23
Figura 2. Flujograma de la extracción del extracto hidroalcohólico.	25
Figura 3. El radical DPPH• frente a una sustancia antioxidante.....	26
Figura 4. El radical ABTS ^{•+} frente a una sustancia antioxidante.	27
Figura 5. Porcentaje de inhibición de ABTS ^{•+} del extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.	32
Figura 6. Porcentaje inhibido del radical ABTS ^{•+} usando el estándar Trolox®.	33
Figura 7. Porcentaje de inhibición de DPPH• del extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.	34
Figura 8. Porcentaje inhibido del radical DPPH• usando el estándar Trolox®.	35
Figura 9. Crecimiento del 3T3 (embrión de <i>Mus musculus</i> : fibroblastos normales) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.	38
Figura 10. Crecimiento de la línea celular 3T3. Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).	38
Figura 11. Crecimiento del H460 (línea celular de <i>Homo sapiens</i> : carcinoma de pulmón de células no pequeñas) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.	40
Figura 12. Crecimiento de la línea celular H460. Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).	40
Figura 13. Crecimiento de HuTu 80 (línea celular de <i>Homo sapiens</i> : carcinoma de duodeno) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.	42
Figura 14. Crecimiento de HuTu 80 (línea celular de <i>Homo sapiens</i> : carcinoma de duodeno). Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).	42
Figura 15. Crecimiento del DU 145 (línea celular de <i>Homo sapiens</i> : carcinoma de próstata) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.	44

Figura 16. Crecimiento del DU 145 (línea celular de <i>Homo sapiens</i> : carcinoma de próstata). Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).....	44
Figura 17. Crecimiento del MCF7 (línea celular de <i>Homo sapiens</i> : adenocarcinoma de mama) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.	45
Figura 18. Crecimiento de la línea celular MCF7. Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).....	46
Figura 19. Crecimiento del M14 (línea celular de <i>Homo sapiens</i> : melanoma amelanótico) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.	47
Figura 20. Crecimiento de la línea celular M14. Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).....	47
Figura 21. Crecimiento del HT-29 (línea celular de <i>Homo sapiens</i> : adenocarcinoma de colon) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.	49
Figura 22. Crecimiento de la línea celular HT-29. Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).....	49
Figura 23. Concentración inhibitoria de crecimiento del 50% del células (GI50) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo ($\mu\text{g/mL}$).	51

Lista de tablas

Tabla 1. Rendimiento de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”	30
Tabla 2. Marcha Fitoquímica del extracto.....	30
Tabla 3. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” empleando el método del ABTS*+	31
Tabla 4. Efecto antioxidante del estándar Trolox® empleando el método del ABTS*+.	32
Tabla 5. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” empleando el método del DPPH*	34
Tabla 6. Efecto antioxidante del estándar Trolox® empleando el método del DPPH*..	35
Tabla 7. Contenido de polifenoles del extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.	36
Tabla 8. Concentraciones del extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo (µg/mL).	36
Tabla 9. Porcentaje del crecimiento del 3T3 (línea celular de embrión de <i>Mus musculus</i> : fibroblastos normales) frente a la muestra y el control positivo (%).	37
Tabla 10. Porcentaje de crecimiento del H460 (línea celular de <i>Homo sapiens</i> : carcinoma de pulmón de células no pequeñas) frente a la muestra y el control positivo (%).	39
Tabla 11. Porcentaje de crecimiento de HuTu 80 (línea celular de <i>Homo sapiens</i> : carcinoma de duodeno) frente a la muestra y el control positivo (%).	41
Tabla 12. Porcentaje de crecimiento de la línea celular DU 145 frente a la muestra y el control positivo (%).	43
Tabla 13. Porcentaje de crecimiento de la línea celular MCF7 frente a la muestra y el control positivo (%).	45
Tabla 14. Porcentaje de crecimiento de la línea celular M14 frente a la muestra y el control positivo (%).	46
Tabla 15. Porcentaje de crecimiento de la línea celular HT-29 frente a la muestra y el control positivo (%).	48

Tabla 16. Concentración inhibitoria de crecimiento del 50% del células (GI50) del cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del <i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo.....	50
Tabla 17. Tabla comparativa de capacidad antioxidante y polifenoles totales.	61

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1. Situación problemática

“La flora peruana es una fuente invaluable de plantas medicinales, un gran número de productos vegetales nativos andinos y amazónicos son usados como medicina tradicional en Perú, con el fin de tratar diferentes enfermedades ⁽¹⁾; muchos de éstos efectos ya están siendo comprobados por la ciencia ⁽²⁻⁶⁾, en estos estudios se incluyen a especies de la familia Bignoniaceae ⁽⁷⁾ y del género *Handroanthus*” ⁽⁸⁻¹⁰⁾.

“Los estudios de plantas con potencial anticanceroso son cada vez más numerosos ^(11, 12), debido a que estos vegetales poseen un potencial excelente de estructuras que sirven como base para agentes terapéuticos para el tratamiento de dicha enfermedad ⁽¹³⁻¹⁵⁾, como es el caso de la quimioterapia ⁽¹⁶⁾; debido a ello existe una cantidad de agentes promisorios que se encuentran en desarrollo clínico y preclínico ⁽¹⁷⁾; además muchos derivados de las plantas son usadas para el tratamiento del cáncer ⁽¹⁸⁾. Entre éste grupo de plantas promisorias se encuentran las de la familia Bignoniaceae; sin embargo, aún queda un número importante de especies por investigar a fondo” ⁽¹⁰⁾, como el *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”; por lo antes mencionado se investiga el extracto etanólico de la corteza de esta planta con la finalidad de ampliar el conocimiento para fundamentar el uso tradicional de la especie; esta información será de interés para los usuarios, los empresarios y en el futuro crear propuestas naturales para prevenir, mantener y restaurar la salud. No se tiene un registro a nivel nacional de la cantidad árboles de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” que son talados con fines madereros, y la información encontrada de ésta planta es escasa si se compara con otras especies emergentes de uso tradicional; es posible que validando su uso medicinal, la especie revalorice su potencial económico y sea considerado tanto en censos nacionales como en futuras investigaciones.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿El extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” tendrá capacidad antioxidante, polifenoles y efecto citotóxico en líneas celulares?

1.2.2. Problemas específicos

- (1) ¿Qué tipos de metabolitos estarán presentes en el extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”?
- (2) ¿El extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” tendrá capacidad antioxidante mediante el método de captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-Sulfónico (ABTS^{•+}) y el método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•])?
- (3) ¿El extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” tendrá presencia de polifenoles mediante el método de Folin-Ciocalteu?
- (4) ¿El extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” tendrá efecto citotóxico selectivo en líneas celulares tumorales y no tumorales empleando el método de la Sulforodamina B (SRB)?

1.3. Justificación teórica

El cáncer se encuentra entre las causas más comunes de muerte en el mundo, siendo el cáncer de próstata la causa que lidera la incidencia de cáncer para hombres, y cáncer de mama para mujeres⁽¹⁹⁾. Uno de los sellos distintivos del cáncer son las alteraciones genéticas⁽²⁰⁾ y epigenéticas⁽²¹⁾.

Las líneas celulares tumorales han servido como modelos que permiten incrementar nuestro conocimiento de las respuestas terapéuticas⁽²²⁾ en el estudio del cáncer. Para el cáncer de próstata, el modelo *in vitro* más común que se tiene es el cultivo celular⁽²³⁾, y en el cáncer de mama, las líneas celulares se han venido usando en investigación, y de ellas la más estudiada es la MCF7, aislada en 1970⁽²⁴⁾.

Los estudios preclínicos permiten encontrar relaciones entre la actividad citotóxica y estructuras químicas de plantas medicinales⁽²⁵⁾ así como información relevante que permite desarrollar estudios clínicos⁽¹⁷⁾, lo antes mencionado es debido a que las plantas poseen un potencial excelente de estructuras que sirven como base para agentes terapéuticos para el tratamiento del cáncer⁽¹³⁻¹⁵⁾; es por ello que actualmente agentes derivados de las plantas son usadas para el tratamiento del cáncer⁽¹⁸⁾.

“Existen cuantiosas investigaciones realizadas en los últimos años en plantas de la familia Bignoniaceae, de modo particular en el género *Tabebuia*, debido a la diversidad de plantas que éste género alberga, ello suscitó controversias con relación a la nomenclatura y existieron errores en su clasificación taxonómica; es en épocas recientes que se divide el género en tres, siendo uno de ellos el *Handroanthus*”⁽¹⁰⁾.

“La especie estudiada es el *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos y las referencias etnobotánicas de su uso datan de fechas anteriores a la partición del género o se encuentran con su nombre común, lo que dificulta encontrar información confiable; además, se observa que existe poca información en relación a la especie y debido a los antecedentes y múltiples hallazgos en relación a otras especies del mismo género, el *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos, se presenta como un árbol con un gran potencial para investigar”⁽¹⁰⁾.

Sin embargo aún queda un número importante de especies por investigar, se justifica esta investigación porque en principio no existen a la fecha trabajos científicos referentes a la capacidad antioxidante, polifenoles y efecto citotóxico

en líneas celulares del extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”; siendo una especie existente en nuestra Amazonía.

1.4. Justificación práctica

La presente investigación permitirá generar conocimiento para fundamentar el uso tradicional de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”; esta información tendrá relevancia para los proveedores de salud, usuarios, investigadores, empresarios y para la toma de decisiones políticas. También se plantea fundamentar el registro de conocimientos colectivos a comunidades campesinas y nativas del Perú de Indecopi. En el futuro se podrá prevenir, mantener y restaurar la salud con propuestas naturales, sintéticas o semisintéticas que deriven de la presente investigación.

Actualmente la información, desde el punto de vista comercial y madereable, del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”, es prácticamente nula en nuestro país, por ello al realizar ésta investigación se hará visible la especie, dando como resultado la generación de mayor conocimiento, la proyección de futuras investigaciones y una potencial revalorización económica.

1.5. Objetivos de la investigación

1.5.1. Objetivo general

Identificar los metabolitos secundarios y evaluar la capacidad antioxidante, polifenoles y efecto citotóxico en líneas celulares del extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

1.5.2. Objetivos específicos

- (1) Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

- (2) Determinar la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” mediante el método de captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-Sulfónico (ABTS^{•+}) y el método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•]).
- (3) Determinar la presencia de polifenoles en el extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” mediante el método de Folin-Ciocalteu.
- (4) Determinar el efecto citotóxico selectivo en líneas celulares tumorales y no tumorales del extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” empleando el método de la Sulforodamina B (SRB).

1.6. Pruebas de Hipótesis

1.6.1. Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” posee capacidad antioxidante, polifenoles y efecto citotóxico en líneas celulares.

1.6.2. Hipótesis específicas

- (1) Es posible identificar las familias de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.
- (2) El extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” posee actividad antioxidante detectable mediante el método de captación del radical ácido 2,2'-

azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-Sulfónico (ABTS^{•+}) y el método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•]).

- (3) El extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” presenta polifenoles detectables mediante el método de Folin-Ciocalteu?
- (4) El extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” posee efecto citotóxico selectivo en líneas celulares tumorales y no tumorales empleando el método de la Sulforodamina B (SRB).

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del problema

Gunjan, et al, (2017), realizaron una revisión rol de la medicina herbal en el tratamiento del cáncer, concluyendo que las drogas farmacológicas usadas actualmente son altamente tóxicas y también afectan a las células normales. Por lo tanto, es hora de concentrarse en la fabricación de drogas nuevas que actuarán de modo preferente en las células cáncerosas, dejando a las células normales sin daño⁽¹¹⁾.

Investigaciones del género Handroanthus

A continuación se presentan investigaciones del género *Handroanthus*, debido a que la especie en estudio corresponde a ésta familia y existe relación quimiotaxonómica o quimiosistemática entre las especies de la misma familia; asimismo “los datos químicos han sido una herramienta útil para comprender las relaciones filogenéticas de las plantas”⁽²⁶⁾, información que fue relevante para la división del género *Tabebuia*.

Costa Bieski, et al, (2015), realizaron un estudio etnobotánico del uso de plantas medicinales por la población del valle de la Región de Juruena, Amazonía, Mato Grosso, Brasil; en ése estudio se encontró que el *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos, cuyo nombre común es Ipê-roxo se usa para heridas de modo tópico, cáncer, depurativo de la sangre, malaria, para problemas del estómago, sangrado vaginal, infección en los ovarios, problemas uterinos, como antibiótico, reumatismo, osteoporosis, infección de vejiga e infección urinaria⁽²⁷⁾.

Almeida da Silva, (2019), realizó una investigación de plantas medicinales conocidas por los pobladores del distrito de Riozinho, Brasil, encontró que tanto las hojas como la corteza del *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos como decocción es usado para el tratamiento de las infecciones⁽²⁸⁾.

Mazumder, et al, (2018), realizaron una revisión de las estructuras de compuestos naturales, en el mismo indican que la diversidad de los compuestos naturales son esenciales para su mecanismo de acción. La fuente, estructuras, la relación estructura-actividad de los compuestos naturales contribuyeron al desarrollo de nuevas clases de agentes de quimioterapia durante los últimos cuarenta años ⁽¹⁶⁾.

Akash, et al, (2017), realizaron una revisión sistemática de uso etnomédico de plantas anticancerígenas y mencionan que las flores y la corteza del árbol de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos en decocción y tintura es usada para los tumores y la leucemia. Se concluye que existe la necesidad de investigar (*in vitro* e *in vivo*) plantas con potencial anticancerígeno, así como otras especies bióticas para encontrar moléculas diferentes con nuevos mecanismos de acción que actúen contra el cáncer ⁽⁸⁾.

Kung, et al, (2014), concluye – entre otros – que el β -lapachona, compuesto del *Handroanthus impetiginosus*, (Mart. ex DC) Mattos, es estudiado por su actividad antitumoral promisoriosa y la toxicidad de éste compuesto hacia las células normales aún no es claro ⁽⁹⁾.

Grose, et al, (2007), indican que estudios moleculares mostraron que el género *Tabebuia* necesitó una revisión taxonómica, la misma que llevó a una división del género: *Tabebuia* y *Handroanthus*, el último es caracterizado por tener madera extremadamente densa conteniendo cantidades copiosas de lapachol ⁽²⁹⁾.

Da Silva, et al, (2018), realizaron una investigación del extracto hidroalcohólico de corteza de la *Tabebuia chrysotricha*, es un sinónimo del *Handroanthus chrysotrichus* – se revisó dos páginas web especializadas “El Listado de Plantas” ⁽³⁰⁾, y “Tropicos” ⁽³¹⁾, encontrando en ésta última una diferencia por lo que se revisó la propuesta original de Grose ⁽²⁹⁾ por ello se plantean como sinónimos - y se encontró que su IC50 fue de 51 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ en relación al ensayo del ABTS^{•+} ⁽³²⁾.

Mucha L, (2014) realizó una investigación de la corteza del árbol Lapacho o *Tabebuia avellanadae*, el mismo es sinónimo del *Handroanthus impetiginosus* ⁽²⁹⁻³¹⁾ que es una muestra obtenida de Brasil y adquirida de modo comercial. La

preparación de la muestra de extracción acuosa consistió en una (01) cucharada de materia prima (0.6864 g), se hirvió durante 5 minutos en 0.5 l de agua, posteriormente se realizó lixiviación por 15 minutos; para la extracción metanólica se pesó la misma cantidad y se mezcló con 50 ml de metanol, se realizó la lixiviación durante 24 horas, y posteriormente se filtró. Se realizaron pruebas de capacidad antioxidante usando el método del DPPH• obteniendo 42.74 ± 0.38 y 48.88 ± 0.07 Equivalente de ácido ascórbico g/ kg de muestra seca (AAE/kg \pm S.D.) obtenida por lixiviación en agua y metanol. Esto también sugiere que no contiene cantidades significativas de antioxidantes extraídos en solventes no polares. También se realizó el contenido total de sustancias polifenólicas, empleando el método de Folin Ciocalcu, los resultados fueron 14.49 ± 1.65 y 58.47 ± 6.94 Equivalente de Ácido Gálico en g / kg (GEA/kg \pm S.D.) de material secado a partir de la lixiviación en agua y metanol ⁽³³⁾.

Gomes, (2010), realizó una investigación de diversas plantas del Noreste de Brasil ⁽³⁴⁾, entre ellos midió la capacidad antioxidante del *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos de Caatinga – Brasil usando hojas deshidratadas a temperatura ambiente las que pasaron por maceración metanólica en frío, posteriormente se filtra y se elimina el solvente por presión, los resultados obtenidos usando el método del DPPH• fue 173.17 ± 16.56 Capacidad Inhibitoria media (IC50 en $\mu\text{g/mL}$), también realizaron la capacidad antiproliferativa en líneas celulares el cáncer de laringe (HEp-2) y el cáncer de pulmón (NCI-H292) usando el método de Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT).

De São Pedro, (2014), investigó la *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC, que es sinónimo del nombre aceptado *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos ⁽²⁹⁻³¹⁾, el objetivo del trabajo fue validar el uso tradicional de esta planta a través de la determinación de la bioactividad de la corteza interna de diversas muestras, una de ellas fue obtenida comercialmente de una herboristería; se realizó una infusión y un extracto metanólico; extracto se obtuvo mediante maceración A 25 °C con metanol y agitación, posteriormente se filtra y el contenido se seca mediante un rotavapor a 40 °C. Se determinó la capacidad antioxidante con el método del 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) y el resultado se expresó en Capacidad Inhibitoria media (IC50) fue de 16.68 ± 0.58 y 0.68 ± 0.03 mg/mL para la infusión y el

extracto metanólico respectivamente. Así mismo se determinó la actividad mediante líneas celulares de carcinoma de mama (MCF7), carcinoma de pulmón (NCI-H460), carcinoma cervical (HeLa), carcinoma hepatocelular (HepG2), hígado de cerdo (PLP2); el extracto metanólico demostró efecto inhibitorio sobre las líneas celulares tumorales humanas, mientras la infusión (así como otras presentaciones estudiadas como el comprimido y jarabe) no presentaron efecto en las líneas celulares usadas ⁽³⁵⁾.

Kim & You, (2014), realizaron una investigación con la corteza interna de la *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb, que es sinónimo del nombre aceptado *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos ⁽²⁹⁻³¹⁾, la misma fue obtenida comercialmente de Brasil; el extracto acuoso se obtuvo por reflujo, posteriormente se filtra y se concentra a través de un rotavapor y finalmente se liofiliza. El extracto etanólico se obtuvo con etanol al 80% en caliente, posteriormente se filtra, se concentra mediante un rotavapor y se liofiliza. El contenido total de polifenoles del extracto acuoso y etanólico fue 93.3 ± 1.6 mg y 115.7 ± 1.5 equivalente de ácido gálico/g, respectivamente. La actividad de captación de radicales DPPH• del extracto acuoso y etanólico para la concentración de 60 µg/ml fue de $32.8 \pm 0.6\%$ y $44.1 \pm 0.8\%$ respectivamente. Mientras que los resultados para la actividad de captación de radicales ABTS•⁺ del extracto acuoso y etanólico para la concentración de 30 µg/ml fue de $51.8 \pm 2.6\%$ y $64.3 \pm 0.8\%$ respectivamente ⁽³⁶⁾.

Cabe resaltar que los estudios en la especie, objeto de estudio de la presente investigación, *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos son muy escasos, estudian la diversidad estructural en ciudades de Perú ⁽³⁷⁻³⁹⁾, revegetación ⁽⁴⁰⁾, estudios en bosques de Colombia ^(41, 42), la Amazonía peruana ⁽⁴³⁻⁴⁶⁾, la Amazonía brasileña ⁽⁴⁷⁾ y en la composición del “varilla” ⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾. A continuación se indican las investigaciones de relevancia de la especie de interés.

Ramirez Arana & Villanueva Mendoza, (2013), en su tesis de pregrado estudiaron el “efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura*, sobre la hiperglicemia inducida en ratas albinas machos de la cepa de *Holtzmann*” ⁽⁵¹⁾. La parte utilizada de la planta fue la corteza total, y la inducción de

la hiperglicemia se realizó con aloxano. Los resultados mostraron que el grupo experimental disminuyó los niveles de glicemia ⁽⁵¹⁾.

En el **Seguro Social del Perú – EsSalud, (2013)**, realizaron una investigación con extracto etanólico de *Tabebuia obscura*, cuyo nombre común es tahuari negro, así como otra especie vegetal; con la finalidad de determinar el efecto que tienen sobre los niveles de glicemia en ratas cepa *Holtzmann* en diabetes inducida con aloxano; el estudio concluye que “el extracto de *Tabebuia obscura* a la dosis de 100 mg/kg tiene buen efecto hipoglicemiante equiparable a la glibenclamida” ⁽⁵²⁾.

Aranda Ventura, Villacrés, & Mego, (2016), determinaron el “efecto del extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura* (Bureau & Schumann) Sandwith (tahuari oscuro)” ⁽⁵³⁾, la parte usada de la planta fue la corteza total y las unidades experimentales fueron ratas *Holtzman* a las cuales se les indujo diabetes con aloxano “se concluye que el extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura* en dosis de 100 mg/kg tiene un efecto hipoglicemiante similar a la glibenclamida a 10 mg/kg en ratas *Holtzman* macho con diabetes experimental inducida por aloxano” ⁽⁵³⁾.

Grandez, et al, (2018), estudiaron la actividad inmunoestimulante del extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura* (tahuari negro) en ratas *Holtzman* concluyendo que presentó buena estimulación del sistema inmune, según el ensayo del retículo endotelial de Delaveau, especialmente a la dosis de 116 mg/kg en comparación a la dosis de 230 mg/kg ⁽⁵⁴⁾.

Chávez & Ramos, (2019), publicaron una revisión bibliográfica del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos ⁽¹⁰⁾.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Aspectos botánicos

(1) Clasificación botánica

El año 2007 se propone que el género *Tabebuia* ⁽⁵⁵⁾ es polifilético ⁽²⁹⁾, y se plantea la división a *Handroanthus* Mattos, *Tabebuia* Gomes y *Roseodendron* Miranda, posteriormente la filogenia molecular ^(56, 57), metabólica ⁽²⁶⁾ y la anatomía de la madera ⁽⁵⁸⁾ confirman la división

del género. Curiosamente en 1970 ya existía una propuesta de la creación del género *Handroanthus* ⁽⁵⁹⁾, pero encontró oposición ⁽⁶⁰⁾ por parte de un estudioso del género *Tabebuia* ⁽⁶¹⁾ considerándolo un sinónimo⁽⁵⁵⁾.

El escenario planteado en el párrafo precedente promovió conflictos taxonómicos ⁽⁶²⁾ que se reflejan en la revisión bibliográfica, por ello la información del género *Handroanthus* spp (de reciente separación) históricamente se encuentra dentro del género *Tabebuia* spp.

El *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos ⁽⁶³⁾ es el nombre aceptado, los sinónimos de la especie ^(30, 64) nos dan una idea de la evolución de la clasificación ⁽¹⁰⁾, y son: *Tabebuia obscura* (Bureau & K. Schum.) Sandwith; *Tabebuia obscura* var. *schultesiana* (Sandwith) Sandwith; *Tabebuia subtilis* var. *schultesiana* Sandwith; *Tecoma obscura* Bureau & K. Schum; y *Tecoma obscura* Bureau & Schumann ⁽⁶⁵⁾. La actual clasificación taxonómica de la especie estudiada es ⁽³¹⁾:

Clase:	Equisetopsida C. Agardh
Subclase:	Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden:	Asteranae Takht.
Orden:	Lamiales Bromhead
Familia:	Bignoniaceae Juss.
Género:	<i>Handroanthus</i> Mattos
Especie:	<i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos

El *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” es conocido con los siguientes nombres comunes o vulgares: *dark handroanthus* ⁽⁶⁴⁾ (inglés); *handroanthus foncé* ⁽⁶⁴⁾ (francés); *pão-d'arco* ^(64, 66), *pau d'arco branco*, *pau d'arco sapucaia* ⁽⁶⁷⁾, *ipê* ⁽⁶⁸⁾ (portugués); palo de arco, purma tahuari⁽⁶⁴⁾, tahuari ^(64, 69), trueno caspi ⁽⁷⁰⁾, tahuari negro ⁽⁵¹⁻⁵³⁾ (español).

(2) Descripción morfológica

En Chávez & Ramos ⁽¹⁰⁾ se indica que son “árboles hasta 18 m, ramas subcuadrangulares, tomentosas cuando jóvenes. Foliolos 5, elípticos, 4.5-15.5 x 2.6-8.1 cm, ápice acuminado, brevi acuminado o subredondeado, base obtusa, redondeada o subcordada, tricomas estrellados dispersos en ambas caras y tomentoso en la vena media, envés lepidoto disperso con glándulas cerca de la vena media, pecíolos 9-14 cm acanalado en el dorso hacia el extremo distal ⁽⁷¹⁾; posee flores amarillas ⁽⁵⁵⁾, cáliz indumento pubescente(s) ⁽⁷²⁾. Hojas: foliolo(s) indumento pubescente(s); foliolo(s) margen(es) entera; tipo 4 hasta 7 foliar(es). Flor: cáliz indumento pubescente(s); color amarilla. Clave Dicotómica de *Handroanthus obscurus* - Clave I: Hojas Compuestas y opuestas, Cáliz 8-14 mm de largo, corola 5.8-6.3 cm de largo ⁽⁷³⁾”.

(3) Distribución geográfica

Se reporta su crecimiento en Sudamérica ^(64, 65, 74-76), en países amazónicos como Brasil, Colombia, Venezuela, Guyana Francesa y Perú. La elevación es de 100 – 250 m ⁽⁷⁷⁾, mientras en Perú se han reportado en el bosque húmedo de colina baja y lomada (varillar), que representa más del 20% de la superficie nacional ^(48, 78).

(4) Información química del género *Tabebuia* y *Handroanthus*

“El perfil químico de la familia Bignoniaceae se caracteriza por la presencia de terpenoides, quinonas, derivados aromáticos especiales y flavonoides; siendo los iridoides marcadores taxonómicos para la familia” ^(10, 79).

“Antes de la división del género *Tabebuia* se consideraba que éstas tenían 9,10-antraquinonas ⁽⁸⁰⁾, así como lapachol ^(81, 82); actuales estudios de metabolómica demostraron que las especies de *Tabebuia* y *Handroanthus* presentaron diferentes capacidades de almacenamiento de metabolitos secundarios; por un lado, el género *Tabebuia* reveló

niveles más altos de iridoideas glicosiladas esterificadas con una fracción fenilpropanoide, como la specioside, verminoside y minecoside: mientras que *Handroanthus* acumuló iridoideas vinculados a un fenol simple, lignanos y derivados de verbasósido”^(10,26).

(5) Información etnobotánica y otros del género *Tabebuia* y *Handroanthus*

“La corteza del *Handroanthus* spp. ha sido utilizada desde antaño, de modo interno, para la disentería, fiebre, malaria, dolor de garganta, heridas, carcinoma, úlceras estomacales, anemia, desórdenes degenerativos y como un depurador y antirreumático; por otro lado, de modo tópico para enfermedades de la piel, infecciones de hongos y cáncer de piel⁽⁸³⁾, entre otros⁽⁸⁴⁾. Por los múltiples usos etnobotánicos de la corteza de la *Tabebuia* spp. los extractores incrementaban el volumen mezclándolo con cortezas de otros árboles”^(10, 85).

“Entre los usos probados está el aumentar la inmunidad, por sus propiedades como agente antimicrobiano, antiparasitario, depurativo⁽⁸³⁾ y antitumoral⁽⁸⁶⁾”⁽¹⁰⁾. De ellos uno de los más estudiados es el *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos; éste se usa ampliamente, especialmente en América del Sur, y con frecuencia en forma de té de hierbas, para una variedad de afecciones, incluidas infecciones (bacterianas, fúngicas, protozoarias y virales), para trastornos digestivos y como agente antiinflamatorio. Se aplica externamente para las ulceraciones y forúnculos de la piel, el eccema y la psoriasis, e incluso el cáncer de piel. Tiene fama de fortalecer el sistema inmune y su uso es popular en la medicina herbal para tratar todas las formas de cáncer. La FDA ha registrado el medicamento para aliviar las condiciones y los síntomas del cáncer como un suplemento dietético^(83, 87).

“Las especies de *Handroanthus* se caracterizan por tener madera con copiosas cantidades de lapachol⁽²⁹⁾, una molécula patentado por Pfizer® como agente anticancerígeno”^(10, 88).

“Los árboles de la familia *Bignoniaceae* ⁽⁸⁹⁾ y los géneros *Tabebuia* ⁽⁹⁰⁻⁹²⁾ y *Handroanthus* ⁽⁹³⁾ son bien conocidos por su uso en la industria maderera. Los tallos tienen uso en construcción civil ⁽⁶⁷⁾, es necesario tener en cuenta que no es una especie de primera elección para la extracción comercial ⁽⁹⁴⁾, pero debido al uso de éstos árboles se plantea reforestarlos, por ello se hacen investigaciones en propagación vegetativa” ^(10, 95-98).

“Las especies del género *Handroanthus* Mattos comprende principalmente las especies de flores amarillas con una indumentaria de pelos cubriendo las hojas y el cáliz. ⁽²⁹⁾ por ello son apreciadas como ornamentales por sus flores vistosas, de colores vivos” ^(10, 99).

(6) Información etnobotánica y otros del *Handroanthus obscurus*

Corteza: El algodón y lana se tiñen de amarillo con el extracto acuoso de la madera, esto se reporta para los géneros *Tabebuia* (que posteriormente se divide en *Handroanthus* y otros) y *Tecoma* ⁽¹⁰⁰⁾. “La etnia Bora del Perú usa la corteza de la planta como antirreumático ^(69, 84, 101). Se cree que la corteza de la planta tiene propiedades antirreumáticas ⁽⁶⁴⁾” ⁽¹⁰⁾ y se usa por sus propiedades anticancerígenas ⁽⁵⁴⁾.

Flores: “Gentry ⁽¹⁰²⁾ reporta el uso en hemorragias; en la parte central y este de Colombia, las mujeres de la tribu taiwaanos agregan flores amarillas secas a sus comidas como remedio para la menstruación irregular ^(69, 84); asimismo, las flores secas en la comida actúan contra la dismenorrea ^(64, 103). Los pescadores de la Amazonía tienen un importante conocimiento etnobotánico y etnoecológico relacionado con las actividades de pesca y plantas; por ejemplo, los desâna de Alto Rio Negro –Brasil, usan las flores de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos como comida para los peces” ⁽¹⁰⁾, esto último fue referido por diversos autores ⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾.

Otros usos: “ornamental ⁽⁶⁴⁾, madera” ^(10, 93).

(7) Cáncer

La definición de cáncer es “crecimiento anormal y nuevo de tejido. Las neoplasias malignas muestran un mayor grado de anaplasia y tienen la propiedad de invasión y metástasis, comparados con las neoplasias benignas” ⁽¹⁰⁷⁾.

Douglas & Robert plantean que existen alteraciones esenciales en la fisiología celular que dictan colectivamente el crecimiento maligno: autosuficiencia en las señales de crecimiento, insensibilidad a las señales inhibitoras del crecimiento (anti crecimiento), evasión de muerte celular (apoptosis), potencial replicativo ilimitado, angiogénesis sostenida e invasión tisular y metástasis. Cada uno de estos cambios fisiológicos (nuevas capacidades adquiridas durante el desarrollo del tumor) representa el éxito de la violación de un mecanismo de defensa contra el cáncer conectado a las células y tejidos ⁽¹⁰⁸⁾.

El cáncer es un problema de salud a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que actualmente las dos terceras partes de los casos que ocurren a nivel mundial se da en los países en vías de desarrollo y presenta diversos factores desencadenantes ⁽¹⁰⁹⁾. Según datos del Instituto Nacional de Enfermedades neoplásicas (INEN) el cáncer de mama resultó ser el más frecuente en el período 2010-2012, el segundo lugar en frecuencia fue para el cáncer de próstata ⁽¹¹⁰⁾.

“Las políticas sanitarias abordan el problema del cáncer desde la prevención y detección precoz de casos de cáncer en personas con factores de riesgo. La mayor parte de las neoplasias en el Perú están asociadas a hábitos de vida poco saludables como el consumo excesivo de tabaco y alcohol, consumo exagerado de grasas y poco consumo de vegetales. Asimismo, están asociadas a agentes

infecciosos como el virus del papiloma humano (VPH) y el *Helicobacter pylori*. Las principales neoplasias en adultos, a nivel nacional, están localizadas en el cérvix, estómago, mama, piel y próstata”⁽¹¹¹⁾.

“Los tratamientos actuales para el cáncer se basan principalmente en la cirugía, la radiación y la quimioterapia”⁽¹⁰⁸⁾; la selección de uno de ellos o su combinación depende del desarrollo en que se encuentre el tumor. Con respecto a la quimioterapia, existe una gama de medicamentos aprobados por la *Federal Drug Administration* (FDA)⁽¹¹²⁾, con “la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral y/o provocar la muerte celular”⁽¹⁰⁸⁾, el constante problema que se encuentra es que no tienen una selectividad de células tumorales y no tumorales, lo que implica reacciones adversas y efectos secundarios graves⁽¹¹³⁾; por lo que los investigadores siguen buscando principios activos o extractos naturales para la terapia de enfermedades como el cáncer.

(8) Líneas Celulares

Una línea celular es un cultivo celular permanentemente establecido que va a proliferar de modo indefinido mientras tenga medio fresco y espacio⁽¹¹⁴⁾. Las líneas difieren de las cepas celulares en que se han inmortalizado.

Las líneas celulares son ampliamente usadas para investigación en laboratorio, y particularmente como un modelo *in vitro* en la investigación del cáncer⁽¹¹⁵⁾, cuando se usa en el modo correcto, las líneas celulares, son herramientas poderosas y la información obtenida se transcribe en beneficios clínicos⁽¹¹⁶⁾.

Las ventajas del uso de las líneas celulares son la facilidad de trabajar con ellas en cantidades casi infinitas; adicionalmente, ellas exhiben un alto grado de homogeneidad y son fácilmente reemplazados, por el stock congelado, por si llegan a contaminarse⁽¹¹⁵⁾. Las líneas celulares usadas son *American Type Culture Collection* (ATCC), es

decir pertenece a la Colección Americana de Cultivos Tipo, la misma que es conocida como una organización global sin fines de lucro que conserva de biorecursos y brinda materiales biológicos a organizaciones de investigación ⁽¹¹⁷⁾. Para el desarrollo de la presente investigación se usa la Sulforonamida B, que es un colorante aminoxantano, rosado brillante, usado para medir la citotoxicidad de extractos como un método de tinción celular ⁽¹¹⁸⁾; y como control positivo se usa el 5-fluorouracilo (5FU), que es una fluoropirimidina ampliamente usada para el tratamiento del cáncer ⁽¹¹⁹⁾.

Las líneas celulares usadas en la presente investigación son:

- 3T3: es una línea celular de fibroblastos normales de ratón, se desarrollaron a partir de embriones desagregados de ratón BALB/c. “Son extraordinariamente sensibles a la inhibición por contacto y muy susceptibles a la transformación por el virus SV40 y el virus del sarcoma murino” ⁽¹⁰⁷⁾.
- H460: carcinoma de pulmón de células no pequeñas humano, la línea celular NCI-H460 fue derivada por A. F. Gazdar y sus asociados en 1982 a partir del líquido pleural de un paciente con cáncer de pulmón de células grandes (ATCC Life Technologies, Rockville, MD, USA).
- HuTu 80: células de cáncer duodenal humano, derivado de un varón caucásico de 53 años (ATCC Life Technologies, Rockville, MD, USA).
- DU 145: es una línea celular de cáncer de próstata, originalmente obtenida de un hombre caucásico de 69 años con carcinoma de próstata, derivado de un sitio metastásico: el cerebro en 1975 ⁽¹²⁰⁾ y es una línea celular representativa para el estudio de cáncer prostático ⁽²³⁾.

- MCF7: es una línea celular de cáncer de mama humano, se nombró de ese modo porque un investigador de la Fundación para el Cáncer de Michigan (*Michigan Cancer Foundation*) lo pudo aislar en su séptimo intento ⁽²⁴⁾. Ésta línea celular se obtuvo en 1973 de una efusión pleural ⁽¹²¹⁾.
- M14: melanoma amelanótico humano (ATCC Life Technologies, Rockville, MD, USA).
- HT-29 adenocarcinoma de colon, esta línea fue aislada de un tumor primario en 1964 por J. Fogh de una mujer caucásica de 44 años (ATCC Life Technologies, Rockville, MD, USA).

(9) Radical libre

Son estructuras químicas que tienen un electrón desapareado en el orbital más externo, por lo tanto poseen una vida media corta, gran inestabilidad, son muy reactivos, por lo que actúan cercano al sitio en que se forman ⁽¹²²⁾. “Desde el punto de vista molecular son pequeñas moléculas ubicuitarias y difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo) al interactuar con las principales biomoléculas del organismo” ⁽¹²³⁾.

“No obstante lo expresado anteriormente, los radicales libres del oxígeno tienen una función fisiológica en el organismo como la de participar en la fagocitosis, favorecen la síntesis de colágeno, y la síntesis de prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis” ⁽¹²³⁾.

“Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son: radical hidroxilo (HO)[•], peróxido de hidrógeno (H₂O₂), anión superóxido (O₂⁻), oxígeno singlete (1O₂), oxígeno nítrico (NO), peróxido (ROO), semiquinona (Q) y ozono”⁽¹²³⁾, éstos producen daños por estrés oxidativo a macromoléculas, como proteínas, lípidos, enzimas y ADN⁽¹²⁴⁾.

(10) Antioxidantes

Los antioxidantes son un grupo de sustancias útiles para combatir el cáncer y otros procesos que potencialmente llevan a enfermedades como Envejecimiento, Enfermedad de Alzheimer, Enfermedad de Parkinson, Esclerosis lateral amiotrófica, Carcinogénesis, Enfermedad cardiovascular, Enfermedades hepáticas y Diabetes mellitus⁽¹²²⁾.

A diferencia de los agentes citotóxicos que dañan las células tumorales, los antioxidantes actúan previniendo la aparición del cáncer durante la carcinogénesis; y, en general, son beneficiosos para las células⁽³⁴⁾.

(11) Antioxidantes naturales

Para combatir a los radicales libres, los organismos vivos producen enzimas (por ejemplo, catalasa, superóxido dismutasa y peroxidasa) o moléculas no enzimáticas, como cisteína, ácido ascórbico, flavonoides y vitamina K para su protección⁽¹²⁴⁾.

(12) Actividad biológica de los polifenoles

Entre los compuestos no enzimáticos obtenidos de fuentes naturales, los fenoles han recibido una atención especial debido a su capacidad antioxidante comprobada⁽¹²⁴⁾. Los fenoles se derivan del metabolismo secundario y tienen una amplia distribución en el reino de las plantas con diversas funciones en las plantas, como la defensa química contra herbívoros⁽¹²⁵⁾ y aleopatía ("cualquier efecto directo o indirecto causado por una planta (incluyendo microorganismos) sobre otras a través de la producción de compuestos químicos que escapan al medio

ambiente" ⁽¹²⁶⁾). Aunque los compuestos fenólicos se han relacionado con la actividad antioxidante, algunos estudios han enfatizado clases específicas, como los flavonoides y los taninos ^(127, 128).

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

Este trabajo de investigación se desarrolló en un centro analítico con la infraestructura adecuada y equipos adecuados:

- Laboratorio del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Laboratorio de Investigación y Desarrollo (LID) - Unidad de Biología Celular y Virología de la Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

3.1. Tipo y diseño de investigación

3.1.1. Tipo de investigación

Es una investigación de tipo correlacional.

“Este tipo de estudios tiene como finalidad conocer la relación o grado de asociación que exista entre dos o más conceptos, categorías o variables en una muestra o contexto en particular”⁽¹²⁹⁾.

3.1.2. Diseño de investigación

Es una investigación de diseño experimental.

"En un estudio experimental se construye el contexto y se manipula de manera intencional la variable independiente [...] y se observa el efecto de esta manipulación sobre la variable dependiente"⁽¹²⁹⁾.

Unidad de análisis: extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

A continuación se presenta el flujograma del proceso de investigación que se muestra a continuación:

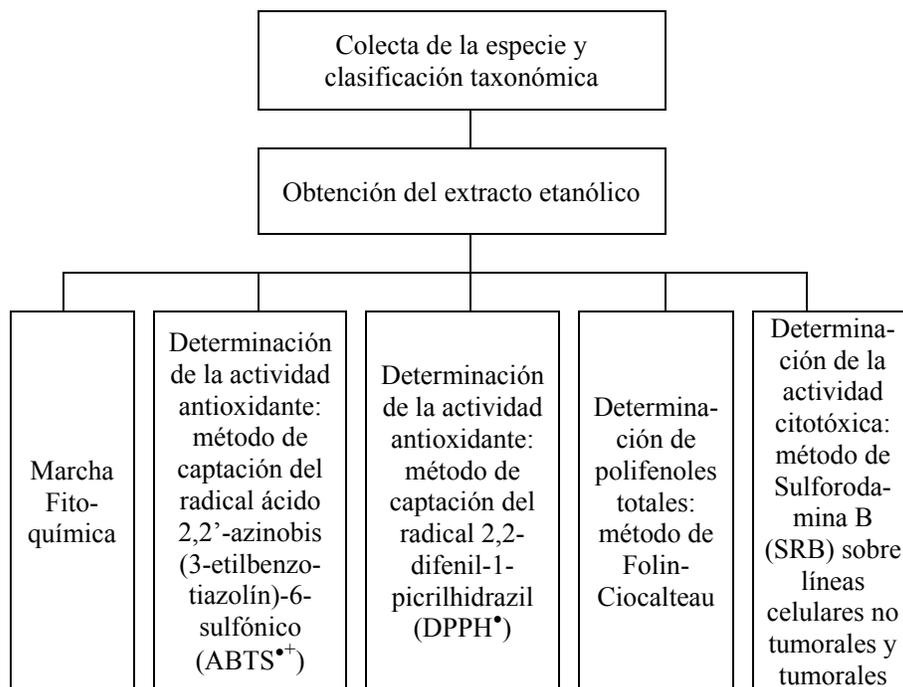


Figura 1. Flujograma de la investigación
Fuente. Propia

3.2. Selección de muestra

Muestra vegetal: Para la investigación se colectó un (01) kilogramo de corteza de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” correspondiente a un (01) árbol de seis metros (6 m) de alto y estéril; para luego proceder con el extracto hidroalcohólico. La especie silvestre se colectó en el mes de agosto de 2018 en el distrito de San Juan, provincia de Maynas y departamento de Loreto; el hábitat es bosque secundario de arena blanca, cercano a los predios de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), teniendo presente las directrices de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales⁽¹³⁰⁾. Cabe resaltar que existen variaciones genéticas y plasticidad fenotípica (capacidad de un organismo de producir fenotipos diferentes en respuesta a cambios en el ambiente)⁽¹³¹⁾, lo que repercute en la variabilidad de metabolitos secundarios producidos por las plantas; siendo las condiciones ambientales, como la alelopatía⁽¹³²⁾, radiación ultravioleta (UV), estrés hídrico, ozono, entre otros⁽¹³³⁾, las causantes de dicha variabilidad.

3.3. Colecta del material biológico

La colecta de la especie silvestre se realizó por un Biólogo Colegiado en el distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas y departamento de Loreto; en la localidad de Quistococha, Carretera Iquitos-Nauta, km 7.

3.4. Clasificación taxonómica

La clasificación de la especie en su taxonomía se realiza por el Centro de Investigación de Recursos Naturales Herbarium Amazonense – AMAZ de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana del 2019.

3.5. Tratamiento de la muestra

Se libera la corteza de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” de partículas extrañas; el material seco se troza la muestra para que pueda ser introducida al molino de cuchillas.

3.6. Preparación del extracto

Un total de 125 g del material vegetal seco y molido fueron sometidos a maceración a temperatura ambiente durante 14 días, utilizando 2 000 mL de solvente de extracción que consiste en alcohol etílico al 96° (1 400 mL) y agua destilada (600 mL), en proporciones 7:3, obteniendo una concentración final de 67.2° de alcohol etílico; esta mezcla se sometió a agitación constante y protegido de la luz. Luego se procedió a la filtración mediante papel de filtro Whatman N° 42 en un matraz Kitasato de 1 000 mL marca: Pyrex con un embudo Büchner acoplado a una bomba de vacío. Luego de realizado el proceso de filtración se procedió a concentrar a sequedad la muestra a una estufa de secado a 40 °C.

Flujograma de la obtención del extracto hidroalcohólico

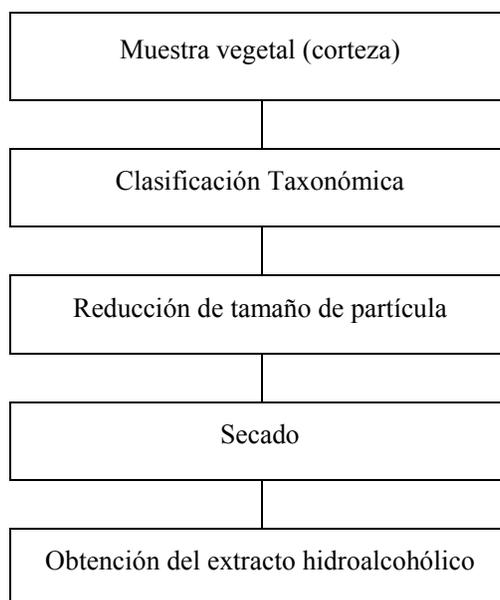


Figura 2. Flujograma de la extracción del extracto hidroalcohólico.
Fuente. Propia

3.7. Marcha fitoquímica

Se realizó la marcha fitoquímica del extracto de corteza de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” en relación a los metabolitos secundarios: flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, saponinas, antranas, antranonas, naftoquinonas, triterpenoides y esteroides, alcaloides y glicósidos.; empleando reactivos de coloración y precipitación⁽¹³⁴⁾.

3.8. Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante describe la habilidad de las moléculas redox de los sistemas biológicos para captar radicales libres^(135, 136), para fines de la presente investigación la muestra problema es el extracto hidroalcohólico de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el estándar de referencia Trolox®. Tanto el método del DPPH• como el del ABTS*⁺ se basan en la transferencia de electrones e involucran la reducción de una sustancia oxidante coloreada; ambos ensayos son convenientes en su aplicación debido a su bajo costo, no requieren equipos ultra sensibles⁽¹³⁷⁾, presentan facilidad, rapidez, sensibilidad y estabilidad de los radicales usados⁽¹³⁸⁾; por lo tanto son los más populares⁽¹³⁵⁾ y útiles incluso para alimentos provenientes de plantas conteniendo compuestos

antioxidantes hidrofílicos, lipofílicos y altamente pigmentados; en éste sentido el método del ABTS^{•+} comparado con el DPPH[•] estima mejor la capacidad antioxidante de dichos alimentos ⁽¹³⁵⁾. Sin embargo, diversos autores encuentran limitaciones ^(135, 137-140) a estos análisis.

3.8.1. Método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•])

Éste es un método de captación del 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•]) en su forma radical, con un electrón desapareado; el DPPH[•] tiene una absorción a la longitud de onda de 517 nanómetros (color azul violeta), que es medida espectrofotométricamente, y que desaparece luego de la reacción con una sustancia antioxidante decolorándose hacia amarillo pálido ⁽¹⁴¹⁾. El efecto de los antioxidantes sobre el DPPH[•] se teoriza que es debido a su capacidad de donar hidrógenos, o habilidad de donar protones ⁽¹⁴²⁾.

En la siguiente figura ⁽¹⁴³⁾ se muestra el radical DPPH[•], que tiene color púrpura intenso, además es sintético y orgánico, éste puede reducirse en presencia de sustancias antioxidantes, con la consiguiente decoloración. La capacidad antioxidante puede evaluarse mediante la disminución de la absorción a cierta longitud de onda.

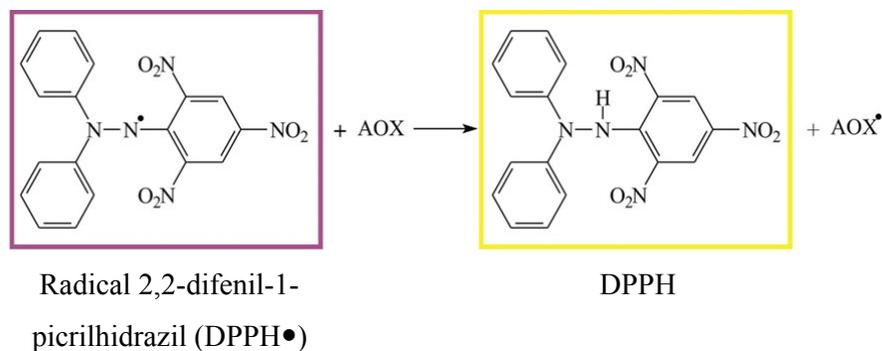


Figura 3. El radical DPPH[•] frente a una sustancia antioxidante.
Fuente. Becker, *et al* ⁽¹⁴³⁾.

3.8.2. Método de captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín) – 6-sulfónico (ABTS^{•+})

El ensayo del ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS) se basa en la generación del radical catión o protonado ABTS^{•+} de color verde azulado - posee una absorción máxima en tres picos, uno de ellos es en la de longitud de onda de 734 nanómetros⁽¹⁴⁴⁾ – que puede ser reducido por antioxidantes⁽¹³⁵⁾ y se visibiliza por la disminución de la coloración⁽¹⁴²⁾. La capacidad de captar radicales protonados es un atributo importante de los antioxidantes⁽¹⁴²⁾.

“Es un radical artificial que no mimetiza bien la situación *in vivo*, termodinámicamente puede ser reducido por compuestos que tengan un potencial redox menor que el del ABTS (0.68V), pudiendo reaccionar con el radical, muchos compuestos fenólicos con un potencial más bajo. El punto final de la reacción lo marca la sustancia antioxidante empleada, fijando tiempos cortos o muy elevados que pueden interferir en los resultados finales, lo cual, es un inconveniente”⁽¹⁴⁵⁾.

En la siguiente figura⁽¹⁴³⁾ se muestra el radical ABTS^{•+}, que tiene color verde azulado, además es sintético y orgánico, éste puede reducirse en presencia de sustancias antioxidantes, con la consiguiente decoloración. La capacidad antioxidante puede evaluarse mediante la disminución de la absorción a cierta longitud de onda.

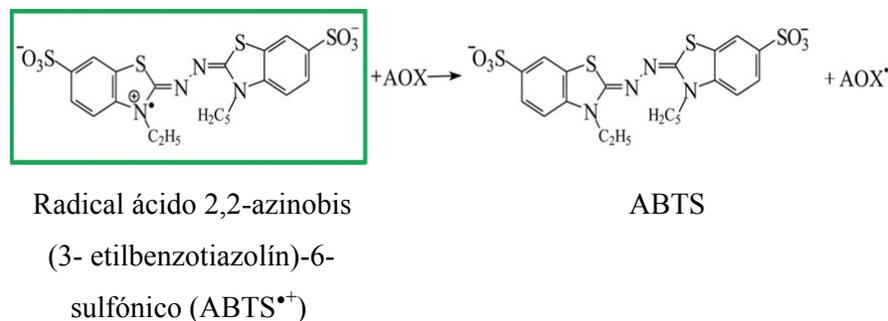


Figura 4. El radical ABTS^{•+} frente a una sustancia antioxidante.
 Fuente. Becker, *et al*⁽¹⁴³⁾.

3.9. Determinación de polifenoles totales

La medida del contenido de fenoles totales se realiza utilizando el método de Folin – Ciocalteu ⁽¹⁴⁶⁾, se usa para determinar las sustancias fenólicas totales en plantas; se determina la capacidad que tiene para reducir el reactivo y debido a ello el reactivo pasa de color amarillo a azul, y se mide espectrofotométricamente.

3.10. Determinación de la actividad citotóxica *in vitro*

La actividad citotóxica del extracto se evaluó usando el colorante Sulforodamina B (SRB) ⁽¹⁴⁷⁻¹⁴⁹⁾, en diversas líneas celulares tumorales y no tumorales:

- 3T3 (embrión de *Mus musculus*: fibroblastos normales)
- H460 (*Homo sapiens*: carcinoma de pulmón de células no pequeñas)
- HuTu 80 (*Homo sapiens*: carcinoma de duodeno)
- DU 145 (*Homo sapiens*: carcinoma de próstata)
- MCF7 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de mama)
- M14 (*Homo sapiens*: melanoma amelanótico)
- HT-29 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de colon)

Las líneas celulares son de la Colección americana de cultivos tipo (ATCC: *American Type Culture Collection*) las brindó el Laboratorio de Investigación y Desarrollo “Abraham Vaisberg Wolach” de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

De acuerdo con Skehan et al ⁽¹⁴⁷⁾, diferentes diluciones de extracto y 5-FU se agregan a diferentes pozos conteniendo las líneas celulares y se incuban. La Sulforodamina B (SRB) será usada como un colorante para determinar la densidad celular. Luego de incubar las células se les añade ácido tricloroacético 10% (p/v) para fijarlas, como dato se indica que en medio ligeramente ácido la SRB se une a proteínas de modo estequiométrico por lo que se procede a teñir las células con SRB, luego se enjuaga con ácido acético 1% (v/v) para eliminar la SRB que no se fijó. El colorante unido a las células viables se extrae con medio alcalino (solución de Tris pH 10,5), posteriormente la solución se lee a 510 nm. Los resultados serán

expresados en la concentración que es capaz de inhibir la mitad (50%) del crecimiento celular (GI50) y se le realizó un análisis de regresión lineal ⁽¹⁵⁰⁾.

3.11. Análisis estadístico

Los datos se procesaron utilizando el paquete Microsoft Excel 2010 y el programa SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) versión 21.

En la determinación de la capacidad antioxidante se llevó a cabo el análisis de varianza (ANOVA) unidireccional para comparar las medias, seguido de la comparación de los componentes (comparación múltiple) a través de la prueba *Post Hoc* de DHS (*Honestly Significant Difference*) de Tukey para verificar diferencias significativas entre las medias ⁽¹⁵¹⁾; una probabilidad del 5% o menos ($p \leq 0.05$) fue considerada como estadísticamente significativa (Anexo 4-7).

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Análisis, interpretación y discusión de resultados

4.1.1. Rendimiento

Tabla 1. Rendimiento de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Parte de la planta	Peso de muestra (g)	Secado a 40 °C (g)	Rendimiento (%)
Corteza	125.00	6.9	5.52

Fuente. Propia

Por su contenido de humedad, el material recolectado, se desecó obteniéndose porcentajes de rendimiento de 5.52 %.

4.1.2. Marcha fitoquímica

Tabla 2. Marcha Fitoquímica del extracto.

Metabolito secundario	Reactivo(s)	Extracto hidroalcohólico de corteza
Flavonoides	Shinoda	+++
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	++
Taninos	Gelatina	++
Saponinas	Índice afrosimétrico	+++
Antronas, antranonas, naftoquinonas	Bortranger	+++
Triterpenoides y esteroides	Liebermann-Bouchardat	+++
Alcaloides	Draguendorff, Mayer, Popoff, Bertran, Wagner	-
Glicósidos	Vainillina	-

Leyenda: abundante (+++), moderado (++), leve (+), ausente (-).

Fuente. Propia

De la marcha fitoquímica preliminar se identificaron los siguientes metabolitos secundarios: flavonoides, compuestos fenólicos, taninos,

saponinas, antronas, antranonas, naftoquinonas, triterpenoides y esteroides.

4.1.3. Determinación de la capacidad antioxidante

- (1) Determinación de la Capacidad Antioxidante mediante el ABTS^{•+} (radical ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico)

Los resultados de la prueba de ABTS^{•+} se muestran en las siguientes tablas y figuras; primero se presenta el comparativo con la muestras del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y luego el comparativo con el estándar de Trolox®.

Tabla 3. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” empleando el método del ABTS^{•+}.

Concentración del extracto (µg/mL)	Absorbancia (unidades)	Porcentaje de Inhibición (%)	IC50 (µg/mL)
0	0.665	0.013	
5	0.582	12.461	
10	0.523	21.454	26.966
20	0.409	38.554	
40	0.186	72.073	

Fuente. Propia

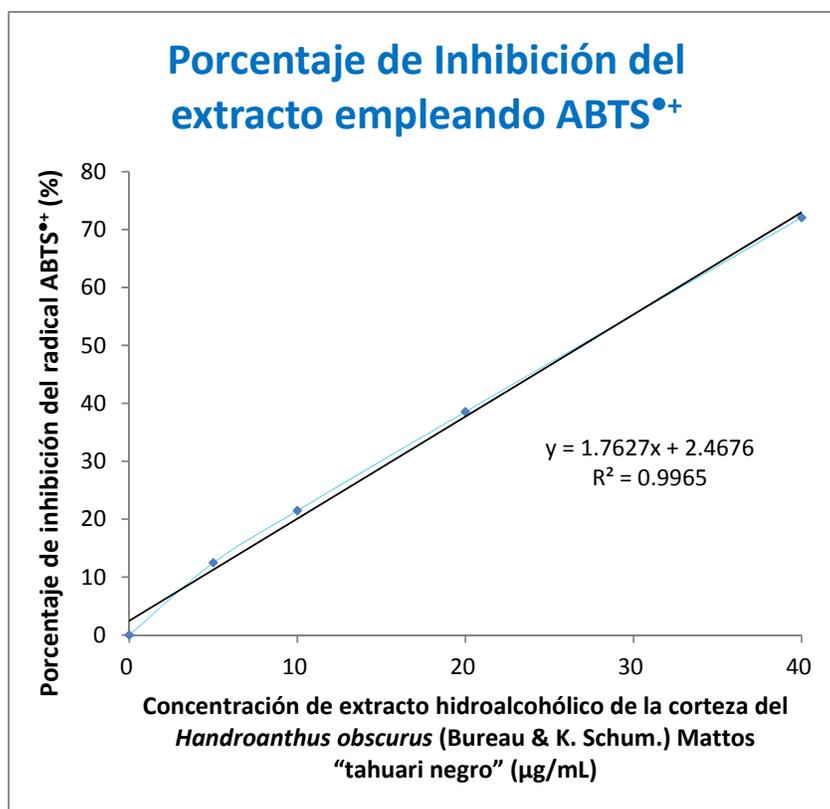


Figura 5. Porcentaje de inhibición de ABTS^{•+} del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos "tahuari negro".

Fuente. Propia

Tabla 4. Efecto antioxidante del estándar Trolox® empleando el método del ABTS^{•+}.

Concentración de Trolox® (µg/mL)	Absorbancia (unidades)	Porcentaje de Inhibición (%)	IC50 (µg/mL)
0	0.656	0.000	
1	0.546	16.722	
2	0.441	32.793	3.008
3.5	0.281	57.088	
5	0.104	84.213	

Fuente. Propia

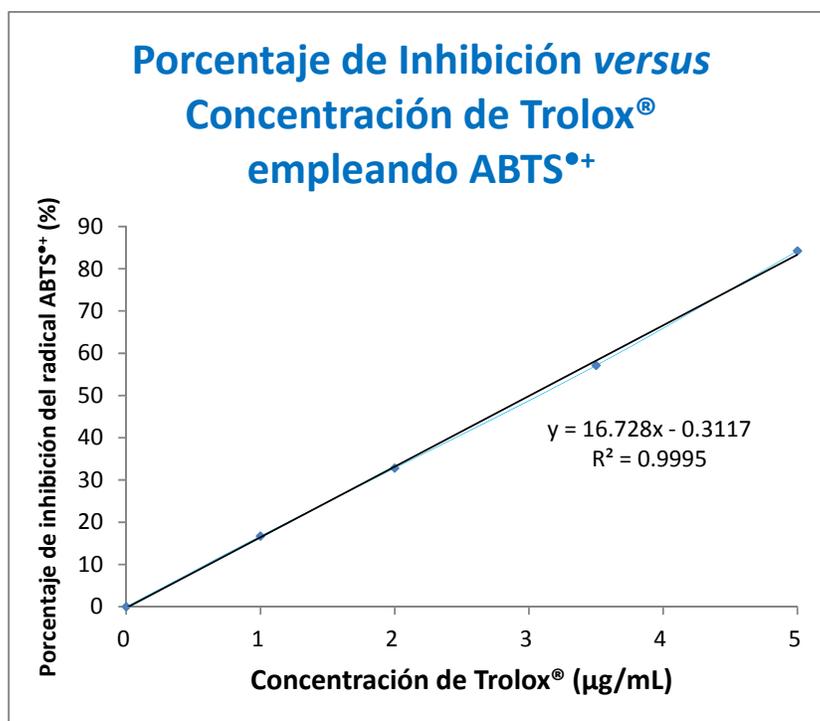


Figura 6. Porcentaje inhibido del radical ABTS^{•+} usando el estándar Trolox®.

Fuente. Propia

Según el método de ABTS^{•+} el IC₅₀ (µg/mL) fue de 26.966 para el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”. El ensayo de ABTS^{•+} presento un IC₅₀ de 3.008 µg/mL para el patrón Trolox®. Ambas pruebas muestran diferencias significativas entre medias, las cuales fueron calculadas con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

(2) Determinación de la Capacidad Antioxidante mediante el DPPH[•] (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

Los resultados de la prueba del DPPH[•] se representan en las siguientes tablas y figuras; primero se muestra el comparativo con la muestras del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y luego el comparativo con el estándar de Trolox®.

Tabla 5. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” empleando el método del DPPH•.

Concentración del extracto ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia (unidades)	Porcentaje de Inhibición (%)	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)
0.000	0.461	0.000	
10.417	0.373	19.046	36.425
20.833	0.326	29.183	
41.667	0.202	56.262	

Fuente. Propia

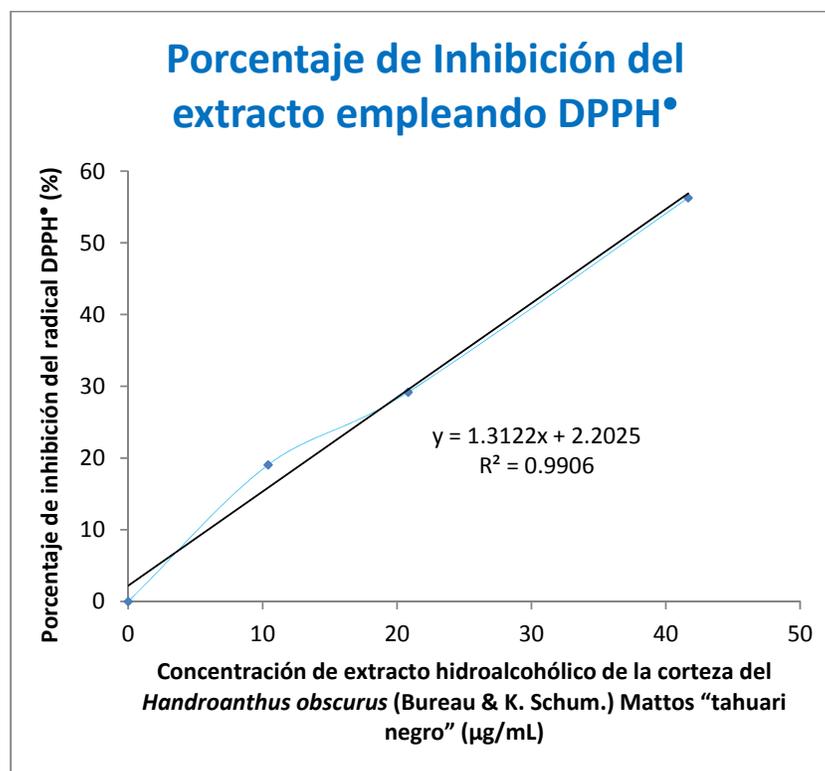


Figura 7. Porcentaje de inhibición de DPPH• del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Fuente. Propia

Tabla 6. Efecto antioxidante del estándar Trolox® empleando el método del DPPH•.

Concentración de Trolox® (µg/mL)	Absorbancia (unidades)	Porcentaje de Inhibición (%)	IC50 (µg/mL)
0.000	0.470	0.000	
0.417	0.440	6.445	
0.833	0.400	14.953	2.513
1.667	0.323	31.381	
3.333	0.152	67.655	

Fuente. Propia

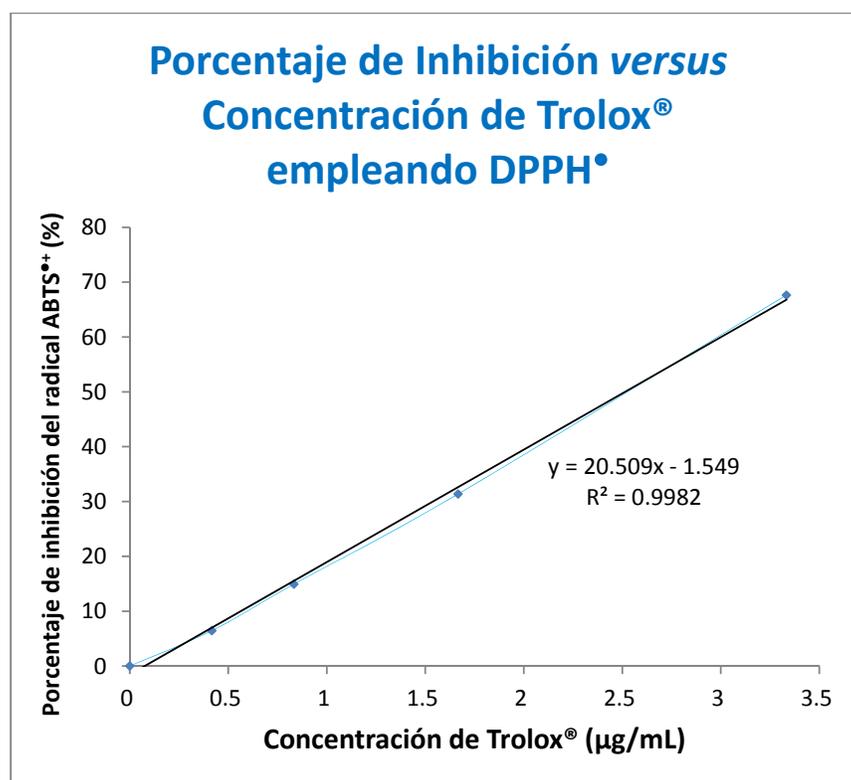


Figura 8. Porcentaje inhibido del radical DPPH• usando el estándar Trolox®.

Fuente. Propia

Según el método de DPPH• el IC50 (µg/mL) fue de 36.425 para el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”. El ensayo de DPPH• presento un IC50 de 2.513 µg/mL para el patrón Trolox®. Ambas

pruebas muestran diferencias significativas entre medias, las cuales fueron calculadas con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

4.1.4. Determinación de polifenoles totales. Método de Folin-

Ciocalteu

El contenido de polifenoles se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 7. Contenido de polifenoles del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Muestra	Polifenoles en muestra seca (mg ác. gálico/ g)
Extracto hidroalcohólico seco	5.330

Fuente. Propia

Se determinó que el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” posee polifenoles totales expresado en 5,33 mg ácido gálico/ g de extracto de muestra.

4.1.5. Efecto citotóxico usando líneas celulares

El bioensayo sobre líneas celulares que determina citotoxicidad presentó los siguientes resultados:

Tabla 8. Concentraciones del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo ($\mu\text{g/mL}$).

Muestra ($\mu\text{g/mL}$)	5FU ($\mu\text{g/mL}$)
250.000	3.910
62.500	0.977
15.630	0.244
3.910	0.061

Fuente. Propia

En la tabla siguiente se muestra el porcentaje (%) del 3T3 (línea celular de embrión de *Mus musculus*: fibroblastos normales) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo, es decir el 5-Fluorouracilo a diversas concentraciones.

Tabla 9. Porcentaje del crecimiento del 3T3 (línea celular de embrión de *Mus musculus*: fibroblastos normales) frente a la muestra y el control positivo (%).

Muestra (%)	5FU (%)
100.000	15.300
100.000	18.000
100.000	26.500
100.000	48.400

Fuente. Propia

A continuación se presentan las figuras del crecimiento del 3T3 (línea celular de embrión de *Mus musculus*: fibroblastos normales) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

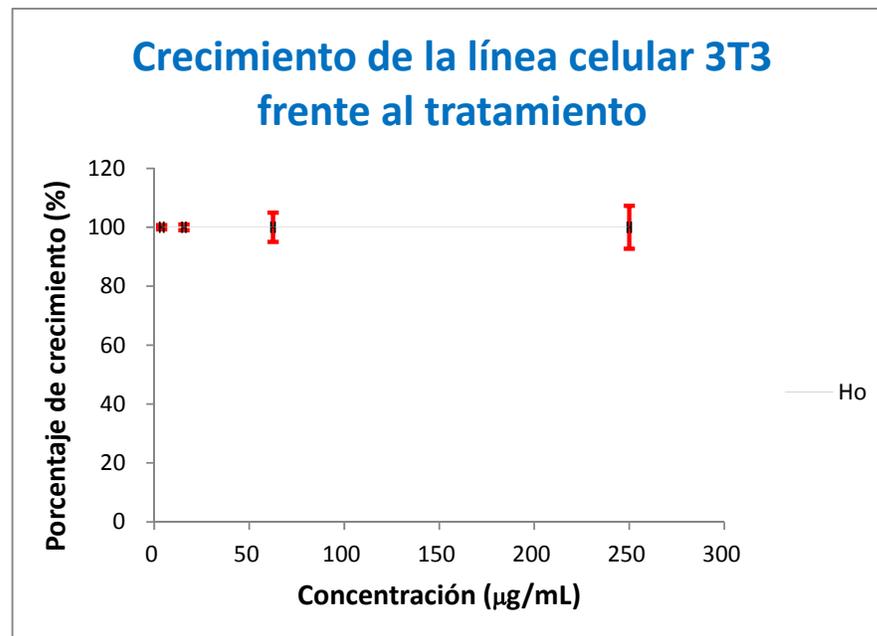


Figura 9. Crecimiento del 3T3 (embrión de *Mus musculus*: fibroblastos normales) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Fuente. Propia

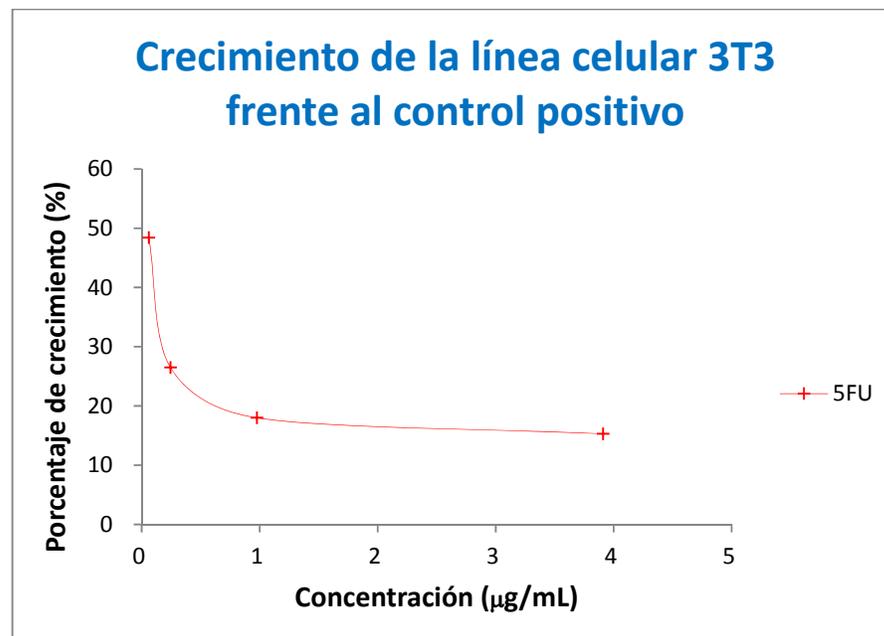


Figura 10. Crecimiento de la línea celular 3T3. Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

Fuente. Propia

En la tabla siguiente se muestra el porcentaje (%) del H460 (línea celular de *Homo sapiens*: carcinoma de pulmón de células no pequeñas) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo, es decir el 5-Fluorouracilo a diversas concentraciones.

Tabla 10. Porcentaje de crecimiento del H460 (línea celular de *Homo sapiens*: carcinoma de pulmón de células no pequeñas) frente a la muestra y el control positivo (%).

Muestra (%)	5FU (%)
92.200	12.300
99.900	31.100
100.000	69.000
100.000	97.800

Fuente. Propia

A continuación se presentan las figuras del crecimiento de la línea celular H460 (cáncer de pulmón de células grandes) frente al tratamiento con el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

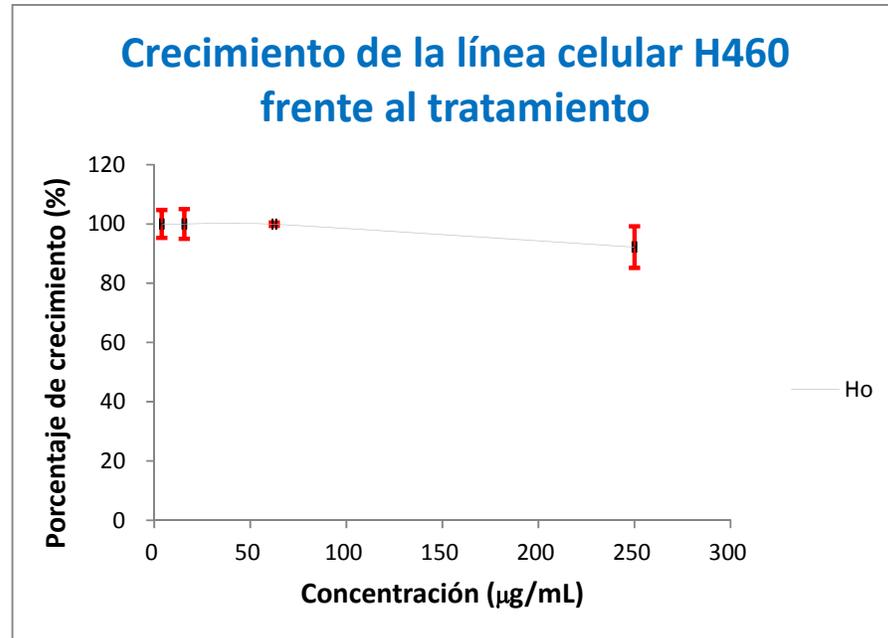


Figura 11. Crecimiento del H460 (línea celular de Homo sapiens: carcinoma de pulmón de células no pequeñas) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Fuente. Propia

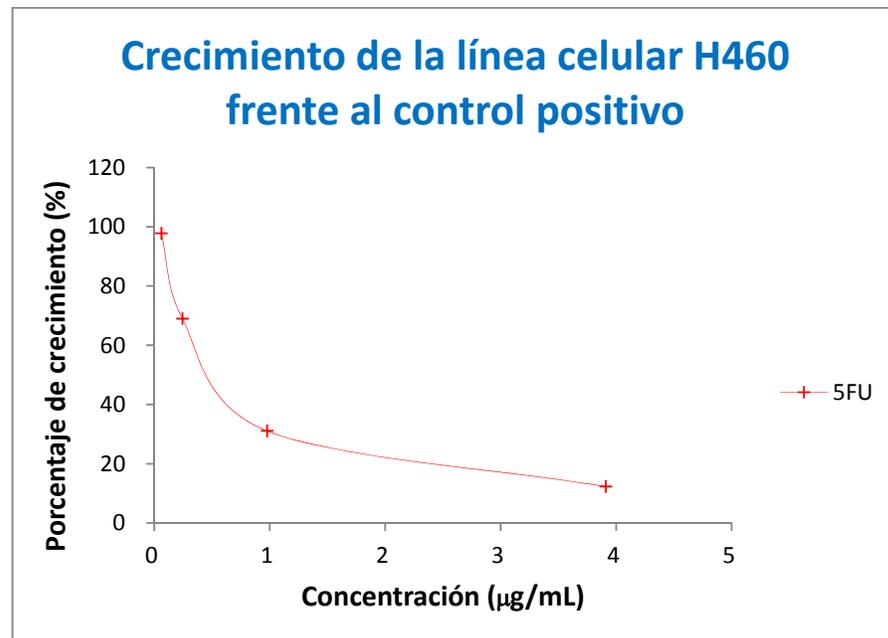


Figura 12. Crecimiento de la línea celular H460. Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

Fuente. Propia

En la tabla siguiente se muestra el porcentaje (%) de crecimiento de HuTu 80 (línea celular de Homo sapiens: carcinoma de duodeno) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo, es decir al 5-Fluorouracilo a diversas concentraciones.

Tabla 11. Porcentaje de crecimiento de HuTu 80 (línea celular de Homo sapiens: carcinoma de duodeno) frente a la muestra y el control positivo (%).

Muestra (%)	5FU (%)
92.300	19.900
95.200	28.900
95.700	76.300
100.000	87.300

Fuente. Propia

A continuación se presentan las figuras del crecimiento de HuTu 80 (línea celular de Homo sapiens: carcinoma de duodeno) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

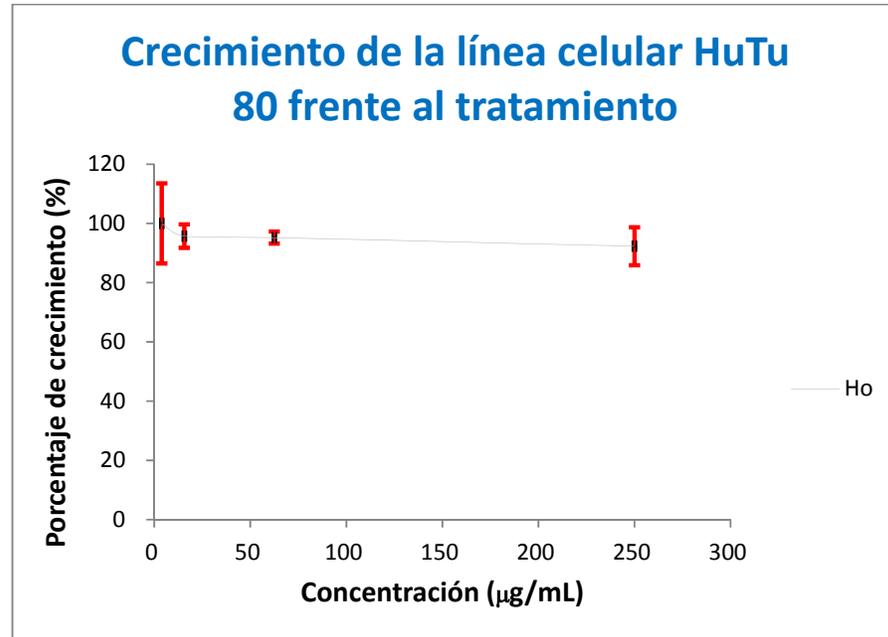


Figura 13. Crecimiento de HuTu 80 (línea celular de *Homo sapiens*: carcinoma de duodeno) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Fuente. Propia

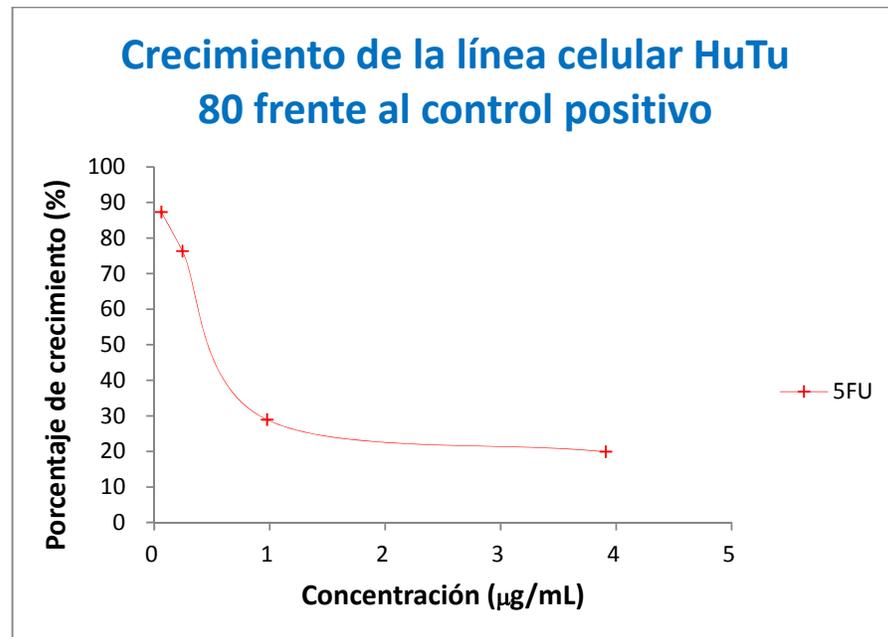


Figura 14. Crecimiento de HuTu 80 (línea celular de *Homo sapiens*: carcinoma de duodeno). Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

Fuente. Propia

En la tabla siguiente se muestra el porcentaje (%) de crecimiento de la línea celular DU 145 (carcinoma de próstata) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo, es decir al 5-Fluorouracilo a diversas concentraciones.

Tabla 12. Porcentaje de crecimiento de la línea celular DU 145 frente a la muestra y el control positivo (%).

Muestra (%)	5FU (%)
100.000	33.300
100.000	49.500
100.000	69.400
100.000	91.500

Fuente. Propia

A continuación se presentan las figuras del crecimiento de la línea celular DU 145 (carcinoma de próstata) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

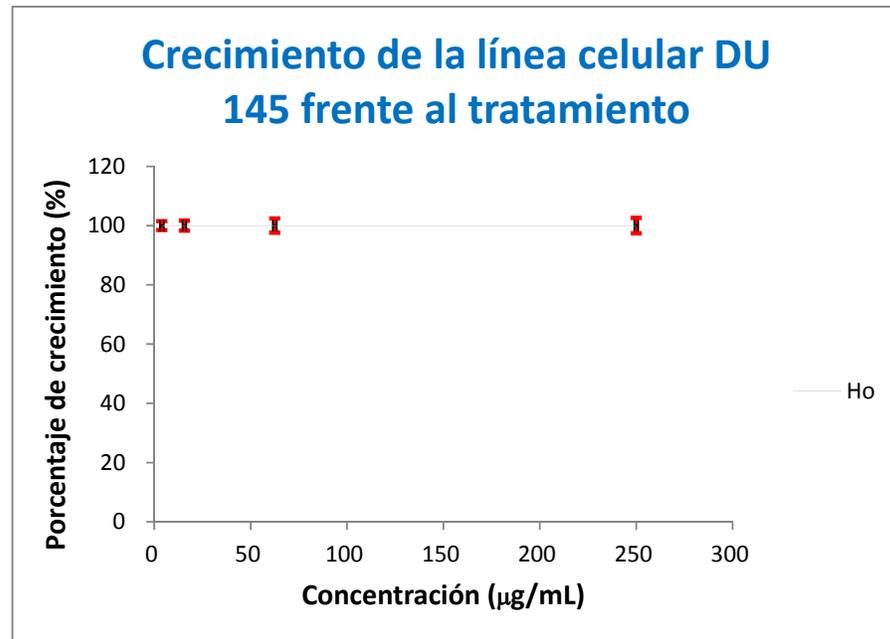


Figura 15. Crecimiento del DU 145 (línea celular de *Homo sapiens*: carcinoma de próstata) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Fuente. Propia

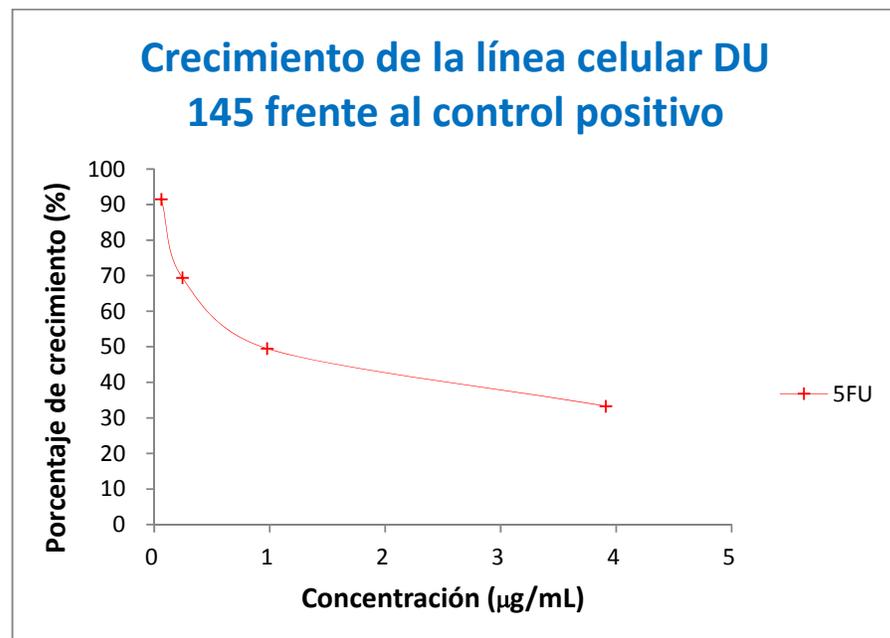


Figura 16. Crecimiento del DU 145 (línea celular de *Homo sapiens*: carcinoma de próstata). Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

Fuente. Propia

En la tabla siguiente se muestra el porcentaje (%) de crecimiento del MCF7 (línea celular de *Homo sapiens*: adenocarcinoma de mama) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo, es decir al 5-Fluorouracilo a diversas concentraciones.

Tabla 13. Porcentaje de crecimiento de la línea celular MCF7 frente a la muestra y el control positivo (%).

Muestra (%)	5FU (%)
90.100	16.800
95.500	27.400
100.000	54.800
100.000	84.000

Fuente. Propia

A continuación se presentan las figuras del crecimiento del MCF7 (línea celular de *Homo sapiens*: adenocarcinoma de mama) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

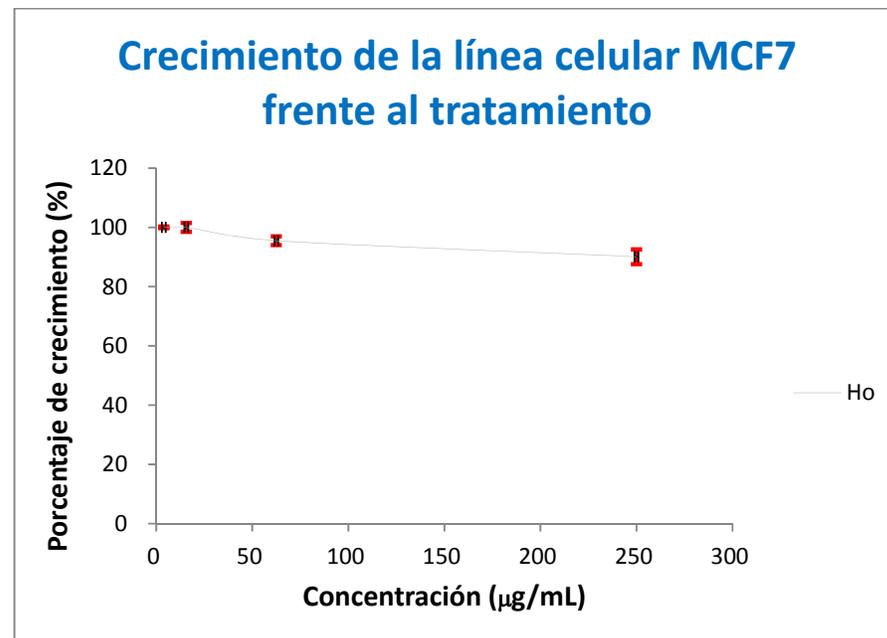


Figura 17. Crecimiento del MCF7 (línea celular de *Homo sapiens*: adenocarcinoma de mama) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Fuente. Propia

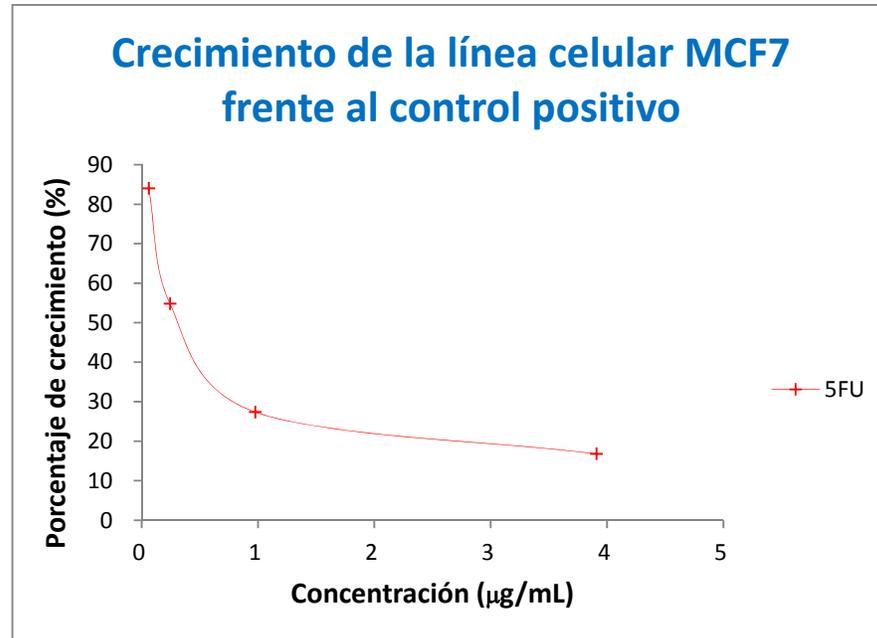


Figura 18. Crecimiento de la línea celular MCF7. Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

Fuente. Propia

En la tabla siguiente se muestra el porcentaje (%) de crecimiento del M14 (línea celular de *Homo sapiens*: melanoma amelanótico) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo, es decir al 5-Fluorouracilo a diversas concentraciones.

Tabla 14. Porcentaje de crecimiento de la línea celular M14 frente a la muestra y el control positivo (%).

Muestra (%)	5FU (%)
100.0	41.4
100.0	49.9
100.0	76.8
100.0	87.1

Fuente. Propia

A continuación se presentan las figuras del crecimiento del M14 (línea celular de *Homo sapiens*: melanoma amelanótico) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

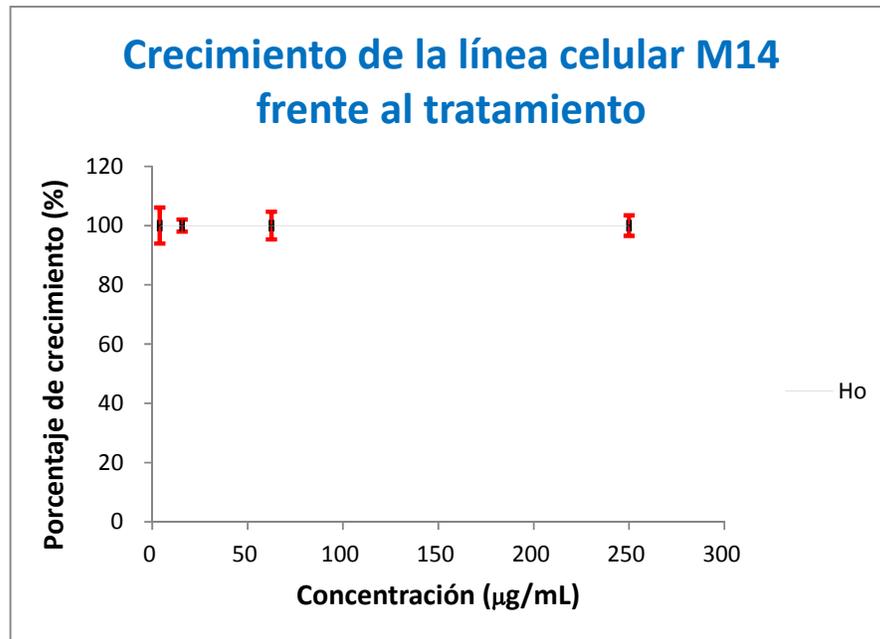


Figura 19. Crecimiento del M14 (línea celular de *Homo sapiens*: melanoma amelanótico) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Fuente. Propia

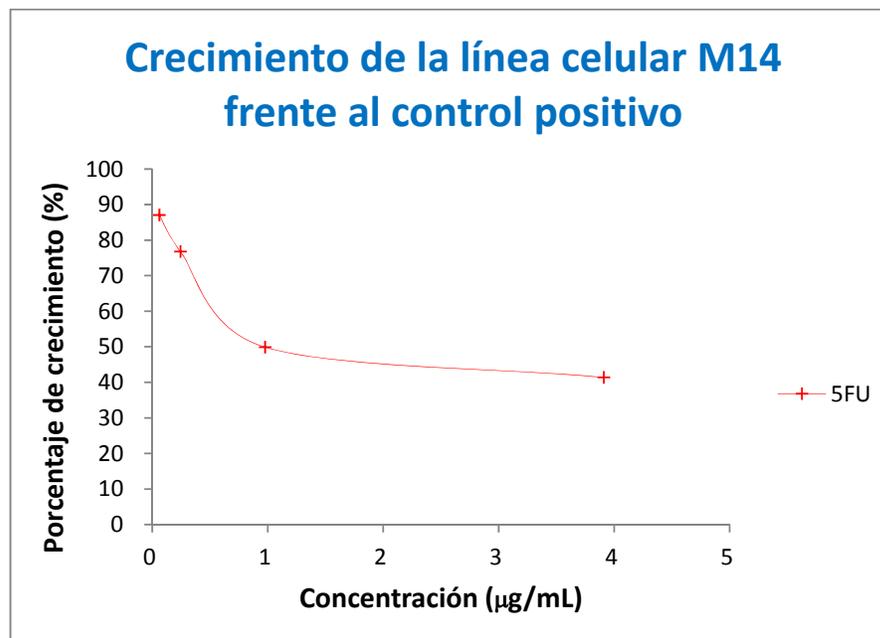


Figura 20. Crecimiento de la línea celular M14. Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

Fuente. Propia

En la tabla siguiente se muestra el porcentaje (%) de crecimiento del HT-29 (línea celular de *Homo sapiens*: adenocarcinoma de colon) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo, es decir al 5-Fluorouracilo a diversas concentraciones.

Tabla 15. Porcentaje de crecimiento de la línea celular HT-29 frente a la muestra y el control positivo (%).

Muestra (%)	5FU (%)
100.000	25.500
100.000	37.000
100.000	73.600
100.000	91.800

Fuente. Propia

A continuación se presentan las figuras del crecimiento de la línea celular HT-29 (adenocarcinoma de colon) frente al tratamiento con el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

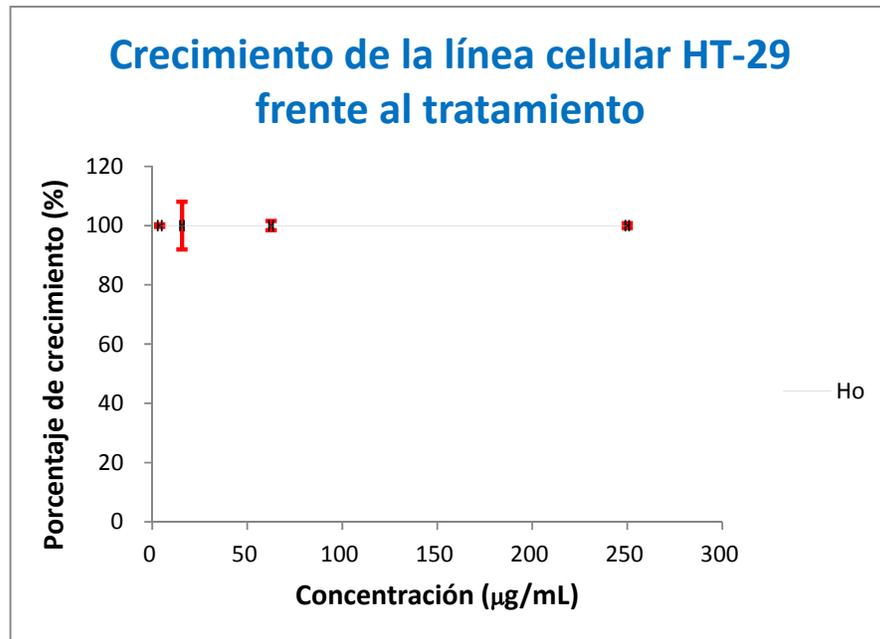


Figura 21. Crecimiento del HT-29 (línea celular de Homo sapiens: adenocarcinoma de colon) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Fuente. Propia

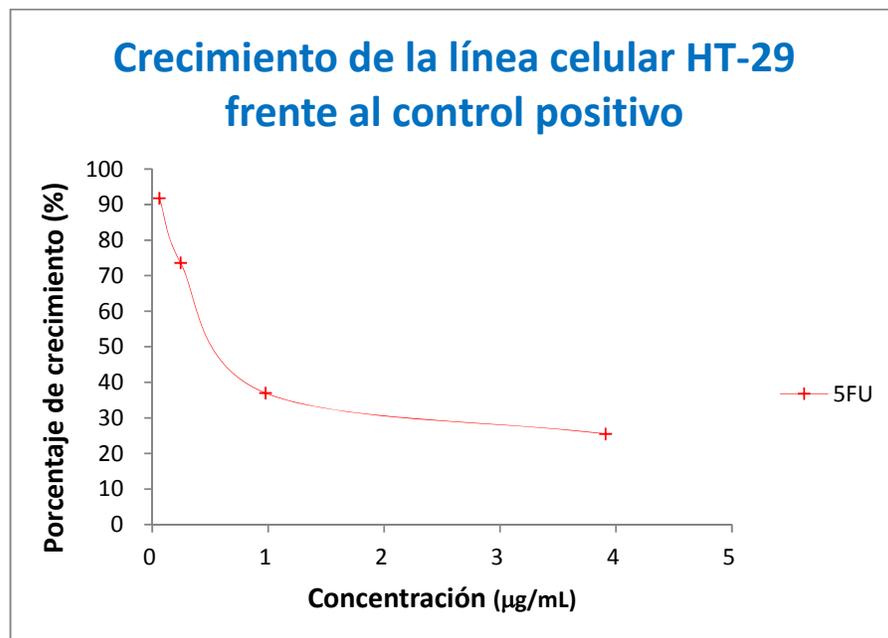


Figura 22. Crecimiento de la línea celular HT-29. Control Positivo con 5-Fluorouracilo (5FU).

Fuente. Propia

En la tabla siguiente se muestra la concentración inhibitoria de crecimiento del 50% (GI50) de células tumorales y no tumorales: 3T3 (embrión de *Mus musculus*: fibroblastos normales), H460 (*Homo sapiens*: carcinoma de pulmón de células no pequeñas), HuTu 80 (*Homo sapiens*: carcinoma de duodeno), DU 145 (*Homo sapiens*: carcinoma de próstata), MCF7 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de mama), M14 (*Homo sapiens*: melanoma amelanótico) y HT-29 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de colon) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo, es decir al 5-Fluorouracilo.

Tabla 16. Concentración inhibitoria de crecimiento del 50% del células (GI50) del cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo.

GI50	Muestra (µg/mL)	5FU (µg/mL)
3T3	>100	0.055
H460	>100	0.551
HuTu 80	>100	0.527
DU 145	>100	1.066
MCF7	>100	0.318
M14	>100	0.972
HT-29	>100	0.736

Fuente. Propia

A continuación se presenta la figura de la concentración inhibitoria de crecimiento del 50% (GI50) de células de 3T3 (embrión de *Mus musculus*: fibroblastos normales), H460 (*Homo sapiens*: carcinoma de pulmón de células no pequeñas), HuTu 80 (*Homo sapiens*: carcinoma de duodeno), DU 145 (*Homo sapiens*: carcinoma de próstata), MCF7 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de mama), M14 (*Homo sapiens*: melanoma amelanótico) y HT-29 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de colon) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo, es decir al 5-Fluorouracilo.

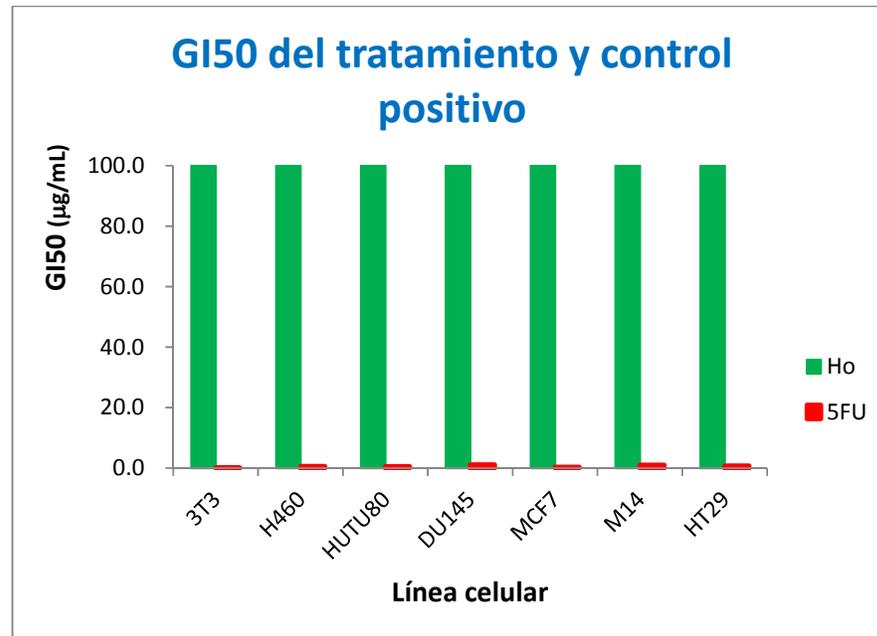


Figura 23. Concentración inhibitoria de crecimiento del 50% del células (GI50) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” y el control positivo (µg/mL).

Fuente. Propia

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

La presente investigación usa una extracción hidroalcohólica debido a que se asemeja al uso tradicional del género como tintura ⁽⁸⁾; así mismo se encontró en la bibliografía revisada que existe un mayor poder antioxidante ^(35, 36) y actividad antitumoral cuando se usa un alcohol *versus* extracto acuoso de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos ⁽³⁵⁾.

La especie *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” fue estudiada en ensayos preclínicos por su efecto hipoglicemiante, desde el punto de vista etnobotánico y la mayoría de los estudios son acerca de la diversidad estructural de la vegetación arbórea en diversas localidades de Perú ^(37, 38), también existe estudios de revegetación en Loreto ⁽⁴⁰⁾ y en la composición y estructura vegetal de un bosque seco tropical de Colombia ⁽⁴²⁾ y por su potencial maderero. La presente investigación es la primera en revisar la capacidad antioxidante, polifenoles y efecto citotóxico en líneas celulares del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

Es importante recordar que se reporta los errores en la nomenclatura botánica de la *Tabebuia spp.* ⁽⁸⁵⁾ debido a muchas a la necesidad de incrementar el volumen de ciertos árboles maderables, y también debido a la complejidad y modificación del género *Tabebuia* se dieron algunas dudas y conflictos taxonómicos ⁽⁶²⁾; y que Mattos propone y describe por primera vez el género *Handroanthus* ⁽⁵⁹⁾ y colocaba a diversas especies del género *Tabebuia*, pero su propuesta encontró oposición y recién en el año 2007 revisa y complementa esta información proponiendo que la *Tabebuia* es polifilético ⁽²⁹⁾ por lo tanto se divide en tres géneros: *Tabebuia* Gomes, *Roseodendron* Miranda y *Handroanthus* Mattos; la propuesta se confirma usando filogenia molecular ^(56, 57), metabolómica ⁽²⁶⁾ y por la anatomía de la madera ⁽⁵⁸⁾. Por ello al realizar la búsqueda bibliográfica se consigna, según la fecha de la publicación, la *Tabebuia spp.* como el *Handroanthus spp.* La búsqueda de antecedentes de la especie se realizó de modo exhaustivo, sin embargo existe escasa información de la especie estudiada y en Perú, el trabajo de revisar nuevamente las especies previamente identificadas como *Tabebuia* para actualizarlos según la actual clasificación, aún no se ha realizado ⁽⁵⁰⁾, a diferencia de países como Brasil, donde se resalta la importancia económica de ésta especie ⁽¹⁵²⁾ y sus cualidades son reconocidas por los pobladores ⁽¹⁵³⁾; a pesar de poseer tanto

reconocimiento en un país fronterizo, en el Perú no es considerada en la “Lista Oficial de Especies Forestales”⁽¹⁵⁴⁾ ni se tienen registros oficiales de la exportación de ésta especie^(155, 156), lo que muestra nuevamente que esta especie es poco estudiada a nivel local a pesar que la *Tabebuia impetiginosa*, que pertenece al género *Handroanthus*⁽³⁰⁾, es considerada una especie en peligro crítico en Perú⁽¹⁵⁷⁾ y que requiere atención en Brasil⁽¹⁵⁸⁾.

El rendimiento de la corteza de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” encontrado en la presente investigación es de 5.52% en relación a la corteza, el rendimiento de la extracción es similar al encontrado en las investigaciones de Esquivel y Salazar, quienes investigaron la corteza de *Uncaria tomentosa* “Uña de Gato”⁽¹⁵⁹⁾, y el rendimiento es menor al encontrado por Buitrón y Coronado⁽¹⁶⁰⁾, es importante señalar que existen diferencias en relación a la metodología de extracción y materia prima, sin embargo se asemejan en que el material biológico posee características similares al ser cortezas. Si el resultado se compara con la investigación de Kim & You, quienes estudiaron la corteza interna del *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos y el rendimiento obtenido mediante extracción etanólica al 80% fue de 9.5%⁽³⁶⁾, por otro lado se reportó que en maceración etanólica al 70% se obtuvo un rendimiento de ~13%⁽¹⁶¹⁾; y con etanol al 95% usando la corteza se obtuvo un rendimiento de 18.4%⁽¹⁶²⁾; las diferencias encontradas se puede deber a diversos factores, entre ellos el tiempo de maceración, la temperatura, la parte de la planta usada, el tamaño inicial de partícula, etc.

“El perfil químico de la familia *Bignoniaceae* se caracteriza por la presencia de terpenoides, quinonas, derivados aromáticos especiales y flavonoides”⁽¹⁰⁾ según la investigación realizada por Cipriani⁽⁷⁹⁾, lo que coincide con nuestra investigación al encontrar terpenoides (específicamente triterpenoides y esteroides), quinonas (específicamente antranas, antranonas y naftoquinonas), flavonoides, compuestos fenólicos, flavonoides, entre otros.

En la investigación de Ramírez & Villanueva⁽⁵¹⁾ mencionan que la corteza de *Tabebuia obscura* pasó por una marcha fitoquímica realizada por “Delgado H; Villacrez., I. (2012). Tamizaje Fitoquímico de las especies del Plan Operativo IMET-EsSalud. Instituto de Medicina Tradicional. Informe final de Hipoglicemiantes. Pág 6-15”⁽⁵¹⁾; al

respecto encontraron compuestos similares a los de la presente investigación: flavonoides, taninos y fenoles, saponinas, quinonas, triterpenos y esteroides; sin embargo también hubieron diferencias ya que en la investigación mencionada reportan la presencia de alcaloides, sin embargo la presente investigación dio negativo para presencia de alcaloides en el extracto hidroalcohólico, También es importante señalar que la mencionada investigación señala la presencia de aceites esenciales y azúcares reductores.

Por otro lado, en la investigación realizada sobre el “Efecto de los extractos de *Tabebuia obscura* (tahuari negro) y *Geranium ayavacense* (pasuchaca) sobre la glicemia en ratas con diabetes mellitus experimental” ⁽⁵²⁾ reportan el tamizaje fitoquímico de la *Tabebuia obscura* en tres solventes (agua, etanol y éter) de la investigación realizada por el IMET-EsSalud ⁽¹⁶³⁾, la investigación se realizó en la corteza de la planta, igual que la presente investigación, sin embargo no se indica la parte de la planta usada para el tamizaje fitoquímico. Es importante considerar que la presente investigación que usó una extracción hidroalcohólica, y comparando los resultados se encuentran similitudes en la fase acuosa y etanólica como la presencia de: flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, saponinas, quinonas; las diferencias están en la presencia de triterpenoides y alcaloides en nuestra muestra, y dio negativo para las el tamizaje en fase acuosa y etanólica, sin embargo fue positivo para la fase extraída con éter; del mismo modo nuestra investigación usó un extracto que no presentaba alcaloides, sin embargo la investigación del IMET-EsSalud reportó la presencia de alcaloides en las tres fases (agua, etanol y éter), la última diferencia es la ausencia de glicósidos en la presente investigación y la presencia del mismo en la fase acuosa de la antes mencionada investigación. Las diferencias encontradas se pueden deber a la variabilidad de los factores de climáticos, o de suelo de la planta, a la parte de la planta usada, a la metodología de la obtención del extracto, al solvente usado para la extracción, entre otros.

Las naftoquinonas (quinonas bicíclicas) se encontraron presentes en la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”, éstas tienen una amplia gama de actividad biológica ⁽¹⁶⁴⁾, entre ellas se encuentra el lapachol (2-hidroxi3-(3-metil-2-

butenil)-1,4-naftoquinona) presente en la corteza y la madera de plantas de algunos géneros de la familia *Bignoniaceae* ⁽¹⁶⁵⁾.

La variabilidad de los compuestos químicos de una planta se deben a diversos factores, sin embargo en términos generales se reporta la presencia de lapachol en grandes cantidades en el género *Handroanthus* Mattos ⁽²⁹⁾, y un estudio en la madera de la *Tabebuia serratifolia* (familia *Bignoniaceae*), también conocido como (reclasificado por pertenecer al género *Handroanthus* Mattos y aceptado como sinónimo) *Handroanthus serratifolius* se encontró que el color amarillento se debe a la presencia del lapachol, mientras que la madera más anaranjada o rojiza se debe al componente dehidro- α -lapachona; por otro lado el color negro de la madera se relaciona con la elevada presencia de quinonas y polifenoles, y con la baja concentración de lapachol ⁽¹⁶⁶⁾. Para el caso de la presente investigación se usó la corteza de la planta y la coloración fue homogénea, se conoce que la luz posee un efecto oxidante en las quinonas en general, existe un caso reportado en la madera de la *Tabebuia chrysantha* (cuyo sinónimo es *Handroanthus chrysanthus*) que es originalmente anaranjado y se torna negro inmediatamente cuando es expuesto al aire debido a la β -lapachona ⁽¹⁶⁷⁾.

No se encontraron estudios de la capacidad antioxidante de la especie estudiada por ser ésta la primera investigación en brindar dichos resultados, por ellos se comparan los resultados con otras especies.

El $ABTS^{\bullet+}$ es un radical libre relativamente estable y se usa ampliamente para detectar la actividad antioxidante junto con el método $DPPH^{\bullet}$ ⁽¹⁶⁸⁾, También se ha utilizado como un método fiable para la medición de antioxidantes lipófilos o hidrófilos. Tanto las prueba para medir la capacidad antioxidante del $ABTS^{\bullet+}$ y $DPPH^{\bullet}$ se basan en la transferencia de electrones y de átomos de hidrógeno, ya que "se fundamentan en la estabilización de radicales libres sintéticos metaestables, cuya reacción con un antioxidante genera un cambio que puede ser detectado instrumentalmente" ⁽¹⁶⁹⁾

El valor del IC50, tanto para el $ABTS^{\bullet+}$ y $DPPH^{\bullet}$ fue definida como la concentración de la muestra necesaria para provocar la inhibición del 50%, lo que se obtiene por interpolación de análisis de la regresión lineal ⁽¹⁷⁰⁾; Un menor IC50 se asocia con una actividad antioxidante mayor ⁽¹⁷¹⁾.

En la presente investigación se obtuvo que el resultado según el método de ABTS^{•+} el IC50 fue de 26.966 µg/mL para el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”. El ensayo de ABTS^{•+} presentó un IC50 de 3.008 µg/mL para el patrón Trolox®. Ambas pruebas muestran diferencias significativas entre medias, las cuales fueron calculadas con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Da Silva, *et al*, realizaron una investigación del extracto hidroalcohólico de corteza de la *Tabebuia chrysotricha*, es un sinónimo del *Handroanthus chrysotrichus* – se revisó dos páginas web especializadas, una de ellas indica que la especie antes señalada corresponde al género *Handroanthus* ⁽³⁰⁾, mientras la otra página web refiere la pertenencia al género *Tabebuia* ⁽³¹⁾, por ello se revisó la propuesta original de Grose ⁽²⁹⁾ indicando que pertenece al género *Handroanthus* por lo que se consignan como sinónimos - y se encontró que su IC50 fue de 51 µg.mL⁻¹ en relación al ensayo del ABTS^{•+} ⁽³²⁾; mientras nuestro resultado de IC50 fue de 26.966 µg.mL⁻¹ (o 26.966 µg/mL) expresado en peso seco del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”, por ello se tiene una mayor capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la presente investigación.

Kim & You realizaron una investigación con la corteza interna de la *Tabebuia avellanae* Lor. ex Griseb, que es sinónimo del nombre aceptado *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos ⁽²⁹⁻³¹⁾. Los resultados para a actividad de captación de radicales ABTS^{•+} del extracto acuoso y etanólico para la concentración de 30 µg/ml fue de $51.8 \pm 2.6\%$ y $64.3 \pm 0.8\%$ respectivamente ⁽³⁶⁾; a pesar de no encontrarse los resultados expresados en IC50, éstos se asemejan a nuestro resultado de IC50 que fue de 26.966 µg.mL⁻¹ (o 26.966 µg/mL) expresado en peso seco del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.

La actividad de captación de radicales DPPH[•] (radical libre) de la muestra se mide por la capacidad de donación de electrones contenida en la muestra. El DPPH[•] posee gran estabilidad y es un compuesto de color púrpura que exhibe una absorción característica

de la luz a 517 nm. Es muy estable en solventes orgánicos, como el alcohol, y se decolora con un limpiador de radicales de protones durante el mecanismo antioxidante. Se ha utilizado para detectar la actividad antioxidante de varios materiales naturales

Según el método de DPPH• el IC50 fue de 36.425 µg/mL para el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”. El ensayo de DPPH• presentó un IC50 de 2.513 µg/mL para el patrón Trolox®. Ambas pruebas muestran diferencias significativas entre medias, las cuales fueron calculadas con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Da Silva, *et al*, realizaron una investigación del extracto hidroalcohólico de corteza de la *Tabebuia chrysotricha* es un sinónimo y el nombre aceptado es *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos ⁽³⁰⁾, y se encontró que su IC50 fue de 543.15 µg.mL⁻¹ en relación al ensayo del DPPH• ⁽³²⁾; mientras nuestro resultado de IC50 fue de 36.425 µg.mL⁻¹ (o 36.425 µg/mL) expresado en peso seco del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”, por ello se tiene una mayor capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la presente investigación.

Gomes realizó una investigación de diversas plantas del Noreste de Brasil ⁽³⁴⁾, entre ellos midió la capacidad antioxidante del *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos de Caatinga – Brasil usando hojas deshidratadas a temperatura ambiente las que pasaron por maceración metanólica en frío, posteriormente se filtra y se elimina el solvente por presión, los resultados obtenidos usando el método del DPPH• fue 173.17 ±16.56 Capacidad Inhibitoria media (IC50 en µg/mL), al comparar con los resultados obtenidos en la capacidad antioxidante de la presente investigación IC50 fue de 36.425 µg.mL⁻¹ (o 36.425 µg/mL) expresado en peso seco del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”, por ello se tiene una mayor capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la presente investigación.

De São Pedro investigó la *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC, que es sinónimo del nombre aceptado *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos ⁽²⁹⁻³¹⁾, el objetivo del trabajo fue validar el uso tradicional de ésta planta a través de la determinación de la

bioactividad de la corteza interna de diversas muestras, una de las muestras fue obtenida comercialmente de una herboristería; se realizó una infusión y un extracto metanólico; extracto se obtuvo mediante maceración A 25 °C con metanol y agitación, posteriormente se filtra y el contenido se seca mediante un rotavapor a 40 °C. Se determinó la capacidad antioxidante con el método del 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH•) y el resultado se expresó en Capacidad Inhibitoria media (IC50) fue de 16.68 ± 0.58 y 0.68 ± 0.03 mg/mL, lo que es equivalente a $16\ 680 \pm 580$ y 680 ± 30 µg/mL para la infusión y el extracto metanólico respectivamente ⁽³⁵⁾; mientras nuestro resultado de IC50 fue de 36.425 µg/mL expresado en peso seco del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”, por ello se tiene una mayor capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la presente investigación.

Kim & You realizaron una investigación con la corteza interna de la *Tabebuia avellanae* Lor. ex Griseb, que es sinónimo del nombre aceptado *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos ⁽²⁹⁻³¹⁾, la misma fue obtenida comercialmente de Brasil. La actividad de captación de radicales DPPH• del extracto acuoso y etanólico para la concentración de 60 µg/ml fue de $32.8 \pm 0.6\%$ y $44.1 \pm 0.8\%$ respectivamente ⁽³⁶⁾; mientras nuestro resultado de IC50 fue de 36.425 µg/mL expresado en peso seco del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”, por ello se tiene una mayor capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la presente investigación.

Se investigó a su vez a los polifenoles debido a que se reconoce que los fenoles son constituyentes muy importantes de las plantas con capacidad captadora de radicales libres, contribuyendo directamente a la acción antioxidante ⁽¹⁷²⁾.

Se determinó que el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” posee polifenoles totales expresado en 5.33 mg ácido gálico/ g de extracto de muestra.

Da Silva, *et al*, realizaron una investigación del extracto hidroalcohólico de corteza de la *Tabebuia chrysotricha*, es un sinónimo del *Handroanthus chrysotrichus*, y se encontró que el contenido total de polifenoles fue de 154.3 mg/g de equivalentes de

ácido gálico ⁽³²⁾; mientras nuestro resultado 5.33 mg ácido gálico/ g de extracto de muestra expresado en peso seco del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”, cabe resaltar que las metodologías usadas son diferentes debido a ello se considera.

Mucha L. realizó una investigación de la corteza del árbol Lapacho o *Tabebuia avellanedae*, el mismo es sinónimo del nombre aceptado *Handroanthus impetiginosus* ⁽²⁹⁻³¹⁾ que es una muestra obtenida de Brasil y adquirida de modo comercial. La preparación de la muestra de extracción acuosa consistió en una (01) cucharada de materia prima (0.6864 g), se hirvió durante 5 minutos en 0.5 l de agua, posteriormente se realizó lixiviación por 15 minutos; para la extracción metanólica se pesó la misma cantidad y se mezcló con 50 ml de metanol, se realizó la lixiviación durante 24 horas, y posteriormente se filtró. Se realizaron pruebas de capacidad antioxidante usando el método del DPPH• obteniendo 42.74 ± 0.38 y 48.88 ± 0.07 Equivalente de ácido ascórbico g/ kg de muestra seca (AAE/kg \pm S.D.) obtenida por lixiviación en agua y metanol. Esto también sugiere que no contiene cantidades significativas de antioxidantes extraídos en solventes no polares. También se realizó el contenido total de polifenoles, por el método de Folin Ciocalcu, los resultados fueron 14.49 ± 1.65 y 58.47 ± 6.94 Equivalente de Ácido Gálico en g / kg (GEA/kg \pm S.D.) de material secado a partir de la lixiviación en agua y metanol ⁽³³⁾, éstos resultados muestran mayor cantidad de polifenoles comparados con el resultado de nuestra investigación que dio 5.33 mg de ácido gálico / g de extracto de muestra.

Kim & You realizaron una investigación con la corteza interna de la *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb, que es sinónimo del nombre aceptado *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos ⁽²⁹⁻³¹⁾, la misma fue obtenida comercialmente de Brasil; el extracto acuoso se obtuvo por reflujo, posteriormente se filtra y se concentra a través de un rotavapor y finalmente se liofiliza. El extracto etanólico se obtuvo con etanol al 80% en caliente, posteriormente se filtra, se concentra mediante un rotavapor y se liofiliza. El contenido total de polifenoles del extracto acuoso y etanólico fue 93.3 ± 1.6 mg y 115.7 ± 1.5 equivalente de ácido gálico/g, respectivamente ⁽³⁶⁾; éstos resultados muestran mayor cantidad de polifenoles comparados con el resultado de nuestra investigación que dio 5.33 mg de ácido gálico / g de extracto de muestra.

La concentración inhibitoria de crecimiento del 50% (GI50) de células de 3T3 (embrión de *Mus musculus*: fibroblastos normales), H460 (*Homo sapiens*: carcinoma de pulmón de células no pequeñas), HuTu 80 (*Homo sapiens*: carcinoma de duodeno), DU 145 (*Homo sapiens*: carcinoma de próstata), MCF7 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de mama), M14 (*Homo sapiens*: melanoma amelanótico) y HT-29 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de colon) cuando se le agrega el extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” fue de >100, mientras el control positivo de 5-Fluorouracilo de 0.3 a 1.066. Por lo indicado en las condiciones trabajadas la muestra no presenta citotoxicidad en las líneas celulares usadas, es importante indicar que para las concentraciones de 250 µg/mL existió una mínima inhibición para las líneas celulares de H460 (cáncer de pulmón de células grandes), HuTu 80 (células de cáncer duodenal humano) y MCF7 (adenocarcinoma de mama); sin embargo no es significativo. Por otro lado la bibliografía es muy extensa indicando los efectos de plantas del género *Handroanthus spp.* en la actividad citotóxica, al punto de tener ensayos clínicos de fase I y II ⁽¹⁷³⁾; el efecto sobre líneas celulares de cáncer humano se considera que se debe al lapachol y β-lapachol ⁽¹⁷⁴⁾.

Además es importante resaltar que la actividad antioxidante no se relaciona de modo directo, necesariamente, con la citotoxicidad en líneas celulares ⁽¹⁷⁵⁾.

Por otro lado el mecanismo por el cual se usa de modo tradicional para casos de cáncer podría ser por la elevada capacidad antioxidante encontrada en la presente investigación y esto podría llevar a una buena estimulación del sistema inmunológico que fue visto en ensayos preclínicos⁽⁵⁴⁾.

Tabla 17. Tabla comparativa de capacidad antioxidante y polifenoles totales.

Fuente. Propia

Especie	Parte de la planta y solvente usado	Capacidad antioxidante y polifenoles			Nota
		ABTS* ⁺	DPPH*	Polifenoles totales	
<i>Handroanthus obscurus</i> (Bureau & K. Schum.) Mattos	Extracto hidroalcohólico de la corteza	IC50= 26.966 µg/mL	IC50= 36.425 µg/mL	5.33 mg ácido gálico/g de extracto de muestra	La muestra proviene de Loreto-Perú (es de la presente investigación)
<i>Tabebuia chrysotricha</i> es sin. de <i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	Extracto hidroalcohólico de la corteza	IC50= 51 µg/mL	IC50= 543.15 µg/mL	154.3 mg/g de equivalentes de ácido gálico	La muestra proviene de Brasil. Utilizaron una metodología distinta para determinar polifenoles totales. ⁽³²⁾
<i>Tabebuia avellanadae</i> , es sin. de <i>Handroanthus impetiginosus</i>	Extracto acuoso y metanólico por lixiviación de la corteza		42.74 ± 0.38 y 48.88 ± 0.07 Equivalente de ácido ascórbico g/ kg de extracto seco	14.49 ± 1.65 y 58.47 ± 6.94 equivalentes de ácido gálico en g / kg de extracto seco	La muestra fue obtenida comercialmente de Brasil ⁽³³⁾
<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	Extracto metanólico de las hojas	-	IC50= 173.17 µg/mL	-	La muestra proviene de Caatinga-Brasil ⁽³⁴⁾
<i>Tabebuia impetiginosa</i> Martius ex DC es sin. de <i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos.	Extracto metanólico de la corteza interna	-	IC50= 680 µg/mL	-	La muestra fue obtenida comercialmente en una herboristeriade Brasil ⁽³⁵⁾
<i>Tabebuia avellanadae</i> Lor. ex Griseb, es sin. de <i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	Extracto acuoso y etanólico liofilizado de la corteza interna	a 30 µg/mL se tiene 51.8 ± 2.6% y 64.3 ± 0.8% respectivamente	a 60 µg/ml se tiene 32.8 ± 0.6% y 44.1 ± 0.8% respectivamente	93.3 ± 1.6 y 115.7 ± 1.5 mg equivalente de ácido gálico/g	La muestra fue obtenida comercialmente Brasil ⁽³⁶⁾

Leyenda: sin. es sinónimo obtenido de páginas web especializadas ^(30,31) y en la propuesta de Grose de división del género *Tabebuia* ⁽²⁹⁾.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de corteza de *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” presentó como metabolitos secundarios: flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, saponinas, antronas, antranonas, naftoquinonas, triterpenoides y esteroides.
2. El extracto hidroalcohólico presenta por los métodos del ABTS^{•+} y DPPH[•] la capacidad inhibitoria media (IC50) de 26.966 µg/mL y 36.425 µg/mL expresado en peso seco; mostrando actividad antioxidante comparado con estudios análogos, mientras que el estándar de referencia Trolox® presentó un IC50 de 3.008 µg/mL y 2.513 µg/mL, respectivamente.
3. El contenido de polifenoles totales del extracto hidroalcohólico determinado por el método de Folin-Ciocalteau fue de 5.33 mg ácido gálico/g de extracto en muestra seca.
4. El extracto hidroalcohólico de corteza no presentó efecto citotóxico selectivo en las concentraciones probadas empleando el método SRB usando líneas celulares no tumorales y tumorales: 3T3 (embrión de *Mus musculus*: fibroblastos normales), H460 (*Homo sapiens*: carcinoma de pulmón de células no pequeñas), HuTu 80 (*Homo sapiens*: carcinoma de duodeno), DU 145 (*Homo sapiens*: carcinoma de próstata), MCF7 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de mama), M14 (*Homo sapiens*: melanoma amelanótico) y HT-29 (*Homo sapiens*: adenocarcinoma de colon).

CAPÍTULO VII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jernigan K. Plants with Histories: The Changing Ethnobotany of Iquito Speakers of the Peruvian Amazon. *Economic Botany*. 2012;66(1):46-59.
2. González-Coloma A, Reina M, Sáenz C, Lacret R, Ruiz-Mesia L, Arán VJ, *et al.* Antileishmanial, antitrypanosomal, and cytotoxic screening of ethnopharmacologically selected Peruvian plants. *Parasitology Research*. 2012;110(4):1381-92.
3. Aponte JC, Vaisberg AJ, Rojas R, Caviedes L, Lewis WH, Lamas G, *et al.* Isolation of Cytotoxic Metabolites from Targeted Peruvian Amazonian Medicinal Plants. *Journal of Natural Products*. 2008;71(1):102-5.
4. Berlowski A, Zawada K, Wawer I, Paradowska K. Antioxidant Properties of Medicinal Plants from Peru. *Food and Nutrition Sciences*. 2013;Vol.04No.08:7.
5. Carraz M, Lavergne C, Jullian V, Wright M, Gairin JE, Gonzales de la Cruz M, *et al.* Antiproliferative activity and phenotypic modification induced by selected Peruvian medicinal plants on human hepatocellular carcinoma Hep3B cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;166:185-99.
6. Herrera-Calderon O, Alvarado-Puray C, Arroyo-Acevedo J, Rojas-Armas J, Chumpitaz-Cerrate V, Hañari-Quispe R, *et al.* Phytochemical screening, total phenolic content, antioxidant, and cytotoxic activity of five peruvian plants on human tumor cell lines. *Pharmacognosy Research*. 2018;10(2):161-5.
7. Gómez OC, Luiz JHH. Endophytic fungi isolated from medicinal plants: future prospects of bioactive natural products from *Tabebuia/Handroanthus* endophytes. *Applied Microbiology & Biotechnology*. 2018;102(21):9105-19.
8. Akash T, Sehrish S, Kaiwen P, Ihteram U, Sakina M, Feng S, *et al.* A systematic review on ethnomedicines of anti-cancer plants. *Phytotherapy Research*. 2017;31(2):202-64.
9. Kung H-N, Lu K-S, Chau Y-P. The chemotherapeutic effects of lapacho tree extract: β -lapachone. *Chemotherapy*. 2014;3(2):131-5.
10. Chávez Sumarriva NL, Cevallos Ramos NJ. *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari”: una puesta al día. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*. 2019;4(1):28-34.

11. Gunjan M, Naidu JR, Marzo RR, Harmal NSM. Need of an Ancient Roots to Modern Medicine in the Treatment of Cancer-A review. *International Journal of Phytomedicine*. 2017;9(2):195-206.
12. Gonzales GF, Valerio LG. Medicinal Plants from Peru: A Review of Plants as Potential Agents Against Cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*. 2006;6(5):429-44.
13. Khazir J, Mir BA, Pilcher L, Riley DL. Role of plants in anticancer drug discovery. *Phytochemistry Letters*. 2014;7:173-81.
14. Mahapatra DK, Bharti SK, Asati V. Anti-cancer chalcones: Structural and molecular target perspectives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;98:69-114.
15. Wellington KW. Understanding cancer and the anticancer activities of naphthoquinones - a review. *RSC Advances*. 2015;5(26):20309-38.
16. Mazumder A, Cerella C, Diederich M. Natural scaffolds in anticancer therapy and precision medicine. *Biotechnology advances*. 2018.
17. Shoeb M. Anti-cancer agents from medicinal plants. *Bangladesh journal of Pharmacology*. 2006;1(2):35-41.
18. Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;100(1):72-9.
19. Global Burden of Disease Cancer C. The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA oncology*. 2015;1(4):505-27.
20. Baylin SB. The cancer epigenome: its origins, contributions to tumorigenesis, and translational implications. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2012;9(2):64-5.
21. Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis*. 2010;31(1):27-36.
22. Klijn C, Durinck S, Stawiski EW, Haverty PM, Jiang Z, Liu H, *et al*. A comprehensive transcriptional portrait of human cancer cell lines. *Nature biotechnology*. 2015;33(3):306.
23. Cunningham D, You Z. In vitro and in vivo model systems used in prostate cancer research. *Journal of biological methods*. 2015;2(1):e17.
24. Lee AV, Oesterreich S, Davidson NE. MCF-7 cells—Changing the course of breast cancer research and care for 45 years. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2015;107(7).

25. Rojas Y, Soto R, Amaya E, Retuerto F, Fuertes CM. Efecto antitumoral de los alcaloides hidrosolubles de *Abuta grandifolia* (MART) Satidwith, en Línea Celular HEP-2. *Ciencia e Investigación*. 2004;7(1):22-6.
26. Dos Santos VS, Macedo FA, Do Vale JS, Silva DB, Carollo CA. Metabolomics as a tool for understanding the evolution of *Tabebuia* sensu lato. *Metabolomics*. 2017;13(6):72.
27. Bieski IGC, Leonti M, Arnason JT, Ferrier J, Rapinski M, Violante IMP, *et al.* Ethnobotanical study of medicinal plants by population of valley of Juruena region, legal amazon, Mato Grosso, Brazil. *Journal of ethnopharmacology*. 2015;173:383-423.
28. Silva JdAAd. Plantas medicinais conhecidas dos moradores do distrito de Riozinho, Cacoal/RO e aspectos morfoanatômicos, histoquímicos e fitoquímicos de *Fridericia chica* (Bonpl.) LG Lohmann-crajiru-Bignoniaceae. 2019.
29. Grose SO, Olmstead RG. Taxonomic revisions in the polyphyletic genus *Tabebuia* s.l (Bignoniaceae). *Systematic Botany*. 2007;32(3):660-70.
30. The Plant List. 2013 [cited 2019 08 de julio]. Version 1.1:[Available from: <http://www.theplantlist.org/tp1.1/record/kew-317150>].
31. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden; [cited 2019 08 de junio]. Available from: <http://www.tropicos.org/Name/50139920>.
32. da Silva AF, Folmer V, Costa MT, Salgueiro ACF, da Rosa HS. Screening dos potenciais antioxidante e toxicológico do extrato hidroalcoólico da casca do ipê-amarelo *Tabebuia chrysotricha*. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*. 2018;9(3).
33. Mucha L. Bioaktivní látky čajů z Jižní Ameriky a čajů z jiných netradičních zdrojů. 2014.
34. Gomes de Melo J, de Sousa Araújo TA, e Castro TNdA, Lyra de Vasconcelos Cabral D, Do Desterro Rodrigues M, Carneiro do Nascimento S, *et al.* Antiproliferative activity, antioxidant capacity and tannin content in plants of semi-arid northeastern Brazil. *Molecules*. 2010;15(12):8534-42.
35. de São Pedro Pires TC. Comparação da bioatividade do entrecasco e diferentes formulações de pau d'arco (*Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC) 2014.
36. Kim K, You Y. Stimulatory Effects of extracts of inner bark from *Tabebuia avellaneda* on exercise endurance capacity. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2014;43(12):1937-41.

37. Rojas Marina LJ. Diversidad Estructural de la Vegetación Arbórea del Arboretum “El Huayo” en la cuenca del Rio Nanay, Loreto – Perú. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016.
38. Ysmodes Rengifo SP. Estructura y Biodiversidad florística en cuatro parcelas del Arboretum “El Huayo”, Ciefor - Puerto Almendras, Iquitos - Perú, 2014. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2014.
39. Macedo Ramírez DN. Evaluación cualitativa de la regeneración natural sobre arena blanca en áreas intervenidas en la carretera Iquitos-Nauta, Loreto, Perú. 2015.
40. Ruiz Lozano VR. Revegetación de una Zona Impactada por Explotación de Arena Blanca, de la Mina Javiren, San Juan Bautista, Loreto-Perú-2014. Iquitos - Perú: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2017.
41. Cárdenas D, González MF, Marín N, Sua S, Betancur J. Plantas y Líquenes del Parque Nacional Natural Serranía de Chiribiquete, Colombia. Revista Colombiana Amazónica Nueva Época. 2017(10).
42. Vargas Figueroa JA, González Colorado ÁM, Barona Cortés E, Bolívar García W. Composición y estructura vegetal de fragmentos de bosque seco tropical y de dos zonas con actividad antrópica en La Dorada y Victoria, Caldas. Revista de Ciencias. 2017;20(2):48-.
43. Hartshorn GS. Application of gap theory to tropical forest management: natural regeneration on strip clear-cuts in the Peruvian Amazon. Ecology. 1989;70(3):567-76.
44. Arias WP. Regeneración natural después de cinco años en fajas aprovechadas a tala rasa en el valle del Palcazú, Perú. Actas. 1997:185.
45. Ruokolainen K. Ferns and the Melastomataceae as indicators of phytogeographic patterns in Amazonia. 1996.
46. Endress BA, Horn CM, Gilmore MP. *Mauritia flexuosa* palm swamps: composition, structure and implications for conservation and management. Forest ecology and management. 2013;302:346-53.
47. Perez Braga DP. Sistemas agroflorestais com cacau para recuperação de áreas degradadas, em São Félix do Xingu-PA: Universidade de São Paulo; 2015.
48. Ministerio del Ambiente P. Mapa nacional de cobertura vegetal: memoria descriptiva. Perú: Dirección General de Evaluación, Valoración y Financiamiento del Patrimonio Natural; 2015.

49. Zárate R, Mori T, Valles L. Composición florística, diversidad y estructura de los Bosques sobre arena blanca de la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana, Loreto (Perú). *Arnaldoa*. 2012;19:211-24.
50. Flores Bendezu Y. Árboles nativos de la Región Ucayali. 1 ed. Pucallpa, Perú: Estación Experimental Agraria Pucallpa - INIA; 2018.
51. Ramírez Arana AC, Villanueva Mendoza P. Efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura* en ratas albinas con diabetes inducida por alloxano-IMET 2012. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2013.
52. Seguro Social de Salud del Perú. Efecto de los extractos de *Tabebuia obscura* (tahuari negro) y *Geranium ayavacense* (pasuchaca) sobre la glicemia en ratas con diabetes mellitus experimental. 2013.
53. Aranda Ventura J, Villacrés J, Mego R. Efecto hipoglicemiante de los extractos de *Tabebuia obscura* (tahuari oscuro) sobre ratas con diabetes mellitus experimental. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*. 2016;1(1).
54. Grandez M, Delgado Wong H, Carrasco M D, Cárdenas R, Suárez J, Rivadeneira N, *et al.*, editors. Actividad inmunoestimulante del extracto acuoso liofilizado de "*Tabebuia obscura*" (Tahuari negro), en ratas albinas Hotlzman. VI Congreso Latinoamericano de Plantas Medicinales; 2018; Trujillo - Perú.
55. Gentry AH. Bignoniaceae: Part II (Tribe Tecomeae). *Flora Neotropica*. 1992:1-370.
56. Grose SO, Olmstead RG. Evolution of a charismatic neotropical clade: Molecular phylogeny of *Tabebuia* s.l., *Crescentieae*, and allied genera (Bignoniaceae). *Systematic Botany*. 2007;32(3):650-9.
57. Olmstead RG, Zjhra ML, Lohmann LG, Grose SO, Eckert AJ. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. *American journal of botany*. 2009;96(9):1731-43.
58. dos Santos SR. A atual classificação do antigo gênero *Tabebuia* (Bignoniaceae), sob o ponto de vista da anatomia da madeira. *Balduinia*. 2017(58):10-24.
59. Mattos Jd. *Handroanthus*, Um novo gênero para os "ipês" do Brasil. *Loefgrenia*. 1970;50(2):1-4.
60. Gentry AH. *Handroanthus* (Bignoniaceae): a critique. *Taxon*. 1972.
61. Gentry AH. *Tabebuia*: The tortuous history of a generic name (Bignon.). *Taxon*. 1969:635-42.

62. Zapater MA, Califano LM, Castillo EMD, Quiroga MA, Lozano EC. Las especies nativas y exóticas de *Tabebuia* y *Handroanthus* (Tecomeae, Bignoniaceae) en Argentina. *Darwiniana*. 2009;47(1):185-220.
63. The International Plant Names Index. 2005 [21 de mayo de 2018]. Available from: <http://www.ipni.org/ipni/idPlantNameSearch.do?id=109700-1>.
64. Grandtner MM, Chevrette J. Dictionary of Trees, Volume 2: South America: Nomenclature, Taxonomy and Ecology: Academic Press; 2013.
65. Hassler M. World Plants: Synonymic Checklists of the Vascular Plants of the World (version Nov 2018). In: Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 20th February 2019 (Roskov Y., Ower G., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., Nieukerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds.). Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. 2019.
66. Rosenberg P. Common Names Index. Poisonous animals, plants and bacteria. *Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology*. 1987;25(8):799.
67. Correia JdS. Análise Etnobotânica na Reserva Extrativista Chapada Limpa, Chapadinha/Ma, Brasil: Uma Abordagem Sobre o uso e Conservação de Plantas na unidade. Chapadinha /MA: Universidade Federal do Maranhão; 2017.
68. Fonseca CN, Lisboa PL, Urbinati CV. A Xiloteca (Coleção Walter A. Egler) do Museu Paraense Emílio Goeldi araense Emílio Goeldi araense Emílio Goeldi. *Bol Mus Para Emílio Goeldi, sér Ciências Naturais*, Belém. 2005;1(1):65-140.
69. Schultes RE, Raffauf RF. The healing forest: medicinal and toxic plants of the northwest Amazonia: Dioscorides Press; 1990.
70. Ayala Flores F. Inventario Taxonómico de la Flora de la Amazonía Peruana. Iquitos, Peru: Herbario Etnobotánico Amazónico. 1999.
71. Amasifuen Guerra CA, Zárate Gómez R. Composición taxonómica, ecológica y período de floración de plantas leñosas "dicotiledóneas" en dos tipos de bosque del fundo UNAP (km 31.5 carretera Iquitos-Nauta, Loreto Perú). Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2005.
72. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. *Handroanthus* in Flora do Brasil 2020 em construção [cited 2019 24 Feb]. Available from: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB114090>.
73. Zarate Gomez R, Mori-Vargas TJ, Ramirez-Arevalo FF, Davila-Doza HP, Gallardo-Gonzales GP, Cohello-Huaymacari G. Lista actualizada y clave para la

- identificación de 219 especies arbóreas de los bosques sobre arena blanca de la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana, Loreto, Perú. *Acta Amazónica*. 2015;45(2):133-56.
74. Medeiros H, Obermüller FA, Daly DC, Silveira M, Castro W, Forzza RC. Botanical advances in Southwestern Amazonia: The flora of Acre (Brazil) five years after the first Catalogue. *Phytotaxa*. 2014;177(2):101-17.
 75. Vargas Figueroa JA, González Colorado ÁM, Barona Cortés E, Bolívar García W. Composición y estructura vegetal de fragmentos de bosque seco tropical y de dos zonas con actividad antrópica en La Dorada y Victoria, Caldas. *Revista de Ciencias*. 2016;20(2):13-60.
 76. Steyermark JA, Berry PE, Holst BK, Yatskievych K. *Flora of the Venezuelan Guayana*: Missouri Botanical Garden St. Louis; 1995.
 77. Gradstein SR. *Handroanthus obscurus* (Bureau & K.Schum.) Mattos En Bernal, R., S.R. Gradstein & M. Celis Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia; 2015 [cited 2019 28 de junio]. Available from: <http://catalogoplantasdecolombia.unal.edu.co>.
 78. Ministerio del Ambiente de la República del Perú. V Informe nacional sobre la aplicación del convenio sobre la diversidad biológica: Perú (2010-2013). Lima - Perú: MINAM; 2015.
 79. Cipriani FA, Figueiredo MR, Soares GLG, Kaplan MAC. Implicações químicas na sistemática e filogenia de Bignoniaceae. *Química Nova*. 2012;35:2125-31.
 80. Brown J. A review of the genetic effects of naturally occurring flavonoids, anthraquinones and related compounds. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*. 1980;75(3):243-77.
 81. Korzybski T, Kowszyk-Gindifer Z, Kurylowicz W. *Antibiotics: origin, nature and properties*: Pergamon Press.; 1967. 536 p.
 82. Swain T. *Chemical plant taxonomy*: Elsevier; 1963.
 83. Bone K, Mills SY. *Principles and Practice of Phytotherapy, Modern Herbal Medicine, 2: Principles and Practice of Phytotherapy*: Elsevier Health Sciences; 2013.
 84. Jones K. *Pau d'Arco: Immune power from the rain forest: Inner Traditions/Bear & Co*; 1995.
 85. Vásquez R. Sistemática de las plantas medicinales de uso frecuente en el área de Iquitos. *Folia Amazónica*. 1992;4(1):65-80.

86. Graham J, Quinn M, Fabricant D, Farnsworth N. Plants used against cancer—an extension of the work of Jonathan Hartwell. *Journal of ethnopharmacology*. 2000;73(3):347-77.
87. Edwards SE, da Costa Rocha I, Williamson EM, Heinrich M. Lapacho *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos. *Phytopharmacy: An Evidence-Based Guide to Herbal Medicinal Products*. 2015:234.
88. Gottlieb OR. Ethnopharmacology versus chemosystematics in the search for biologically active principles in plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 1982;6(2):227-38.
89. Freitas H, Sarina I. Determinación de especies forestales aprovechadas en artesanía de madera en la ciudad de Iquitos-Perú. 2017.
90. Détienne P, Vernay M. Les espèces du genre *Tabebuia* susceptibles de fournir le bois d'ipé. *Bois et forêts des tropiques*. 2011(307):69-77.
91. Gachet MS, Schühly W. Jacaranda—an ethnopharmacological and phytochemical review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2009;121(1):14-27.
92. Roldan P, Grabiél D. Análisis de la estructura de las exportaciones e importaciones de madera del Perú, período 2011-2016. 2017.
93. Vasconcellos Gama JR, Lopes de Souza A, Calegário N, Campos Lana G. Fitossociologia de duas fitocenoses de floresta ombrófila aberta no município de Codó, Estado do Maranhão. *Revista Árvore*. 2007;31(3).
94. Oñate Calvín Rd. Caracterización y aprovechamiento de los varillales amazónicos: contribución a la economía de las comunidades locales [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid; 2012.
95. Tang Rengifo H. Efecto de dos tipos de sustrato y cuatro dosis de ácido indolbutírico en el enraizamiento de estacas juveniles de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) en propagadores de sub-irrigación, en Pucallpa-Ucayali, Perú. 2014.
96. Sánchez G. Propagación vegetativa de cuatro especies forestales utilizando un propagador de sub-irrigación: Tesis Mag. Sc. en Ciencias. Tabasco, MX, Colegio de Postgraduados ...; 2011.
97. Patiño MSC, Troya AE, Rodríguez JEN, Carriel JM, Falquez OFC, Ibarra OC, *et al.* Propagación de *Tabebuia donnell-smithii* Rose (Guayacán blanco) utilizando hormonas de enraizamiento. *Ciencia y Tecnología*. 2012;5(2):17-26.

98. Cornejo Badillo VR. Propagación vegetativa de tres especies forestales potenciales para la recuperación de áreas degradadas en la Región Ucayali. 2018.
99. Mostacero J, Mejía F, Gamarra O. Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Volumen II Trujillo: Editora Normas Legales. 2002:868-70.
100. Gibaja S. Pigmentos naturales: UNMSM; 1998.
101. Vega Orcacitas M. Etnobotánica de la Amazonia peruana: Editorial Abya Yala; 2001.
102. Gentry AH. A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 1992:53-64.
103. Duke JA, Vasquez Martinez R. *Amazonian ethnobotanical dictionary*: CRC press; 1994.
104. Hanazaki N, Oliveira FC, Miranda TM, Peroni N. Ethnobotany of artisanal fishers. *Current trends in human ecology*. 101: Cambridge Scholars Publishing in association with GSE Research; 2009. p. 101-24.
105. Begossi A, da Silva AL. *Ecologia de pescadores da Mata Atlântica e da Amazônia*: Editora Hucitec; 2004.
106. Lopes P, Begossi A. *Current trends in human ecology*: Cambridge Scholars Publishing; 2009.
107. BIREME/OPS BVeS. *Descriptores en Ciencias de la Salud*: DeCS Sao Paulo: BIREME / OPS / OMS; 2018 [cited 2019 01 de mayo]. Available from: <http://decs.bvsalud.org/E/homepagee.htm>.
108. Loraine S, Mendoza-Espinoza JA. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 2010;41(4).
109. Danaei G, Vander Hoorn S, Lopez AD, Murray CJ, Ezzati M, group CRAC. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *The Lancet*. 2005;366(9499):1784-93.
110. Payet Meza E, Pérez Mejía P, Poquioma Rojas E, Díaz Nava E. *Registro de Cancer de Lima Metropolitana Incidencia y Mortalidad 2010 - 2012*. Lima: Departamento de Epidemiología y Estadística del Cáncer, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, 2016.

111. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Programa de Prevención y Control del Cáncer. Perú: Enfermedades No Transmisibles y Transmisibles, 2016. Lima - Perú. 2017.
112. National Institute of Health. Drugs Approved for Breast Cancer Estados Unidos: National Cancer Institute - National Institutes of Health; 2018 [updated 30 de enero de 2018; cited 2018 08 de mayo]. Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/breast>.
113. Cragg GM, Grothaus PG, Newman DJ. Impact of natural products on developing new anti-cancer agents. *Chemical reviews*. 2009;109(7):3012-43.
114. Ulrich AB, Pour PM. Cell Lines A2 - Brenner, Sydney. In: Miller JH, editor. *Encyclopedia of Genetics*. New York: Academic Press; 2001. p. 310-1.
115. Burdall SE, Hanby AM, Lansdown MRJ, Speirs V. Breast cancer cell lines: friend or foe? *Breast Cancer Research*. 2003;5(2):89.
116. Holliday DL, Speirs V. Choosing the right cell line for breast cancer research. *Breast cancer research*. 2011;13(4):215.
117. Acker A. How cells became records: Standardization and infrastructure in tissue culture. *Archival Science*. 2015;15(1):1-24.
118. Escobar L, Alfonso PA, Gutiérrez FAA. Valoración de dos métodos de tinción en ensayos de citotoxicidad sobre líneas celulares tumorales. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 2009;11(2):49-56.
119. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews Cancer*. 2003;3:330.
120. Stone KR, Mickey DD, Wunderli H, Mickey GH, Paulson DF. Isolation of a human prostate carcinoma cell line (DU 145). *International journal of cancer*. 1978;21(3):274-81.
121. Soule H, Vazquez J, Long A, Albert S, Brennan M. A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*. 1973;51(5):1409-16.
122. Sánchez-Valle V, Méndez-Sánchez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Médica Sur*. 2018;20(3):161-8.
123. Venereo Gutiérrez JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar*. 2002;31(2):126-33.
124. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*. 1997;82(2):291-5.

125. Macias FA, Galindo JL, Galindo JC. Evolution and current status of ecological phytochemistry. *Phytochemistry*. 2007;68(22-24):2917-36.
126. Rice E. *Allelopathy*. Academic Press, Orlando, FL. Allelopathy 2nd ed Academic Press, Orlando, FL. 1984:-.
127. Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*. 1997;2(4):152-9.
128. Koleckar V, Kubikova K, Rehakova Z, Kuca K, Jun D, Jahodar L, *et al.* Condensed and hydrolysable tannins as antioxidants influencing the health. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2008;8(5):436-47.
129. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio P. *Metodología de la Investigación*. Sexta ed. México: Mc Graw Hill; 2014.
130. Organización Mundial de la Salud. *Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales*. 2003.
131. Gianoli E. Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. *Fisiología Ecológica en plantas Mecanismos y Respuestas a Estrés en los ecosistemas*. 2004:13-25.
132. Blum U. General Background for Plant-Plant Allelopathic Interactions. *Plant-Plant Allelopathic Interactions III*: Springer; 2019. p. 27-48.
133. Valares Masa C. *Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente*. 2011.
134. Lock De Ugaz O. *Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales*. Segunda Edición: Univ Católica Perú; 1994.
135. Floegel A, Kim D-O, Chung S-J, Koo SI, Chun OK. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of food composition and analysis*. 2011;24(7):1043-8.
136. Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*. 1995;28(1):25-30.
137. Granato D, Shahidi F, Wrolstad R, Kilmartin P, Melton LD, Hidalgo FJ, *et al.* Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods? *Food chemistry*. 2018;264:471-5.
138. Olszowy M, Dawidowicz AL. Is it possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compounds? *Chemical Papers*. 2018;72(2):393-400.

139. Schaich KM, Tian X, Xie J. Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays”. *Journal of functional foods*. 2015;18:782-96.
140. Foti MC. Use and Abuse of the DPPH• Radical. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2015;63(40):8765-76.
141. Ramos E, Castañeda B, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Rev Acad Peru Salud*. 2008;15(1):42-6.
142. Adedapo A, Jimoh F, Koduru S, Masika P, Afolayan A. Evaluation of the medicinal potentials of the methanol extracts of the leaves and stems of *Halleria lucida*. *Bioresource technology*. 2008;99(10):4158-63.
143. Becker MM, Nunes GS, Ribeiro DB, Silva FE, Catanante G, Marty J-L. Determination of the Antioxidant Capacity of Red Fruits by Miniaturized Spectrophotometry Assays. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2019;30(5):1108-14.
144. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 1999;26(9-10):1231-7.
145. Agudo Medina L. Técnicas para la determinación de compuestos antioxidante en alimentos. *Autodidacta-Revista de la Educación en Extremadura*. 2010.
146. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*. 1965;16(3):144-58.
147. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, *et al.* New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1990;82(13):1107-12.
148. Vichai V, Kirtikara K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature protocols*. 2006;1(3):1112.
149. Neto CC, Krueger CG, Lamoureaux TL, Kondo M, Vaisberg AJ, Hurta RA, *et al.* MALDI-TOF MS characterization of proanthocyanidins from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*) that inhibit tumor cell growth and matrix metalloproteinase expression in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2006;86(1):18-25.

150. Herrera-Calderon O, Arroyo-Acevedo J, Rojas-Armas J, Chumpitaz-Cerrate V, Figueroa-Salvador L, Enciso-Roca E, *et al.* Phytochemical Screening, Total Phenolic Content, Antioxidant and Cytotoxic Activity of *Chromolaena laevigata* on Human Tumor Cell Lines. *Annual Research & Review in Biology*. 2017.
151. Abdi H, Williams LJ. Newman-Keuls test and Tukey test. *Encyclopedia of Research Design* Thousand Oaks, CA: Sage. 2010:1-11.
152. Instrução Normativa N° 02/2010, (2010).
153. Araujo Bonamico M. Relação entre estoque de carbono acima do solo e produção de cacau em sistemas agroflorestais de cacau em São Félix do Xingu-PA, Brasil. Piracicaba - Brasil: Universidade de São Paulo; 2017.
154. Resolución de Dirección Ejecutiva N° 118-2019-MINAGRI-SERFOR, (2019).
155. SERFOR. Anuario Forestal y de Fauna Silvestre 2017. In: (SERFOR) SFNyDFS, editor. Lima. 2019.
156. SERFOR. Anuario Forestal y de Fauna Silvestre 2018. In: (SERFOR) SFNyDFS, editor. Lima. 2018.
157. Programa de Cooperación F, Mundial B. Perú: evaluación del impacto del cobro por derechos de aprovechamiento de" madera en pie" y otras tasas (MaPoTs) sobre el maneje forestal. Estudios de caso: volumen VI de VI. 2012.
158. Schulze M, Grogan J, Uhl C, Lentini M, Vidal E. Evaluating ipê (*Tabebuia*, Bignoniaceae) logging in Amazonia: Sustainable management or catalyst for forest degradation? *Biological Conservation*. 2008;141(8):2071-85.
159. Esquivel Horna JA, Salazar Aguirre LB. Standarización del extracto hidroalcohólico de la uña de gato (*Uncaria tomentosa*) proveniente de la selva peruana. Lima: Universidad Nacional de Trujillo; 2011.
160. Buitrón Delgado GE, Coronado Cacsire NV. Estudio de prefactibilidad para la instalación de una planta liofilizadora del extracto de *uncaria tomentosa* (willd) DC uña de gato. Lima: Universidad Nacional de Ingeniería; 2000.
161. Lee MH, Choi HM, Hahm D-H, Her E, Yang H-I, Yoo MC, *et al.* Analgesic and anti-inflammatory effects in animal models of an ethanolic extract of *Taheebo*, the inner bark of *Tabebuia avellaneda*. *Molecular medicine reports*. 2012;6(4):791-6.
162. Freitas AE, Machado DG, Budni J, Neis VB, Balen GO, Lopes MW, *et al.* Antidepressant-like action of the bark ethanolic extract from *Tabebuia*

- avellanadae in the olfactory bulbectomized mice. *Journal of ethnopharmacology*. 2013;145(3):737-45.
163. IMET EsSalud. Tamizaje fitoquímico del *Tabebuia obscura* y el *Geranium ayavacense*. Informe del Departamento de Farmacognosia- IMET- EsSalud. 2012.
164. Leyva E, Loredo-Carrillo S, López L, Escobedo-Avellaneda E, Navarro-Tovar G. Importancia química y biológica de naftoquinonas. Revisión bibliográfica. *Afinidad*. 2017;74(577).
165. López L, Itzel L, Leyva E, García de la Cruz RF. Las naftoquinonas: más que pigmentos naturales. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*. 2011;42(1):6-17.
166. Romagnoli M, Segoloni E, Luna M, Margaritelli A, Gatti M, Santamaria U, *et al.* Wood colour in Lapacho (*Tabebuia serratifolia*): chemical composition and industrial implications. *Wood science and technology*. 2013;47(4):701-16.
167. Burnett A, Thomson R. Naturally occurring quinones. Part XII. Extractives from *Tabebuia chrysantha nichols* and other bignoniaceae. *Journal of the Chemical Society C: Organic*. 1968:850-3.
168. Lee S-M, You Y-H, Kim K-M, Park J-J, Jeong C-S, Jhon D-Y, *et al.* Antioxidant Activities of Native Gwangyang *Rubus coreanus* Miq. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2012;41(3):327-32.
169. Londoño J. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. *Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia: Corporación Universitaria Lasallista*; 2012.
170. Qingming Y, Xianhui P, Weibao K, Hong Y, Yidan S, Li Z, *et al.* Antioxidant activities of malt extract from barley (*Hordeum vulgare* L.) toward various oxidative stress in vitro and in vivo. *Food Chemistry*. 2010;118(1):84-9.
171. Zhu K-X, Lian C-X, Guo X-N, Peng W, Zhou H-M. Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*. 2011;126(3):1122-6.
172. Croft KD. Dietary polyphenols: Antioxidants or not? *Archives of biochemistry and biophysics*. 2016;595:120-4.
173. Gómez Castellanos JR, Prieto JM, Heinrich M. Red Lapacho (*Tabebuia impetiginosa*)—a global ethnopharmacological commodity? *Journal of ethnopharmacology*. 2009;121(1):1-13.

174. Mukherjee B, Telang N, Wong G. Growth inhibition of estrogen receptor positive human breast cancer cells by Taheebo from the inner bark of *Tabebuia avellandae* tree. *International journal of molecular medicine*. 2009;24(2):253-60.
175. Miranda Garcia VE. Evaluación de la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria in vitro del extracto metanólico de hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum*. 2019.

CAPÍTULO VIII: ANEXOS

Anexo 1. Fotografía de la colecta de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro”.



Handroanthus obscurus (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” del distrito de San Juan, provincia de Maynas y departamento de Loreto; en la localidad de Quistococha, Carretera Iquitos-Nauta, km 7.



Anexo 2. Obtención del extracto



(1)



(2)



(3)

Molienda (1) y extracción hidroalcohólica (2), determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante (3) del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” se desarrolló en el Laboratorio del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.



(4)



(5)

Determinación del efecto citotóxico en líneas celulares (4) y lectura (5) del extracto hidroalcohólico del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” se desarrolló en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo (LID) de la Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Anexo 3. Clasificación taxonómica (Centro de Investigación de Recursos Naturales Herbarium Amazonense – AMAZ de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana)



UNAP

**Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense - AMAZ**

**INSTITUCION CIENTIFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CODIGO DE AUTORTIZACION AUT-ICND-2017-005**

CONSTANCIA

El coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica entregado por **Cesar Grandez Ríos**, a este centro de investigación y enseñanza, el cual fue verificado e identificado en este Herbarium Amazonense-AMAZ, CIRNA-UNAP, como a continuación se indica:

Reino: Plantae

Division: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Bignoniaceae

Genero: *Handroanthus* Mattos

Especie: *obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos

Nombre Científico: *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos

Nombre vulgar: "tahuari"

Determinado: año, 2019

Se expide la presente constancia al interesado para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,

Iquitos, 11 de Marzo, 2019


Ing. Juan C. Ruiz Macedo

Curador del Herbarium Amazonense, AMAZ-CIRNA-UNAP



Anexo 4. Análisis estadístico del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” empleando el método del ABTS^{•+}

ANOVA

Absorbancia

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	.414	4	.104	824.113	.000
Intra-grupos	.001	10	.000		
Total	.415	14			

COMPARACIONES MÚLTIPLES

Variable dependiente: Absorbancias
HSD de Tukey

(I) Concentraciones	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
				Límite inferior	Límite superior	
0	5 ug/ml	.0829000 [*]	.0091505	.000	.052785	.113015
	10 ug/ml	.1427333 [*]	.0091505	.000	.112618	.172849
	20 ug/ml	.2565000 [*]	.0091505	.000	.226385	.286615
	40 ug/ml	.4795000 [*]	.0091505	.000	.449385	.509615
5 ug/ml	0	-.0829000 [*]	.0091505	.000	-.113015	-.052785
	10 ug/ml	.0598333 [*]	.0091505	.000	.029718	.089949
	20 ug/ml	.1736000 [*]	.0091505	.000	.143485	.203715
	40 ug/ml	.3966000 [*]	.0091505	.000	.366485	.426715
10 ug/ml	0	-.1427333 [*]	.0091505	.000	-.172849	-.112618
	5 ug/ml	-.0598333 [*]	.0091505	.000	-.089949	-.029718
	20 ug/ml	.1137667 [*]	.0091505	.000	.083651	.143882
	40 ug/ml	.3367667 [*]	.0091505	.000	.306651	.366882
20 ug/ml	0	-.2565000 [*]	.0091505	.000	-.286615	-.226385
	5 ug/ml	-.1736000 [*]	.0091505	.000	-.203715	-.143485
	10 ug/ml	-.1137667 [*]	.0091505	.000	-.143882	-.083651
	40 ug/ml	.2230000 [*]	.0091505	.000	.192885	.253115
40 ug/ml	0	-.4795000 [*]	.0091505	.000	-.509615	-.449385
	5 ug/ml	-.3966000 [*]	.0091505	.000	-.426715	-.366485
	10 ug/ml	-.3367667 [*]	.0091505	.000	-.366882	-.306651
	20 ug/ml	-.2230000 [*]	.0091505	.000	-.253115	-.192885

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 5. Análisis estadístico del estándar Trolox® empleando el método del ABTS^{•+}

ANOVA

Absorbancias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	.571	4	.143	1942.646	.000
Intra-grupos	.001	10	.000		
Total	.572	14			

COMPARACIONES MÚLTIPLES

Variable dependiente: Absorbancias
HSD de Tukey

(I) Concentraciones	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
				Límite inferior	Límite superior	
0	1 ug/ml	.1096667*	.0069981	.000	.086635	.132698
	2 ug/ml	.2150667*	.0069981	.000	.192035	.238098
	3.5 ug/ml	.3744000*	.0069981	.000	.351369	.397431
	5 ug/ml	.5523000*	.0069981	.000	.529269	.575331
1 ug/ml	0	-.1096667*	.0069981	.000	-.132698	-.086635
	2 ug/ml	.1054000*	.0069981	.000	.082369	.128431
	3.5 ug/ml	.2647333*	.0069981	.000	.241702	.287765
	5 ug/ml	.4426333*	.0069981	.000	.419602	.465665
2 ug/ml	0	-.2150667*	.0069981	.000	-.238098	-.192035
	1 ug/ml	-.1054000*	.0069981	.000	-.128431	-.082369
	3.5 ug/ml	.1593333*	.0069981	.000	.136302	.182365
	5 ug/ml	.3372333*	.0069981	.000	.314202	.360265
3.5 ug/ml	0	-.3744000*	.0069981	.000	-.397431	-.351369
	1 ug/ml	-.2647333*	.0069981	.000	-.287765	-.241702
	2 ug/ml	-.1593333*	.0069981	.000	-.182365	-.136302
	5 ug/ml	.1779000*	.0069981	.000	.154869	.200931
5 ug/ml	0	-.5523000*	.0069981	.000	-.575331	-.529269
	1 ug/ml	-.4426333*	.0069981	.000	-.465665	-.419602
	2 ug/ml	-.3372333*	.0069981	.000	-.360265	-.314202
	3.5 ug/ml	-.1779000*	.0069981	.000	-.200931	-.154869

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 6. Análisis estadístico del extracto hidroalcohólico de la corteza del *Handroanthus obscurus* (Bureau & K. Schum.) Mattos “tahuari negro” empleando el método del DPPH*

ANOVA

Absorbancias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	.080	3	.027	826.820	.000
Intra-grupos	.000	8	.000		
Total	.080	11			

COMPARACIONES MÚLTIPLES

Variable dependiente: Absorbancias
HSD de Tukey

(I) Concentraciones	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
				Límite inferior	Límite superior	
0	10.416 ug/ml	.0781000 [*]	.0046245	.000	.063291	.092909
	20.833 ug/ml	.1169333 [*]	.0046245	.000	.102124	.131743
	41.667 ug/ml	.2259667 [*]	.0046245	.000	.211157	.240776
10.416 ug/ml	0	-.0781000 [*]	.0046245	.000	-.092909	-.063291
	20.833 ug/ml	.0388333 [*]	.0046245	.000	.024024	.053643
	41.667 ug/ml	.1478667 [*]	.0046245	.000	.133057	.162676
20.833 ug/ml	0	-.1169333 [*]	.0046245	.000	-.131743	-.102124
	10.416 ug/ml	-.0388333 [*]	.0046245	.000	-.053643	-.024024
	41.667 ug/ml	.1090333 [*]	.0046245	.000	.094224	.123843
41.667 ug/ml	0	-.2259667 [*]	.0046245	.000	-.240776	-.211157
	10.416 ug/ml	-.1478667 [*]	.0046245	.000	-.162676	-.133057
	20.833 ug/ml	-.1090333 [*]	.0046245	.000	-.123843	-.094224

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo 7. Análisis estadístico del estándar Trolox® empleando el método del DPPH•**ANOVA**

Absorbancias

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	.194	4	.049	1065.982	.000
Intra-grupos	.000	10	.000		
Total	.194	14			

COMPARACIONES MÚLTIPLESVariable dependiente: Absorbancias
HSD de Tukey

(I) Concentraciones	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
0	0.4167 ug/ml	.0303000*	.0055079	.012173	.048427
	0.8333 ug/ml	.0703000*	.0055079	.052173	.088427
	1.667 ug/ml	.1475333*	.0055079	.129407	.165660
	3.3333 ug/ml	.3180667*	.0055079	.299940	.336193
0.4167 ug/ml	0	-.0303000*	.0055079	-.048427	-.012173
	0.8333 ug/ml	.0400000*	.0055079	.021873	.058127
	1.667 ug/ml	.1172333*	.0055079	.099107	.135360
	3.3333 ug/ml	.2877667*	.0055079	.269640	.305893
0.8333 ug/ml	0	-.0703000*	.0055079	-.088427	-.052173
	0.4167 ug/ml	-.0400000*	.0055079	-.058127	-.021873
	1.667 ug/ml	.0772333*	.0055079	.059107	.095360
	3.3333 ug/ml	.2477667*	.0055079	.229640	.265893
1.667 ug/ml	0	-.1475333*	.0055079	-.165660	-.129407
	0.4167 ug/ml	-.1172333*	.0055079	-.135360	-.099107
	0.8333 ug/ml	-.0772333*	.0055079	-.095360	-.059107
	3.3333 ug/ml	.1705333*	.0055079	.152407	.188660
3.3333 ug/ml	0	-.3180667*	.0055079	-.336193	-.299940
	0.4167 ug/ml	-.2877667*	.0055079	-.305893	-.269640
	0.8333 ug/ml	-.2477667*	.0055079	-.265893	-.229640
	1.667 ug/ml	-.1705333*	.0055079	-.188660	-.152407

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.