

# TECNOLOGIA PARA GENERAR VALOR AGREGADO DE PLANTAS MEDICINALES DE LA AMAZONIA PERUANA

Manuel Sandoval, Ph.D.  
E-mail: [Msandtm@msn.com](mailto:Msandtm@msn.com)

- I. INTRODUCCION
- II. LA INVESTIGACION COMO CATALIZADOR DEL CONSUMO DE PRODUCTOS NATURALES
- III. INFORMACION CIENTIFICA
  - Sangre de Grado
  - Uña de Gato
  - Camu-Camu
- IV. PROCESO TECNOLOGICO
  - Sangre de Grado
  - Uña de Gato
  - Camu-Camu
- V. INFRAESTRUCTURA FISICA
  - Capacidad de la Planta
  - Maquinaria y Equipo
- VI. RECURSOS HUMANOS
- VII. REQUERIMIENTO DE MATERIA PRIMA Y OTROS
- VIII. FUTURAS INVESTIGACIONES APLICADAS PARA BENEFICIAR LA BIOINDUSTRIA
- IX. PRECIOS DE EQUIPO DE LABORATORIO
- X. COMPRADORES DE INSUMOS
- XI. VOLUMENES DE EXPORTACION
- XII. MARCO LOGICO
- XIII. BIBLIOGRAFIA
- XIV. ANEXOS

## I. INTRODUCCION

Se estima que en la Amazonía se encuentran el 16% de todas las especies de plantas del planeta. La Selva peruana posee una riqueza biológica única convirtiéndola en una despensa abundante de recursos naturales útiles a la sociedad. Por ejemplo, se estima que en la Amazonía existe mas de 6000 especies vegetales y la utilidad de ellas va desde el uso como leña, para la industria de la construcción de viviendas, muebles, en alimentación y uso medicinal.

Dentro del rubro de plantas medicinales se puede listar un gran número de especies. El conocimiento de las bondades o propiedades benéficas de la mayoría de ellas está sustentada, mayormente, en información anecdotal lo cual hace que su uso sea a nivel local o regional. Sin embargo, dentro de este pool de plantas medicinales, existen varias que si han sido estudiadas con mayor rigurosidad por investigadores nacionales y extranjeros; entre ellas destaca la Sangre de Grado o Sangre de Drago (*Croton lechleri* y *Croton palanostigma*) y la Uña de Gato (*Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*).

La Sangre de Grado (SdG) y la Uña de Gato (UdG) son las dos plantas de la Amazonía peruana que poseen la mayor cantidad de información publicada en revistas científicas. En base a estas investigaciones se está notando un interes por la SdG y la UdG en los países desarrollados donde se observa un incremento por el consumo de productos naturales con bondades medicinales. Es así, que en Norte America (USA, Canadá), Europa (Comunidad Europea), Asia (Japón, Korea), el consumo de plantas medicinales provenientes de la India y China se viene incrementando notablemente.

A pesar que existe una incremento de la demanda de productos naturales en los países desarrollados, estimado en un gasto de \$5 billones en el 2001 a \$164 billones en 10 años, de los cuales solamente en los Estadois Unidos se gastará \$50 billones. La interrogante es Cuánto de este mercado puede ser aprovechado por la industria nutracéutica peruana?.

Existen varios aspectos que hay que investigar y no es el objetivo de este estudio abarcar esos tópicos que, sin embargo, se tienen que abordar con la profundidad y rigurosidad del caso.

Un aspecto importante que es oportuno hacer notar para los propósitos de la presente consultoría es el dar a conocer las conclusiones de un estudio realizado por una empresa Alemana, la cual describió el status y posibilidades de comercializar la Uña de Gato en el mercado Alemania. En ese estudio el autor entrevistó a 200 **Helpraktiker** (profesionales de la medicina alternativa) de ellos solamente un 2.5% manifestó su disposición a "recomendar medicina natural de la zona andina". Sin embargo, en este trabajo se indica que la medicina alternativa en Alemania "está dominada por prácticas y productos de origen de Europa, India, China y Japón". Por qué este contraste?, el autor indica que en Europa la medicina tradicional, i.e. productos manufacturados usan "plantas cultivadas de alta calidad".

Para el caso del resto de países desarrollados y principalmente los Estados Unidos de Norte América, que dicho sea de paso es el mas grande consumidor de productos naturales; similares aspectos son considerados en lo que se refiere a preferencia de consumo. A pesar que la Agencia de Alimentos y Drogas de USA (FDA) no regula el uso de los productos naturales (suplementos dietéticos), la industria por si misma está implementado los mecanismos de control de calidad de la materia prima y producto terminado que se oferta al mercado en el rubro de compra sin recetas (over the counter, OTC). Esto debido a directivas emitidas por la FDA, exigencia de los consumidores y principalmente opiniones cada día mas frecuentes de la comunidad científica.

En esta necesidad de desarrollar tecnologías para generar valor agregado a los recursos naturales de la Amazonía, se incluye a otras plantas que proveen frutales nativos como el Camu-camu (*Myrciaria dubia*), que tiene valor nutricional, posee propiedades antioxidativas y protege la salud celular. El Camu-camu, por sus características particulares tiene que ser afrontada con el mismo e inclusive mayor exigencia que un suplemento dietético (no regulado por FDA) porque una de las principales formas de comercializarlos está dirigido al

consumo en la categoría de alimentos. Estos productos, tienen exigencias mas estrictas para ingresar al mercado. Por ejemplo, para el caso de USA las características de salubridad (calidad microbiológica) tiene límites establecidos.

Ante esta realidad, cómo insertarnos al mercado internacional? y desarrollar una tecnología productiva sostenible que provea valor agregado a los productos naturales de la Amazonía; pero que tambien sea competitiva y de alta calidad para el consumo humano. El presente estudio tiene como propósito describir una propuesta dirigida a generar valor agregado a la Sangre de Grado, Uña de Gato y Camu-camu.

## **II. LA INVESTIGACION COMO CATALIZADOR DEL CONSUMO DE PRODUCTOS NATURALES**

El consumo de productos naturales procesados (plantas medicinales y alimentos funcionales) en los países desarrollados está asociado directamente a la información científica disponible de cada una de ellas. Esta noción se encuentra bien establecida en los países Occidentales donde la ciencia y la medicina convencional han alcanzado niveles muy avanzados. Es precisamente, el conocimiento generado por la investigación lo que ha creado “confianza” en los consumidores para el uso de farmacos.

Los países tanto del Asia como Europeos, que a pesar de tener una cultura milenaria de uso de medicina alternativa, han tenido que desarrollar investigaciones biomédicas con los recursos que ellos consideraron “vendibles” para los mercados en los cuales no existe una cultura sólida de medicina alternativa tales como USA, Canadá, Alemania. Estos países si poseen niveles altos de ingreso per capita y a parte vienen demostrando un crecimiento de interes y gastos por los productos naturales que ayuden a proteger la salud humana.

Es asi que implementando el raciocinio antes descrito, en la actualidad ya se observa que plantas tales como Ginseng, Ginko biloba, Echinacea, Saw Palmeto, Kava Kava y St. John Wort han penetrado fuertemente en el Mercado

Norteamericano e inclusive su familiaridad en la sociedad se hace mas común cada día. Si la Amazonía posee una gran variedad de plantas medicinales; ¿por qué no se ha podido hasta el momento introducir por lo menos dos plantas medicinales?. Es claro, por ejemplo, para el caso del Perú que no se ha implementado nunca un programa de investigación, similar a lo establecido por los países que ahora notoriamente constituyen los principales suministradores de plantas medicinales en el mundo. Sin embargo, teniendo la Amazonía una riqueza sui generis de recursos naturales, puede contribuir a que el Perú se inserte en este Mercado emergente.

La oportunidad existe porque la demanda por productos no-farmacos que coadyuven a controlar la inflamación, que sean fuentes de antioxidantes naturales, que posean propiedades anti-cancerígenas y prolonguen la funcionalidad del individuo se hace mas evidente cada día.

En resumen, si se promueve un modelo de investigación → publicación de los descubrimientos → industria de calidad → crecimiento del consumo las plantas tales como SdG, UdG y Camu-Camu y → podran generar un sistema de producción agrícola y desarrollo sostenible de la Amazonía.

### **III. INFORMACION CIENTIFICA**

A continuación se describe brevemente los principales campos en las que la SdG, UdG y Camu-Camu han sido investigados y cuyos resultados han sido publicados en journals científicos. Existe una serie de reportes anecdotaes o artículos que no han sido sometidos a revisiones por otros investigadores como se estila normalmente para publicaciones científicas; ellas no estan siendo incluídas.

El propósito de esta descripción científica (suscinta) es facilitar el entendimiento de lo que se conoce acerca de estas plantas y cómo esta información puede ser utilizado para efectos de generar posibilidades de industrialización de estos recursos naturales. Las aplicaciones de industrializar las plantas medicinales tiene mucha relación con las oportunidades comerciales

para el Peru dentro de lo que la expansion del cuidado de la salud en los paises desarrollados se vislumbra para los siguientes años (NCCAM, 2001).

### **SANGRE DE GRADO (*Croton spp*)**

#### **Acción contra úlceras estomacales**

La SdG es usada en medicina alternativa para facilitar la citracización de úlceras gástricas, tratar gastritis, diarrea, y lesiones de la piel. Nuestros experimentos con SdG fueron diseñados para evaluar sus aplicaciones gastrointestinales. Se utilizaron ratas a las cuales se les causó úlceras a traves de una exposición breve con ácido acético (80%) en la parte serosa del fundus del estómago. Después de causado la lesión se administró SdG en el agua de beber en diluciones de 1:1000 a 1:10000 por siete dias despues de la operación. A los siete días se sacrificaron los animales y se aisló el estómago y se obesrvó que la SdG favoreció notablemente la citracización de la úlcera gástrica, reduciendo la activida de la enzima mieloperoxidasa, disminuyó el tamaño de la úlcera, y el contenido de bacterias de la úlcera. Asimismo se evaluó la expresión genética de TNF $\alpha$ , iNOS, IL-1, IL-6 y COX-2. Se descubrió que la adminsitración de SdG en el agua de beber disminuyó la expresión de los genes antes mencionados los cuales si estuvieron sobrerregulados o elevado en el grupo de animales que no recibieron SdG (Miller et al., 2000). Este estudio nos permite concluir que la SdG es potente y economicamente-efectivo para el tratamiento de úlceras gastrointestinales, antimicrobial y anti-inflamatorio.

#### **Acción Anti-cancer**

El propósito de los experimentos aqui descritos con SdG fue la evaluación de sus propiedades aplicativas a controlar cancer. Para estos estudios se utilizó células cancerígenas de humanos: AGS (estómago), HT29 y T84 (colon). Los resultados obtenidos indicaron que la SdG en concentraciones de (10-200  $\mu\text{g/ml}$ ) disminuyó la viabilidad y proliferación de las células cancerígenas. Este fenómeno se hizo evidente desde las 24 horas obteniéndose una máxima respuesta a las 48 horas con concentraciones  $>100\mu\text{g/ml}$ . Asimismo, se

observó que células en suspensión y sometidas a tratamiento con SdG (100 µg/ml) la adherencia fué severamente comprometida.

Las evaluaciones microscópicas de la morfología celular demostraron que las células cancerígenas presentaban características de apoptosis, distinguido por la condensación del núcleo y disminución del tamaño de las células. Este fenómeno de aniquilar a las células cancerígenas fue también observada con Taxol (30 µM), anticancer natural obtenido de una planta (*Taxus brevifolia*) que crece en el Noroeste de USA. En otro set de experimentos hemos demostrado que la SdG controla la proliferación de las células AGS, HT29 y T84 por medio de la disrupción de sus microtúbulos. Estos descubrimientos con la SdG nos permite concluir con mucha seguridad que la SdG es una fuente rica de compuestos que tienen acción anticancerígena (Sandoval et al., 2002).

Otros investigadores, también reportan que la presencia de Taspina (alcaloide) en la SdG le otorga las propiedades anticancerígenas (Itokawa et al., 1991). Sin embargo, otros grupos estudios indican que la presencia de dihydrobenzofuran lignina es la responsable de inhibir la proiliferación de células (Pieters et al., 1993). Basados en todos estos estudios, se puede concluir que la SdG (latex) posee actividad anticancerígena y esta es una propiedad médica de mucha trascendencia para industrializar la SdG cómo fuente natural de anticancerígenos (Sandoval et al., 2002).

### **Acción en cicatrización de heridas**

Existen en la literatura estudios conducidos por otros investigadores que demuestran que la SdG poseen bondades de favorecer la cicatrización de heridas (Vaisber et al., 1989; Che, et al., 1994; Porras-Reyes et al., 1993). Estos investigadores concluyen que la presencia del alcaloide Taspina es lo que otorga las propiedades de cicatrizante a la SdG

### **Acción anti-diarreica**

Experimentos conducidos con ratones, a los cuales se le indujo diarrea por administración de toxina de cólera, demostraron que el suministro de SdG

(bajo la forma comercial SP303) en la dosis de 100 mg/kg disminuyó significativamente la acumulación de fluidos en el intestino delgado (Gabriel et al. 1999). Estos mismos investigadores, trabajando con cultivos celulares (Caco-2 y T84), células de humanos, fueron protegidos en su permeabilidad cuando fueron tratados con SdG y toxina de cólera en comparación al grupo no tratado con SdG. Basado en estos resultados los autores concluyen que la SdG puede ser un agente antidiarreico de uso en amplio espectro.

Otro estudio relevante con la SdG es la reportada por Holodniy et al., 1999 y auspiciado por Shaman Botanicals. En este estudio se usó SdG en la forma comercial, SP303, y fue administrada a pacientes con SIDA en la dosis de 500 mg cada 6 horas por cuatro días. Los resultados demostraron que la administración de SdG es segura, bien tolerada y puede ser efectivo en la frecuencia de apariciones de diarrea y reducción el peso de las heces en pacientes con SIDA y en los que sufren de diarrea.

### **Acción Anti-inflamatoria**

La actividad antiinflamatoria de la SdG fue reportada por Persinos et al., en 1979. En estos estudios los autores usaron el modelo de inflamación de la carragena. La Taspina fue aislada de la SdG y administrada oralmente a ratas una hora de causar la inflamación con carragena. Los resultados de este estudio demostraron que la Taspina disminuyó la hinchazón evaluada 3 horas después de inyectada la carragena.

En experimentos utilizando modelos diferentes de inflamación (edema causado en respuesta a la activación del receptor-2 de activación de péptidos, hiperalgesia en respuesta a baja dosis de de proteasa-activador de receptor-2 péptido o prostaglandina). Los resultados de estos experimentos indicaron que la SdG es un potente inhibidor de mecanismos de acción de los nervios aferente y valida su uso etnomédico para los desórdenes de inflamación neurogénica (Miller et al., 2001).

### **Acción antioxidativa**

La SdG posee en su composición química un gran porcentaje (90%) de pro-antocianidinas (su color rojo se debe a ello) en base a peso seco (Cai et al., 1991). Los principales polifenoles detectados son catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina, dimericos y pro-cianidinas B-1 y B-4. En experimentos in vitro hemos evaluado la actividad antioxidativa de fracciones de HPLC de SdG usando la prueba de DPPH. Los resultados de estos estudios indicaron que existe diferencias de inhibir radicales libres entre los diferentes polifenoles presentes en la SdG (Sandoval et al., 2002).

**Cuadro 1.** Efecto de la Sangre de grado (*Croton palanostigma*) en la viabilidad de células cancerígenas gastrointestinales<sup>1</sup>

Grupo	Viabilidad, %		
	AGS	HT29	T84
CTRL	98.3 ± 3.2	96.7 ± 2.8	98.1 ± 2.3
SdG, 10 µg/ml	96.1 ± 4.7	97.8 ± 4.2	97.9 ± 7.4
SdG, 100 µg/ml	45.3 ± 1.1*	53.8 ± 4.4*	54.7 ± 7.1*
SdG, 200 µg/ml	23.6 ± 1.0*	29.0 ± 2.6*	30.1 ± 2.4*

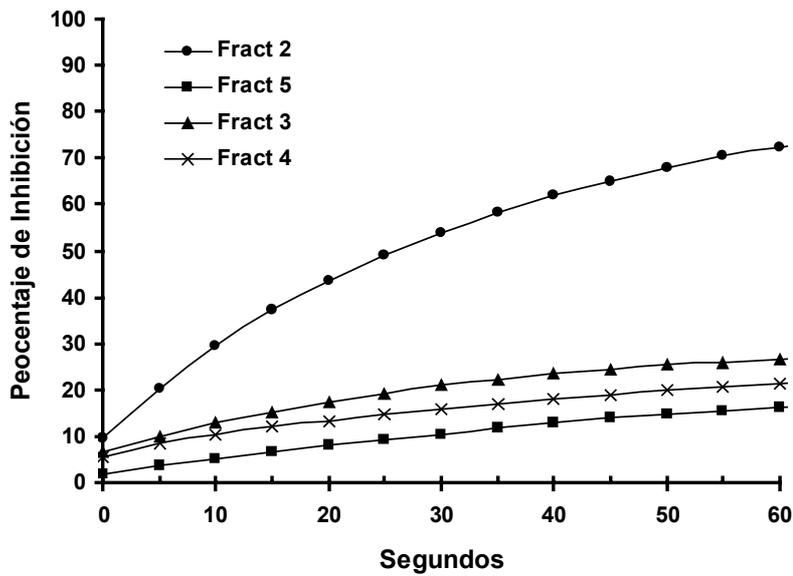
**Cuadro 2.** Efecto de la Sangre de grado (*Croton palanostigma*) en la proliferación de células cancerígenas gastrointestinales<sup>1</sup>

Grupo	Proliferación, OD 515 nm		
	AGS	HT29	T84
CTRL	0.351 ± 0.06	0.22 ± 0.02	0.199 ± 0.05
SdG, 10 µg/ml	0.365 ± 0.04	0.22 ± 0.02	0.219 ± 0.01
SdG, 100 µg/ml	0.197 ± 0.01*	0.122 ± 0.018*	0.028 ± 0.002*
SdG, 200 µg/ml	0.157 ± 0.01*	0.11 ± 0.01*	0.016 ± 0.001*

**Cuadro 3.** Efecto de la Sangre de grado (*Croton palanostigma*) en la adhesión de células cancerígenas gastrointestinales<sup>1</sup>

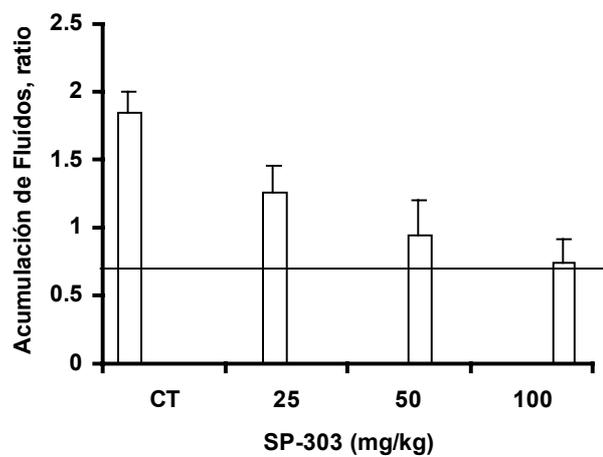
Grupo	Indice de Adhesion, %		
	AGS	HT29	T84
CTRL	46.5 ± 2.3	45.2 ± 2.3	66.5 ± 1.6
SdG, 10 µg/ml	42.5 ± 1.3	43.2 ± 1.6	61.3 ± 1.8
SdG, 100 µg/ml	8.5 ± 1.3*	6.8 ± 0.6*	14.2 ± 1.0*
SdG, 200 µg/ml	7.4 ± 0.7*	4.8 ± 0.5*	9.5 ± 0.9*

**Figura 1.** Efecto de la Sangre de grado (Croton spp) en Inhibición de radicales libres (DPPH): Fracciones de HPLC<sup>1</sup>

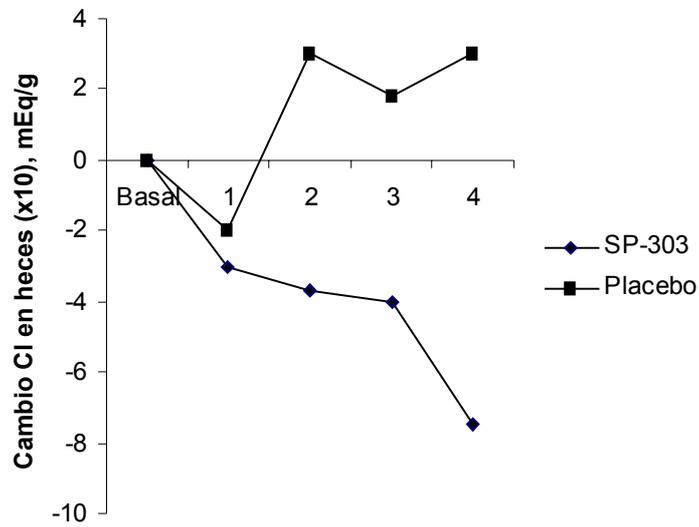


<sup>1</sup>La concentración de cada fracción de Sangre de grado (50 µg/ml).

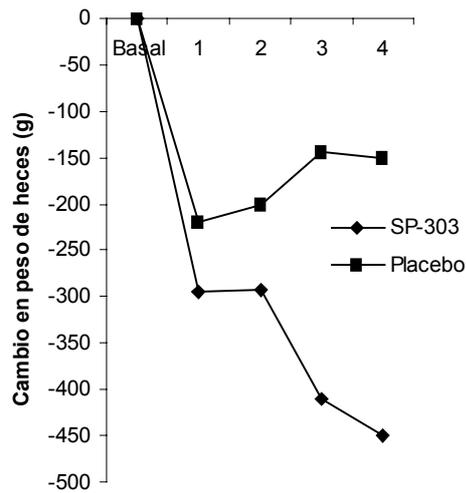
**Figura 2.** Efecto de la Sangre de grado (SP-303) en la acumulación de fluidos por efecto de la toxina del cólera.



**Figura 3.** Efecto de la Sangre de grado (SP-303) en el cambio de concentración de cloro en heces de pacientes con SIDA.



**Figura 4.** Efecto de la Sangre de grado (SP-303) en el cambio de peso de las heces en pacientes con SIDA



**Figura 5.** Actividad anticancerígena de la sangre de Grado

## **UÑA DE GATO (*Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*)**

### **Acción Anti-inflamatoria**

En experimentos conducidos en nuestro laboratorio usando solución acuosa de *Uncaria tomentosa* (UT) en concentraciones de 100 µg/ml disminuyó la producción de óxido nítrico (NO) en macrófagos (RAW 264.7) y células epiteliales (HT29) cuando fueron expuestas a la endotoxina LPS (1 µg/ml). Este resultado benéfico de la UT a nivel celular se explicó a través de la sub-regulación de la enzima inducida óxido nítrico sintetasa (iNOS) que es la responsable de producir NO. Asimismo, se observó una sub-regulación de la actividad del factor de transcripción NF-κB (proteína que se liga al DNA) y que cuando es activada induce la expresión de otros 28 genes asociados a inflamación (Sandoval et al., 1998). Esta fue la primera demostración científica del mecanismo de como la UdG (UT) disminuye la inflamación. En base a esta característica de la UdG, de inhibir la actividad de NF-κB, existe interés en desarrollar productos con UdG orientados a controlar procesos inflamatorios.

En estudios diferentes, también demostramos que la administración oral de UdG (UT) a concentraciones de 5 mg/ml (solución acuosa de corteza) a ratas se protegió la integridad de la histología intestinal cuando se generó inflamación con Indometacina (anti-inflamatorio non-steroidal). Estos descubrimientos han contribuido a considerar a la UdG como una fuente de componentes activos anti-inflamatorios que tendrían mucha aplicación para pacientes que sufren de inflamaciones intestinales, reumatismo y la enfermedad de Crohn. En otros experimentos con ratas a los cuales se les causó gastritis estomacal con Indometacina, se observó que el pre-tratamiento con UdG por tres días coadyuvó a proteger significativamente el epitelio estomacal.

Nuestro grupo de investigación trabajando con la UdG (*Uncaria guianensis*) y en experimentos con humanos ha demostrado por primera vez la eficacia de esta especie para disminuir efectos negativos originados por la osteoartritis (Piscoya et al., 2001). Esta bondad médica de la *U. guianensis* corrobora la actividad anti-inflamatoria que se le atribuye a la UdG, también reportada (etnomedicamente) para la *U. tomentosa*.

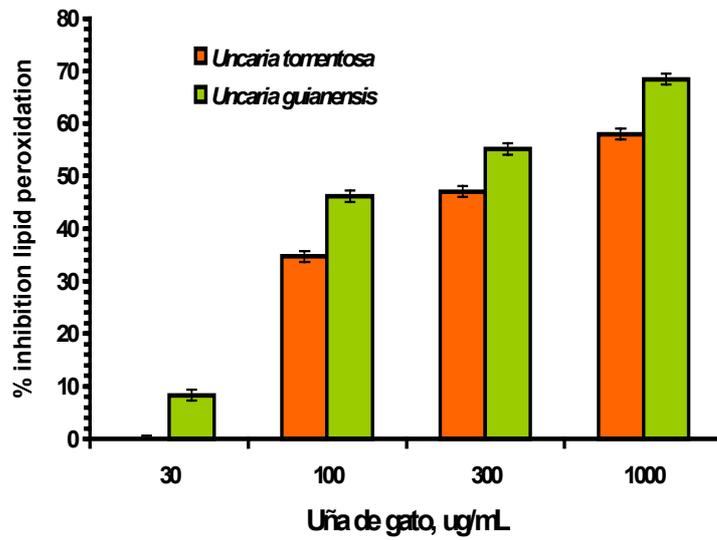
### **Acción Antioxidativa**

La UdG (*Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*) posee propiedades antioxidativas significativas demostradas por su capacidad de inhibir radicales libres (peroxilos, hidroxilos y DDPH). Experimentos realizados en nuestro laboratorio demuestran que la eficiencia de controlar oxidantes es muy efectiva y se traduce en citoprotección cuando las células están expuestas a stress oxidativo, como la exposición a rayos ultravioleta (Sandoval et al., 2000). El efecto de procesamiento de la UdG, también contribuye a la eficacia de la actividad antioxidativa. Por ejemplo, se ha demostrado que la UdG liofilizada es superior a la UdG micropulverizada en su capacidad de secuestrar radicales libres. Asimismo, el grado de preferencia para la UdG varía según su proceso.

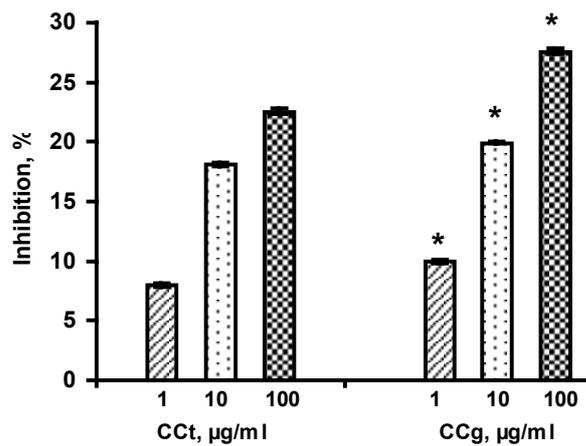
En el mercado de los países desarrollados, la UdG liofilizada tiene mayor aceptación que la micropulverizada debido a sus características de granularidad, solubilidad y biodisponibilidad de principios activos. Un aspecto importante en el estudio de la UdG es el hecho que hemos demostrado que la actividad antioxidativa de la UdG es independiente de su contenido de alcaloides. Este descubrimiento es nuevo y favorece el uso de la especie menos estudiada *U. guianensis* (Sandoval et al., 2002).

El valor biológico de la UdG como fuente de componentes químicos que tienen actividad antioxidante agrega otra propiedad benéfica a esta planta. Asimismo, lo hace muy atractiva en la industria nutracéutica e inclusive lo convierte en una fuente de antioxidantes naturales muy competitiva frente a otros productos que ya se ofertan en el mercado internacional a un precio elevado y con características similares a las que posee la UdG.

**Figura 1.** Efecto de la Uña de gato en su capacidad de inhibir la peroxidación de lípidos.

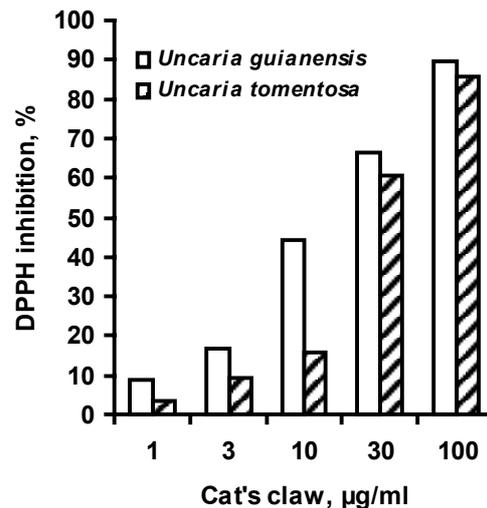


**Figura 2.** Comparación de la actividad protectora de la deoxiribosa de las dos especies de Uña de gato<sup>1</sup>



<sup>1</sup>*Uncaria tomentosa* (CCt) y *Uncaria guianensis* (CCg)

**Figura 3.** Capacidad antioxidativa de la Uña de Gato: Inhibición de radicales libres DPPH.



### **Acción Protectora al DNA**

Con el fin de evaluar si la UdG (UT) puede proteger al DNA contra los oxidantes que se producen fisiológicamente en el cuerpo en estados de inflamación se ejecutó varios experimentos con cultivos celulares. La administración de una solución acuosa de corteza de *Uncaria tomentosa* (100 µg/ml) en cultivos celulares (HT29 y RAW 264.7) disminuyó el nivel de apoptosis o rompimiento del DNA (muerte celular programada) causada por el oxidante peroxinitrito.

### **Acción Immunoduladora**

En experimentos conducidos con cultivos celulares (RAW 264.7) expuestos a un modelo inflamatorio originado con la endotoxina de *E. coli* (LPS) se encontró que la *Uncaria tomentosa* disminuyó la producción de prostaglandina E2 (PGE<sub>2</sub>), un biomarcador de inflamación y expresión del gene

COX-2. En este mismo trabajo se demostró que las dos especies de UdG (10 µg/ml) poseen similar actividad de inhibir la producción de la citokina pro-inflamatoria, tumor necrosis factor alfa (TNF $\alpha$ ), que es una de las proteínas que se sobreproduce en estados de inflamación (Piscoya et al., 2001).

En experimentos preliminares conducidos en nuestro laboratorio utilizando las dos especies de UdG (lío-filizado) y a concentraciones >50 µg/ml en cultivos celulares (RAW 264.7) hemos observado la tendencia a estimular la producción de la citokina, interleukina-1 (IL-1). Esta citokina produce el organismo como uno de los mecanismos de defensa contra el ataque de xenobióticos. Lo nuevo de esta observación es que las dos especies actúan similarmente y se conoce que ambas poseen diferentes concentraciones de alcaloides. Esto significa que es posible que esta propiedad inmunomoduladora de la UdG no se deba exclusivamente a su contenido de alcaloides. En estos momentos estamos profundizando el estudio de este mecanismo de acción

#### **Acción Anti-cancer**

Experimentos conducidos con cultivos celulares demostraron que el extracto acuoso comercial (C-Med-100<sup>TM</sup>) de *U. tomentosa*, causó apoptosis en células HL60 e inhibición de proliferación en células tumorígenas (Sheng et al., 1998). Sin embargo, es importante hacer notar que este efecto se observó cuando las células fueron expuestas a concentraciones de UdG > 100 µg/ml.

En nuestro laboratorio, también hemos observado este fenómeno con otras células. A mayores concentraciones la UdG es citotóxica expresada en disminución de la viabilidad y proliferación celular.

#### **Contenido de Alcaloides**

Una de las áreas en las que se ha conducido numerosos estudios, representa las evaluaciones analíticas de la UdG. En este campo se ha documentado la presencia de una variedad de alcaloides. Estos alcaloides se determinaron en las diversas partes de la planta (hoja, corteza y raíz). Hasta el momento se han reportado 18 alcaloides distribuidos en toda la planta y en diversas concentraciones (Laus et al., 1997; Kitajima et al., 2000; Sandoval et al., 2002). No existe en la literatura hasta el momento datos convincentes que

indiquen que los alcaloides puros, ya sea solos o en combinación, sean los componentes que provean las bondades médicas hasta ahora reportadas para los extractos de UdG.

Trabajos de investigación conducidos en nuestro laboratorio han demostrado que el contenido de alcaloides en las dos especies difieren notoriamente. La *U. tomentosa* contiene alrededor de 35 veces mas alcaloides que la *U. guianensis*. Sin embargo, esta diferencia significativa no influencia en la capacidad antioxidativa (inhibición de radicales libres) e inmunomoduladora (producción de IL-1).

Investigaciones realizadas con alcaloides pentacíclicos (POA) y tetracíclicos (TOA) obtenidos de la *U. tomentosa* demostraron que el suministro de los POA a células endoteliales (EA.hy926) causo la excreción en el medio de cultivo un factor aun no determinado que cuando se administró a linfocitos normales de humanos (células tipo B y T) promovió su proliferación. Los linfocitos estuvieron en estado normal o ligeramente activadas. Por lo contrario, la proliferación de linfocitos normales de humanos y los linfoblastoides B de la línea celular Raji y el linfoblastoide humano T de la línea celular Jurkat fueron inhibidas significativamente pero su viabilidad celular no fue afectada. Los autores de este estudio concluyen que los TOA disminuyeron la actividad de los POA en las células endoteliales humanas (Wurm et al., 1998).

### **CAMU-CAMU (*Myrciaria dubia*)**

Existen pocos trabajos científicos publicados a cerca de las bondades nutricionales y medicinales del Camu-Camu. Uno de los trabajos que describe la composición química de esta fruta es la publicada por Zapata y Dufour, 1993. En este estudio los autores describen características del Camu-Camu ligadas a su valor nutricional. A pesar de la escasez de trabajos el uso del Camu-Camu para consumo humano está bien difundido, especialmente como bebida (refrescos y néctares). También se observa el uso del Camu-Camu en otras aplicaciones en la industria alimenticia tales como, mermeladas, helados, caramelos, etc.

En los últimos dos años nuestro grupo ha empezado a investigar el Camu-Camu con el propósito de demostrar su valor biológico. En experimentos con cultivos celulares hemos demostrado que el Camu-Camu protege a las células en condiciones de stress oxidativo generado por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Este oxidante es una de las especies oxigenadas reactivas más nocivas en condiciones fisiológicas. El Camu-Camu tiene la capacidad de inhibir el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en forma significativa protegiendo la viabilidad celular. Asimismo, el Camu-Camu descompone radicales libres como el DPPH y peróxidos lo cual añade otras propiedades antioxidativas a esta fruta hasta ahora no demostradas en sistemas biológicos. La cuantificación de polifenoles (catequinas) en camu-Camu viene siendo investigada en nuestro laboratorio y los resultados preliminares indican que su concentración, a pesar de no ser similar al nivel de ácido ascórbico (Vitamina C) es notorio y puede contribuir a incrementar el sinergismo entre estos compuestos y mejorar la capacidad antioxidante (Sandoval et al., 2001).

### **Composición Química**

La composición química del Camu-Camu reportado por Zapata y Dufour es mostrado en el Cuadro 1. Se indican concentraciones de ácido ascórbico, contenido de amino ácidos, minerales y otros nutrientes tales como proteína y carbohidratos. Esta es una de las pocas informaciones científicas sobre el valor nutricional del Camu-Camu que se halla publicado en la literatura.

**Cuadro 1.** Análisis químico del jugo de fruta de Camu-Camu<sup>1</sup>

<b>Parámetro</b>	<b>Fruta</b>		
	Verde	Pintón	Madura
Acido ascórbico	8.45	9.39	9.39
Acido dehidroascórbico	0.19	0.25	0.31
Glucosa	2.24	3.61	8.16
Fructosa	3.70	5.07	9.51
Acido cítrico	29.82	22.93	19.81
Acido Isocítrico	0.13	0.12	0.15
Acido Málico	2.80	4.88	5.98
Acidez (ácido cítrico)	35.5	30.7	30.8

<sup>1</sup>Camu-Camu fresco (Zapata y Dufour, 1993).

**Cuadro 2.** Análisis químico del jugo de fruta de Camu-Camu<sup>1</sup>

<b>Parámetro</b>	<b>Fruta</b>		
	Verde	Pintón	Madura
K, g/kg	532	600	711
Ca, g/kg	66	62	65
Mg, g/kg	47	47	51
Na, g/kg	49	44	27
PO <sub>4</sub> , g/kg	245	256	295
SO <sub>4</sub> , g/kg	219	163	132
Al, mg/kg	3.1	3.0	2.1
B, mg/kg	0.4	0.5	0.5
Cu, mg/kg	0.5	0.7	0.8
Fe, mg/kg	1.3	1.8	1.8
Mn, mg/kg	1.4	1.4	2.1
Zn, mg/kg	1.3	1.2	1.3
Cl, mg/kg	77	66	116

<sup>1</sup>Camu-Camu fresco (Zapata y Dufour, 1993).

**Cuadro 3.** Análisis químico del jugo de fruta de Camu-Camu<sup>1</sup>

<b>Parámetro</b>	<b>Fruta</b>		
	Verde	Pintón	Madura
pH	2.44	2.53	2.56
Densidad Relativa 20/20°C	1.026	1.025	1.030
Brix (%)	5.6	5.5	6.8
Sólidos Totales	69.8	67.7	81.0
Brix/Acidez (ratio)	1.6	1.8	2.2
Nitrógeno Total	0.568	0.624	0.735
<b>Amino ácidos, mg/kg</b>			
Serina	299	371	637
AcidezValina (ácido cítrico)	99	168	316
Leucina	90	132	289
Glutamato	88	100	119
4-Aminobutanoato	71	93	108
Prolina	43	53	82
Fenilalanina	17	22	43
Treonina	20	28	36
Alanina	17	28	34

<sup>1</sup>Camu-Camu fresco (Zapata y Dufour, 1993).

### Coloración de la Pulpa

**Cuadro 4.** Medición del Color de la Pulpa de la fruta de Camu-Camu<sup>1</sup>

Medición del Color	<b>Fruta</b>		
	Verde	Pintón	Madura
A* (rojo)	- 1.17	3.02	8.04
B* (Amarillo)	0.99	3.94	4.39
L* (Claro)	40.66	42.61	40.70
OD <sub>242</sub> (dilución 1:600)	0.844	0.963	1.119

<sup>1</sup>Camu-Camu fresco (Zapata y Dufour, 1993).

### **Contenido de ácido ascórbico**

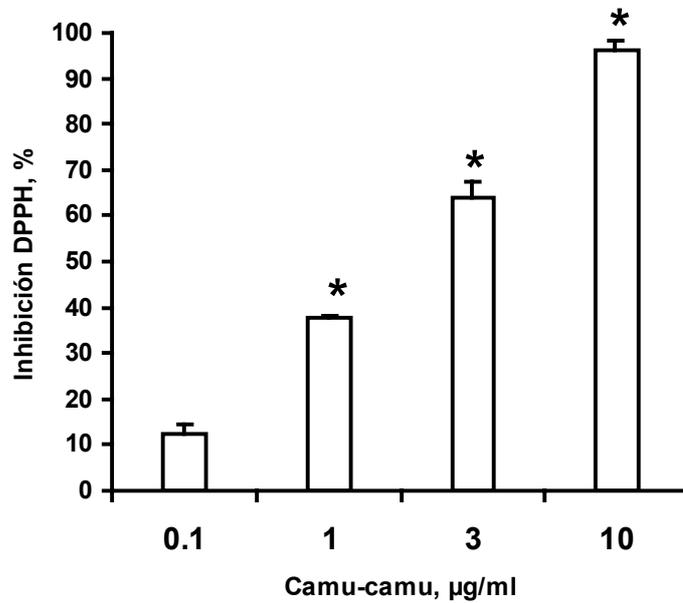
La concentración de ácido ascórbico en la fruta de Camu-Camu ha sido determinado en nuestro laboratorio en dos formas de procesamiento: 1) pulpa fresca y 2) liofilizado. Los resultados se pueden observar en la Figura 5. En base a estos resultados y a los encontrados por Zapata y Dufour y en resultados publicados por otros autores en Perú se puede concluir que el Camu-Camu es una fruta con elevado contenido de ácido ascórbico (Sandoval et al., 2002).

Trabajos de Investigación conducidos por Justi et al., 2000 indican que la estabilidad de la vitamina C en la pulpa de Camu-Camu, almacenada a (-18°C) disminuye en 23% en 28 días (1.57 a 1.21 g/100g). En este estudio los investigadores también indicaron que la disminución de vitamina C no se acrecentó notablemente hasta los 335 días, detectándose al final una disminución total de 26%. Los autores de este estudio, concluyeron que los niveles de vitamina C encontrado en el camu-Camu fue suficientemente alto comparado a otras frutas que también son buenas fuentes de vitamina C.

### **Actividad Antioxidativa**

La actividad antioxidativa del Camu-Camu ha sido reportada por primera vez por nuestro grupo de investigación (Sandoval et al., 2001). Según estos resultados se puede concluir que el Camu-Camu posee una excelente capacidad de inhibir radicales libres tales como peróxidos, DPPH y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Esta propiedad de inhibir oxidantes y radicales libres lo hace muy competitiva en relación a otras frutas o fuentes naturales de antioxidantes.

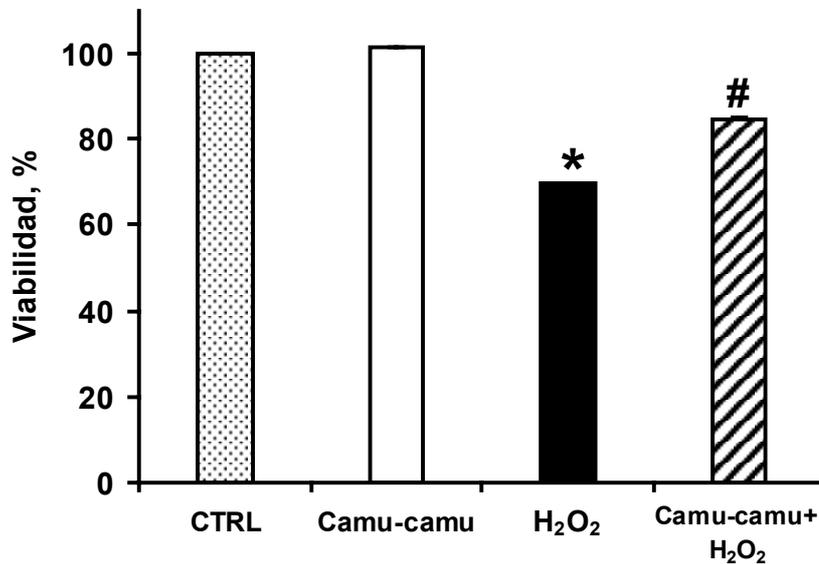
**Figura 1.** Actividad Antioxidativa del Camu-Camu para inhibir radicales libres (DPPH)



### **Efecto Citoprotector**

La bondad biológica del Camu-Camu como agente citoprotector ha sido demostrado por primera vez por nuestro grupo de investigación. En experimentos realizados con células RAW 264.7 y tratados con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se encontró que la adición de Camu-Camu al medium protegió a las células contra el stress oxidativo generado por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> disminuyendo el efecto negativo de este oxidante (Sandoval et al., 2001).

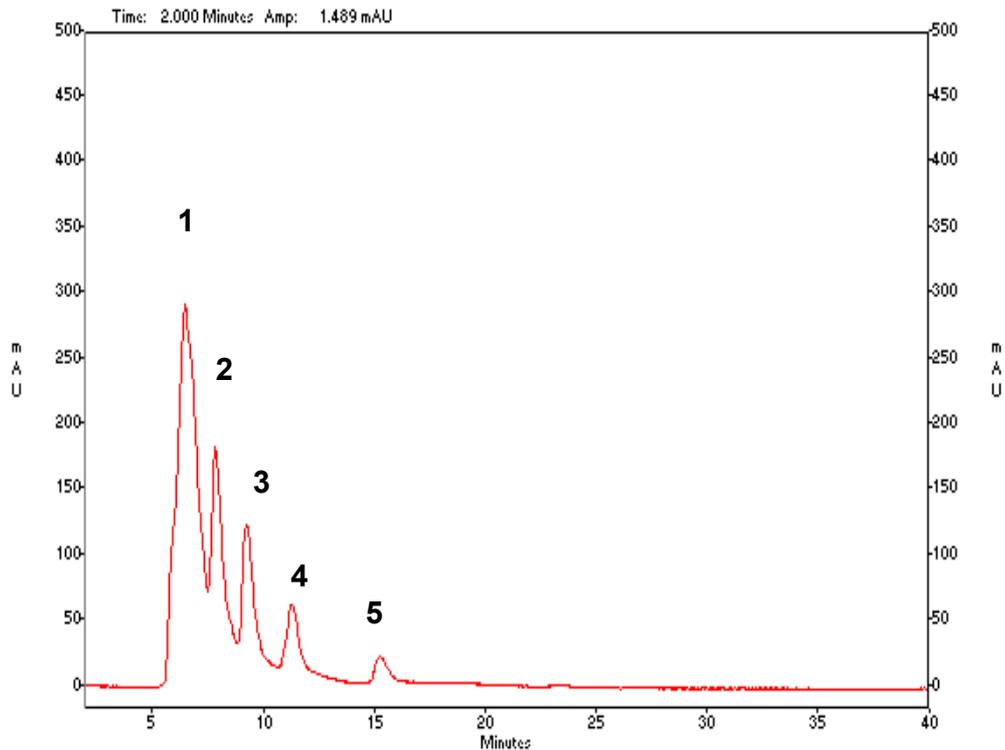
**Figura 2.** Efecto citoprotector del Camu-Camu contra el stress oxidativo generado por peróxido de hidrógeno en cultivos celulares (RAW 264.7)



### Estimación de Polifenoles

La determinación de polifenoles (catequinas) en Camu-Camu aun no ha sido reportado en la literature. Nuestro grupo ha conducido experimentos usando HPLC y hemos determinado que el Camu-Camu posee catequinas (Sandoval et al., 2002). Experimentos adicionales se están conduciendo para identificar con exactitud los polifenoles detectados con HPLC.

**Figura 3.** Determinación de polifenoles en Camu-camu por HPLC



#### **IV PROCESO TECNOLÓGICO**

##### **SANGRE DE GRADO**

En la actualidad la mayor cantidad de SdG es comercializada en el mercado nacional como al internacional en estado líquido, i.e. latex (raw material). Este tipo de comercialización, si es que es dirigido principalmente al mercado internacional no contribuye a generar valor agregado al producto. Asimismo, la venta como latex está sujeta a cierta reacción visual de los compradores quienes por lo general no están familiarizados con este producto. Por lo tanto, se recomienda que otras formas de procesamiento deben ser contempladas con el fin de abaratar el transporte desde la Selva hasta Lima y desde allí hasta el exterior. A continuación se describe dos procesos de industrialización de la SdG.

## 1. **Deshidratado**

El paso básico para la elaboración de sangre de grado (SdG) deshidratado es como sigue:

- Recepción y selección
  - Pureza del latex
  - Ausencia de partículas (insectos, etc)
  - Ausencia de contaminación
  - Color y textura uniforme
  - Olor característico del latex
- Filtración
- Secado (80°C)
- Molienda (micropulverizado)
- Envasado (material de plástico)
- Almacenamiento

## 2. **Liofilizado**

Una de las formas de procesamiento que tiene una mejor aceptación en el mercado externo para productos naturales es el liofilizado (freeze-dried). Las aplicaciones de uso de la SdG liofilizada tanto para la industria farmacéutica y nutracéutica son innumerables y van desde aplicaciones médicas (cremas anti picazones, cremas hemorroides, cremas facilitadores de cicatrización, etc), también su incorporación a tinturas (soluciones orgánicas) se hace mas viable por su fácil resuspensión. Un aspecto importante de este proceso es que las temperaturas a las que se le somete a la SdG no son muy cambiantes (extremas) que podrían afectar la naturaleza y actividad de los componentes activos. Una desventaja de implementar este proceso de industrialización de la SdG es el hecho que se requiere una significativa o “fuerte” inversión inicial para adquirir un liofilizador de capacidad de producción mediana y de fácil interconversión para ser usado con otros productos que ameritan ser procesados de esta manera. Los pasos que contempla este proceso son como sigue:

- Recepción y selección
  - Pureza del latex
  - Ausencia de partículas (insectos, etc)
  - Ausencia de contaminación
  - Color y textura uniforme
  - Olor característico del latex

#### Filtración

- Pesado/Volumen
- Llenado de Bandejas/Pesado
- Liofilización
- Evaluación del producto/Selección
- Detección presencia de partículas de metales
- Pesado/Almacenamiento
- Análisis (Control de calidad)
- Comercialización

La liofilización de SdG conducida experimentalmente en nuestros laboratorios nos permite indicar lo siguiente:

- a. Se estima que de cada árbol de SdG se cosecha en promedio entre 3.5 a 4 lts de latex
- b. En una Ha se puede cultivar 45 plantas (15 m x15m), 100 plantas (10m x 10m) ó 400 plantas (5mx 5m). El volumen de latex cosechado estará asociada al sistema de cultivo que se practica.
- c. El rendimiento de SdG liofilizada es de 20%. Es decir que por cada 100 litros de SdG se obtiene 20 kg de producto liofilizado.
- d. Se estima que de cada árbol se puede obtener en promedio 0.8 kg de SdG liofilizado.
- e. La comercialización de SdG liofilizada sería una forma efectiva de disminuir los costos de transporte, obtener mejor precio y mejor preferencia por la industria externa.
- f. El almacenamiento de productos secos es mas acequible a permitir ahorro de espacio a los industriales, especialmente en el extranjero.

## UÑA DE GATO

Existen varias posibilidades de industrializar la Uña de Gato (UdG) con fines de generar valor agregado. En vista que la mayoría de información científica de la UdG está basado en trabajos efectuados usando la corteza y la raíz. El proceso tecnológico estaría orientado a procesar la corteza. Sin embargo, en nuestro laboratorio ya hemos evaluado las bondades biológicas de la hoja de UdG (*Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*) y los resultados de sus propiedad antioxidativa es inequívoca en su capacidad de inhibir radicales libres. Este aspecto de la investigación con UdG será discutida brevemente.

Antes de describir las posibilidades de industrialización de la UdG, es esencial indicar las formas cómo se comercializa la UdG en el Perú.

1. Trozos. La corteza de la UdG por lo general es comercializada en esta forma por los "agricultores" a los intermediarios de un mercado local o regional. Los intermediarios, en turno venden la UdG a otros procesadores, quienes por lo general efectúan una molienda para ser vendida a la industria nacional.
2. Micropulverizada. La corteza de UdG una ves molida genera un producto semi-procesado llamado micropulverizado y de esta forma la UdG por lo general ha venido siendo incorporado en diversas formas de formulaciones en pastilla y cápsulas.

Por motivo de dejar bien en claro la preocupación tanto de la industria extranjera como de los consumidores; las dos previas formas de comercialización a nivel nacional no tiene formas objetivas de verificar la calidad y pureza de la UdG e inclusive diferenciar entre las dos especies conocidas (*U. tomentosa* y *U. guianensis*). Por lo tanto, antes de describir las posibilidades de industrialización de la UdG es ESENCIAL establecer el mecanismo de CONTROL DE CALIDAD, i.e. pureza (fingerprinting) para poder garantizar el éxito de su comercialización.

Asumiendo que el control de calidad esta asegurado las diversas formas de industrialización se describen a continuación:

## **1. Micropulverizado**

- Recepción y selección
  - Determinación de la Pureza del material
  - Eliminación de material inorgánico (insectos, etc)
  - Verificar ausencia de contaminación
  - Uniformidad de la materia prima
  - Desinfección
  - Secado (80°C)
- Molienda
- Detectar presencia de rezagos de metales
- Envasado (material de plástico)
- Almacenamiento

## **2. Atomizado**

Para el proceso de atomización de la UdG la industria ha implementado un flujo de operaciones a partir del producto micropulverizado o el uso de la corteza cortada en pequeños pedazos:

- Preparación de solución acuosa por ebullición
- Separación del sobrenadante
- Filtración
- Atomizado por efecto de temperatura en combinación con un excipiente e.g maltodextrina.
- Colección del material atomizado (polvo)
- Envasado
- Almacenado

Esta forma de industrialización de la UdG se efectúa en el Perú y se puede encontrar en el mercado productos tipo pastillas y cápsulas conteniendo UdG atomizada concentrada. Por lo general, el precio de estos productos es mas alto que la de un producto conteniendo UdG micropulverizado. Con respecto a la concentración de componentes tales como alcaloides; la UdG

atomizada permite concentrar los alcaloides proveyendo así un producto enriquecido en alcaloides. En nuestro laboratorio hemos comparado la actividad biológica de estas diversas formas de industrialización de UdG. A pesar que el atomizado es una forma que genera valor agregado para la industria nacional, existe ciertas preocupaciones por la calidad de los excipientes que se utiliza para garantizar su estandarización.

### **3. Liofilizado**

El proceso de liofilización es uno de los procesos tecnológicos de mayor preferencia por la industria farmacéutica, médica, nutracéutica y de alimentos. Considerando que la UdG, posee en su composición química una serie de principios activos con funciones de antioxidante, anti-inflamatorio, inmunomodulador y anticancerígeno, la liofilización constituye una excelente forma de industrialización por las ventajas antes descritas. A parte de las mencionadas líneas arriba, la liofilización preserva con mejor eficacia la integridad y actividad de los componentes activos de la UdG haciéndolo mas biodisponible.

Los pasos del proceso de liofilización incluye las siguientes fases:

- Recepción y selección
  - Pureza de la materia prima
  - Ausencia de partículas (insectos, etc)
  - Ausencia de contaminación
  - Color y textura uniforme
- Preparación extracto acuoso
- Filtración
- Pesado/Volumen
- Llenado de Bandejas/Pesado
- Liofilización
- Evaluación del producto/Selección
- Detección presencia de partículas de metales
- Pesado/Almacenamiento

- Análisis (Control de calidad)
- Comercialización

La liofilización de la UdG conducida experimentalmente en nuestros laboratorios nos permite indicar lo siguiente:

- a. El rendimiento de UdG liofilizada es un promedio de 10%. Es decir que por cada 100 litros de extracto acuoso de UdG se obtiene 10 kg de producto liofilizado.
- b. La comercialización de UdG liofilizada es la forma de mayor aceptación en el mercado USA. En la actualidad muy pocas son las empresas que venden UdG en esta forma. La única empresa que estuvo vendiendo en USA UdG liofilizada era Rainforest Phytoceuticals en joint-venture con Liofilizadora del Pacífico. El producto era bajo el nombre de Manaxx.
- c. Existe demanda por el producto liofilizado en el mercado USA, Canadá y Europa.

#### **4. Extractos alcohólico**

Los preparados alcohólicos en base a UdGs se pueden observar en el mercado nacional bajo diferentes aplicaciones. Por ejemplo, se pueden adquirir bebidas espirituosas conteniendo UdG en una concentración de 44% de alcohol. También se encuentran tinturas conteniendo UdG en concentraciones de ethanol >70%, las aplicaciones de estas formas de procesamiento tienen un mercado muy limitado. Por razones éticas las aplicaciones médicas de la UdG en estas formas, conteniendo alcohol, están muy restringidas por razones éticas.

Considerando los factores antes mencionados una posible industrialización de la UdG en la forma de extracto alcohólico no tiene posibilidades de éxito, inclusive las bondades biomédicas de estas formas a pesar de, posiblemente preservarse, se verían cuestionadas por el consumo de alcohol.

En resumen, en lo que corresponde a industrialización de la UdG y generación de valor agregado; la liofilización es la mejor alternativa por su aceptación en el mercado externo, preservación de los componentes activos,

biodisponibilidad, facilidad de demostrar su pureza a través del fingerprinting y una estandarización utilizando un marker químico aceptado. También en nuestro laboratorio estamos desarrollando un Índice de calidad biológica-química para la UdG que facilite su comercialización al extranjero.

**Cuadro 1.** Comercio Internacional de la Uña de Gato

<b>Año</b>	<b>Peso, kg</b>	<b>Corteza %</b>	<b>Molido %</b>	<b>Micropulverizado %</b>	<b>Envasado %</b>	<b>Extracto %</b>	<b>Países exportados</b>
1993	200	ND	-	-	-	-	1
1994	20743	84.9	-	13.6	1.5	-	8
1995	726684	89.6	4.6	5.3	0.5	-	24
1996	346903	80.3	15.2	3.5	0.8	0.1	26
<b>Precio</b>							
S/.		3.4/kg	5.9/kg	20.3/kg	1.8/100g	-	-

Fuente: INRENA

Según INRENA, once fueron los departamentos que mayormente contribuyeron a la exportación de UdG en 1995. De estos 11 departamentos los que proveyeron >10000 kg de UdG fueron: Ucayali (280082), Huánuco (230452), Pasco (112931), Junín (44262) y San Martín (40232).

Los productos fueron vendidos a Austria, Belarus, Bolivia, Bulgaria, Canada, Chechenia, The Dominican republic, Germany, Guatemala, El Salvador, Ecuador, Israel, Hong Kong, Italia, Japón, México, Panamá, Paraguay, Rusia, España, Suecia, Taiwan, Ucrania, USA y Venezuela.

## **CAMU-CAMU**

### **1. Pulpa de fruta de Camu-Camu**

Actualmente la forma generalizada de comercializar el Camu-Camu (fruta) destinado a la industria de alimentos o para aplicaciones en nutracéuticos o productos alimenticios es como pulpa.

El proceso de elaboración de pulpa de la fruta, en condiciones experimentales en nuestro laboratorio, indica que el rendimiento en pulpa alrededor de unos 54%, cáscara 28.6% y semilla 17.2%, respectivamente.

Los pasos básicos para la elaboración de pulpa de Camu-Camu son las siguientes:

#### **Recepción y Selección**

- Fruta sana
- Ausencia de ataques de insectos
- Ausencia de daños mecánicos
- Estado de madurez fisiológica
- Color, textura uniformes y características del fruto
- Valor mínimo de sólidos solubles (°Brix) de 13 grados aproximadamente.
- Valor de pH entre 2.0 -3.5.

#### **Lavado**

La fruta se lava con una solución de hipoclorito de sodio (43 ml de solución de hipoclorito de sodio al 3.5% -cloro líquido comercial- por cada 100 litros de agua). Después del lavado con hipoclorito de sodio se procede a lavar con agua potable para eliminar cualquier residuo de cloro que pudiera quedar.

#### **Escaldado**

El escaldado se aplica al producto por un tiempo tal que la fruta alcance en su interior una temperatura mínima de 75°C por unos 10 minutos.

#### **Pelado y troceado**

Con esta operación se separa la pulpa de la semilla. Utilizar cuchillos de acero inoxidable sobre una mesa de acero inoxidable también. Lo trozos de

Camu-Camu ya listos se colocan en baldes plásticos limpios, para luego ser llevados al despulpador.

### **Despulpado**

Para obtener un puré bien fino se recomienda refinar el puré pasándolo a través de un despulpador con una malla bien fina, que asegure la remoción de las partes indeseables. El tamaño de la malla recomendable es de 0.5 mm. La materia que se separa de la pulpa mediante este proceso se recibe en baldes plásticos y se separa del proceso. La pulpa también se recibe en baldes y se coloca en la marmita.

### **Tratamiento térmico**

En la marmita la pulpa recibe un tratamiento térmico adecuado para evitar su deterioro químico y microbiológico. Este tratamiento consiste en aplicar calor hasta que la parte central de la pulpa colocada en la marmita alcance los 95°C. Debe mantenerse a esta temperatura por 10 minutos. La agitación es muy importante durante todo este proceso.

### **Aditivos**

La adición de aditivos se recomienda para prolongar la vida útil. Por ejemplo, en el caso del mango se agrega ácido cítrico al 0.3% como acidulante para bajar el pH y evitar el crecimiento de microorganismos. También se utiliza benzoato de sodio al 0.1%. También se recomienda la adición de ácido ascórbico al 0.1% para que actúe como antioxidante y evite el cambio de color del producto final (oscurecimiento). También ayuda a controlar hongos y levaduras. Los aditivos se agregan casi al terminar el tratamiento térmico, aproximadamente unos 4-5 minutos. El producto final debe tener 13°Brix y un pH <3.5.

### **Envasado**

Este proceso se realiza en caliente en recipientes de material plástico e inmediatamente cerrarlo herméticamente.

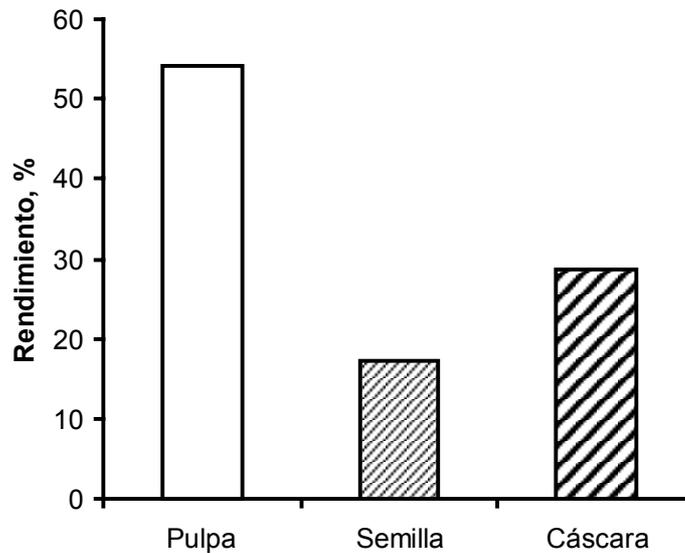
### **Enfriamiento**

Hacer con agua potable lo más fría posible y debe estar en constante circulación, para aumentar la eficiencia del proceso.

## Almacenamiento

De preferencia almacenar a 4°C para ser transportado.

**Figura 1.** Rendimiento de pulpa de fruta de Camu-Camu (*Myrciaria dubia*)



## 2. Concentrado de fruta de Camu-Camu

El proceso de elaboración de concentrado de fruta de Camu-Camu requiere de una tecnología especializada para este propósito. En el presente estudio se presenta fotografías del tipo de maquinaria que sería necesario adquirir para elaborar concentrado de Camu-Camu.

La materia prima para este proceso sería la pulpa que se tendría que obtener en primera instancia siguiendo el proceso arriba mencionado. Por supuesto, que la exportación de concentrado sería una forma de mejorar los costos de venta y generar valor agregado. Sin embargo, una serie de factores técnicos tienen que ser investigados primeramente con el fin de superar los problemas que en estos momentos vienen observando los productores de pulpa.

La visita in situ a estas plantas ayudará definitivamente a identificar una serie de potenciales factores que vienen interviniendo en el proceso de producción de pulpa. Luego, en base a esta identificación diseñar la mejor estrategia de solución.

Problemas a resolver (recibidos via email) asociados al actual proceso de producción de pulpa en Iquitos, Perú:

1. El actual sistema de uso de calor está afectando las características del camu-Camu.
2. Se ha reportado que la luz afecta el ácido ascórbico y cambia las características de la pulpa.
3. Se indica que la pulpa de fruta, contiene enzimas que inician su actividad apenas terminado el proceso de pulpeado y si no se congela la pulpa, rápidamente fermenta, hechándose a perder.

Para resolver estos problemas y cómo se ha indicado líneas arriba será preciso visitar una planta de procesamiento y delinear una estrategia de acción. Sin embargo, de los problemas enumerados, se desprende que es necesario revisar al detalle el flujo del proceso que se emplea en la actualidad en Iquitos.

1. Evaluar las características de las facilidades de infraestructura física con las que se cuenta.
2. Determinar la presencia de enzimas tipo peroxidasas y polifenol oxidasas (oxidoreductasas) presentes en la pupa de Camu-Camu.
3. Determinar con exactitud el tiempo "neto" utilizado durante todo el proceso de elaboración de pulpa, i.e. 1) conocer cuanto tiempo se encuentra la fruta a temperatura ambiente antes de iniciarse el proceso de pulpeado, b) cuál es la temperatura promedio al interior de la planta durante el proceso elaboración de la pulpa?.
4. Después de cuanto tiempo de cosechado la fruta se inicia el proceso de elaboración de pulpa.

Referente a posibles alternativas planteadas al proceso actual de elaboración de pulpa con el fin de dar solución a los problemas antes enumerados se ha

sugerido lo siguiente (email recibido en función a conversación con los industriales en Iquitos) se detallan a continuación:

- a. *"Efectos del irradiado sobre la pulpa de camu camu, ya que el proceso de pasteurizado altera sus propiedades organolépticas y reduce el contenido de ácido ascórbico. Habría que analizar los costos también y la aceptación de los consumidores al irradiado".*

Esta alternativa de irradiación con rayos Gamma, a pesar de estar autorizado por la FDA, los productos irradiados no tienen aceptación del consumidor. Todo producto irradiado tiene que ser comercializado indicando ha sido sometido a este proceso de esterilización. En base a la experiencia en USA, por ejemplo aquí esencialmente la sociedad no consume producto con etiqueta que indique irradiación. Por lo tanto, esta posible solución no sería factible para garantizar su exportación a USA. Por otro lado, el proceso de irradiación tiene un costo y se tiene que efectuar en Lima, lo cual agrega otras variables de tiempo y cambio de temperatura a los que la pulpa se vería sometida.

- b. *"Algún proceso (de ser posible, natural o no químico) que establezca las características de color y sabor del camu camu, de manera que se puedan obtener néctares, mermeladas y otros productos, sin perder estas cualidades".*

Para estabilizar el sabor del Camu-Camu se tiene que monitorear el contenido de azúcares en la pulpa y por supuesto evitar el proceso de oxidación. Para ello se tendría que evaluar la posibilidad de utilizar compuestos químicos antagónicos a la acción de enzimas de naturaleza oxireductasas. De mismo modo una evaluación del proceso actual permitirá conocer mejor los potenciales fenómenos que vienen ocurriendo.

- c. *"Envases de bajo costo, idóneos para la pulpa de camu camu. Los envases deben ser opacos, resistentes, de buena presentación y deben asegurar la no contaminación y la buena calidad del producto".*

En materia de envases existe una gran variedad en la industria de empaques y son de plástico y protegen de la luz, pero principalmente deben proceder de

un fabricante que aplique normas estrictas de higiene que garantice la esterilidad de los envase.

- d. *"Pulverizado o liofilizado solamente en el caso que el costo unitario de estos procesos sea menor que el costo de transporte de la pulpa con toda su agua (el flete marítimo a Europa está en alrededor de US \$ 0.20 por kilo y el flete aéreo Iquitos – Lima está en US \$ 0.20 por kilo también, lo que, sumado a los costos de manipuleo y otros relacionados, daría un costo de unos US \$ 0.50 a 0.60 por kilo de pulpa puesta en lugar de destino. Solamente un costo de pulverizado o liofilizado menor que este sería aceptable)".*

El rendimiento de Camu-Camu liofilizado en condiciones experimentales es del orden de 6%. Es decir que por cada 100 kg de pulpa se obtendría 6 kg de producto liofilizado.

## **2. Liofilizado**

El proceso de liofilización del Camu-Camu requiere de la adquisición de equipo moderno y en el tamaño correspondiente para procesar los volúmenes de cosecha. Los costos aproximados de un liofilizador tipo Planta Piloto oscila desde los **\$100,000 - 300,000**. En condiciones experimentales nosotros hemos demostrado que el proceso de liofilización preserva y enriquece el contenido de ácido ascórbico obteniéndose concentraciones de  $8.43 \pm 0.07$  g/100 g. La concentración de flavonoles en el producto liofilizado fue: Catequina ( $0,54 \pm 0,044$  mg/g) y Epigallocatequina ( $0,48 \pm 0,002$  mg/g).

Las posibilidades de comercializar Camu-Camu liofilizado en la industria de bebidas en USA es altamente factible por su fácil incorporación a diferentes formulaciones. También la aplicación de Camu-Camu liofilizado para la industria de caramelos en este país es una posibilidad grande por la diversidad de este mercado.

## **V INFRAESTRUCTURA FISICA**

La instalación de plantas de procesamiento de Sangre de Grado (SdG), Uña de Gato (UdG) o Camu-Camu tiene que considerar varios aspectos primordiales tales como:

1. Localización. Se debe seleccionar un lugar que posea nivel de desarrollo vial adecuado, disponibilidad de comunicación aérea, centro de acopio, facilidades de acceso a la energía eléctrica, acceso a mano de obra calificada, mercado y otros inputs.
2. Nivel de Inversión. Existe demanda por productos naturales transformados en el mercado internacional, pero también existe una competencia marcada entre países o suministradores de la industria usuaria de estos recursos. Por lo tanto, con el fin de competir con éxito se tiene que instalar una planta con características modernas y que garantice consistencia y la calidad del producto elaborado.
3. Normas de Salubridad. La industria de los países desarrollados viene exigiendo a los proveedores de materia prima, semitransformada o transformada que estos productos sean elaborados en plantas donde se utilice las buenas prácticas de manufactura (GMP). En la medida que un país a nivel de política nacional fomente y facilite que la industria de transformación de recursos implemente GMP, mejores posibilidades de comercializar los productos en el Mercado de países desarrollados.

### **Capacidad de la Planta**

Una planta de procesamiento para liofilizar Sangre de Grado o de Uña de Gato debe de contar con los siguientes ambientes físicos:

1. Recepción de materia prima
2. Clasificación/Selección
3. Preparación de la materia prima (batches)
4. Area de Operación/Manufactura
5. Refrigeración/Congelación
6. Liofilización
7. Evaluación

8. Envasado
9. Control de Calidad
10. Almacenamiento
11. Casa de Fuerza (opcional)
12. Area de desembarque/Embarque

La distribución de estos ambientes tiene que seguir un flujo lógico que facilite el proceso integral de elaboración del producto liofilizado. Se estima que en un area minima de 1000 m<sup>2</sup> se puede instalar una planta moderna. La capacidad de la planta es de mediana escala pero suficiente para producir cantidades significativas para exportación.

### **Maquinaria y Equipo**

La tecnología requerida para una industria de liofilización de productos naturales, es considerada como moderna. Por lo tanto, sus requerimientos de operación requieren de un soporte técnico correspondiente, para garantizar la continuidad de la operación. El costo aproximado de los equipos y maquinaria que a continuación se detalla, representa una inversión aproximada de \$ 100000 sin considerar el costo del liofilizador (\$100000 - 300000).

Dentro de las principales maquinarias y equipos que se necesita adquirir se considera las siguientes:

- a. 01 Balanza (capacidad 1000 kg)
- b. 01 Molino de martillo (acero inoxidable)
- c. 02 Sistemas de lavado y Desinfección de materia prima (acero inoxidable)
- d. 02 Hornos de secado vertical (de dos compuertas para ingreso de porta bandejas portátiles)
- e. 02 Marmitas (steam kettle) capacidad 500 L/batch.
- f. 01 Sistema de Refrigeración (4°C)
- g. 01 Sistema de Congelación (-20°C)
- h. 01 Liofilizador (capacidad mínimo 50 L)
- i. 01 Balanza analítica
- j. 01 pH meter

- k. 01 Espectrofotómetro UV/VIS
- l. 03 Refractómetros portátiles
- m. 01 Incubadora (37°C)
- n. 01 Sellador
- o. 01 Computador/Impresor
- p. Material de vidrio (laboratorio control de calidad)
- q. Material de plástico (laboratorio control de calidad)

### **Planta de Concentrado de jugos (pulpa)**

Para este tipo de industrialización se requiere de maquinaria adicional a lo descrito para la planta liofilizadora. Como el propósito es eliminar el agua en la pulpa de Camu-Camu para su exportación, la maquinaria que se utiliza en este proceso demanda adquirir evaporadores/concentradores. El costo de esta maquinaria oscila entre los **\$100000-200000**.

En el presente estudio se incluye fotografías de concentradoras de jugo de frutas de tamaño mediano (planta piloto). Se puede contar con el asesoramiento directo del especialista de la planta piloto de Cornell University (Herb Cooley) quienes el responsable de la manufactura de concentrados de jugos de manzana y otros frutales en Upstate New York.

Para la planta de concentración de jugos o pulpa de Camu-Camu se requiere tener un sistema de pasteurización moderna de tal modo que el proceso se realice en el tiempo óptimo y no se afecte las características del producto que está siendo procesado. Una pasteurizadora moderna que permite elevar la temperatura hasta 115°C en menos de 10 minutos. Una maquinaria de estas características cuesta en el mercado de USA aproximadamente \$50000.

## **VI RECURSOS HUMANOS**

El requerimiento de mano de obra para una planta típica de liofilización/concentración de jugos se puede estimar de la siguiente manera:

- 01 Jefe de Planta (Ing. Industrias Alimentarias)
- 01 Jefe de Control de Calidad (M.Sc. Biología)
- 04 Operadores

Es necesario que el Jefe de Planta (Plant Manager) sea entrenado en las técnicas de liofilización y concentración de jugos de frutas para garantizar la continuidad de funcionamiento de la planta en forma permanente.

## **VII REQUERIMIENTO DE MATERIA PRIMA Y OTROS**

La materia prima para el funcionamiento de la planta de procesamiento (liofilización) tiene que ser asegurada en cantidades suficientes para garantizar un ciclo de funcionamiento anual. Su obtención, de preferencia tiene que ser de áreas edafológicas similares con el fin de obtener batches de producción que no sean muy “heterogéneos”.

En la actualidad la materia prima –Sangre de Grado, Uña de Gato y Camu-Camu, se obtiene de áreas silvestres. Se necesita fomentar el cultivo de estos tres recursos para garantizar la cantidad, calidad y consistencia del producto manufacturado. Una de las desventajas de la industria nacional, por lo general, es que no puede atender a los pedidos de países desarrollados conforme ellos demandan por falta de consistencia en la producción.

Por ejemplo para el caso de la SdG, si se quiere producir unos 400 kg de SdG liofilizada se requiere tener en stock cada mes 2000 litros de latex. El precio en USA para la SdG liofilizada oscila entre \$200-250/kg.

En el caso de UdG, se tiene un rendimiento de 10% en producto liofilizado. Para producir 200 kg de UdG liofilizado se necesitaría 2000 kg de corteza micropulverizada. El precio de la UdG liofilizada en USA está aproximadamente en \$250-300/kg.

Para el Camu-Camu y por ser una fruta estacional se estima que en la region de Loreto se cosecha unas 1800 Tm de fruta fresca por campaña de 03 meses, lo cual representa aproximadamente unas 900 Tm de pulpa. El rendimiento de Camu-Camu liofilizado es de 6% y para tener una cantidad aceptable para exportación, se requiere procesar por lo menos unos 500 Tn de pulpa (lo cual significa 1000 Tn de frutas). De esta cantidad se obtendría un aproximado de 30 Tm de producto liofilizado (30000 kg) que podría ser

exportado. El precio del producto liofilizado en el mercado internacional no es bien conocido. Sin embargo, como referencia el precio del ácido ascórbico sintetizado a partir de la D-glucosa (caña de azúcar), cuesta alrededor de \$300/kg. La diferencia de ofertar una fuente de antioxidantes naturales a base de Camu-camu que contiene ácido ascórbico y polifenoles (catequinas) que le otorgan un valor biológico agregado.

## **VIII FUTURAS INVESTIGACIONES APLICADAS PARA BENEFICIAR LA BIOINDUSTRIA**

Con el fin de generar mayor información científica que favorezca la insertación de la SdG, UdG y Camu-Camu al mercado de los países desarrollados, es primordial promover la ejecución de investigaciones que potencien este objetivo. A continuación se presenta una lista de potenciales temas que aun necesitan ser estudiados.

### **Sangre de Grado (*Croton spp*)**

1. Caracterización de la Toxicología de la Sangre de Grado en animales de laboratorio.
2. Determinación índices o biomarcadores para establecer control de calidad de la Sangre de Grado
3. Caracterización del contenido de Taspina en *Croton* species
4. Identificación principios activos nuevos con propiedades anticancerígenas
5. Identificación de principios activos con propiedades antimicrobianas.
6. Influencia de la deshidratación de la Sangre de Grado en la actividad citotóxica de la Taspina
7. Influencia de la liofilización y deshidratación de la Sangre de Grado en la biodisponibilidad de sus principios activos.
8. Evaluación de la Sangre de Grado en su capacidad de disminuir el efecto carcinogénico del *Helicobacter pylori*.

### **Uña de Gato (*Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*)**

1. Caracterización de la concentración de principios activos en Uña de gato (*Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*) en función a la edad de la planta.
2. Determinación de la actividad antioxidativa, antiinflamatoria e inmunomoduladora de extractos de Hoja de Uña de Gato.
3. Desarrollar un índice o coeficiente de valor biológico/químico de productos preparados con Uña de Gato.

4. Actividad inmunomoduladora de la Uña de Gato: Comparativo con otras plantas medicinales que posean esta propiedad biomédica.
3. Determinar los mecanismos de protección de la Uña de Gato en condiciones de artritis reumatoidea.
4. Evaluación de la actividad protectora de la mucosa gástrica con formulaciones a base de Uña de gato y Sangre de Grado.
8. Desarrollar formulaciones farmacológicas que incluyan Uña de Gato y otras plantas medicinales: Aplicaciones en beneficio de la salud.

**Camu-Camu (*Myrciaria dubia*)**

1. Caracterización del valor nutricional de 28 ecotipos de Camu-Camu en función a su contenido de Antioxidantes: Acido ascórbico y polifenoles.
2. Determinación de la concentración de enzimas oxireductasas en pulpa de fruta de Camu-Camu.
3. Determinación de la actividad anticarcinogénica del Camu-Camu en cultivos celulares.
4. Evaluación de la estabilidad de los antioxidantes en pulpa de Camu-Camu durante el almacenamiento.
5. Influencia de la pasteurización en la actividad antioxidativa de la pulpa de Camu-Camu.
6. Determinación de la concentración de pectina en pulpa de Camu-Camu.

## IX PRECIO DE EQUIPOS DE LABORATORIO

A continuación se presenta un listado de equipo esencial a adquirirse para implementar el laboratorio de Control de calidad.

**Cuadro 1.** Equipos y Materiales para el Laboratorio de Control de Calidad

Item	Cantidad	Descripción	US\$
1	01	Spectrophotometer UV/VIS	6500
2	01	Analytical balance (500 g)	1000
3	01	pH meter	530
4	01	Refractometer (0 -30% Brix)	150
5	01	Refractometer (28 -62% Brix)	135
6	01	Refractometer (45 -82% Brix)	135
7	05	Termómetros (-20oC - 300oC)	200
8	02	Cuvas de Cuarzo (UV)	250
9	06	Cajas de cuvetas de polystyrene	300
10	01	Esterilizador no electrico	600
11	01	Stirrer (agitador Corning)	900
12	01	Hot plate Stirrer (calentador/agitador)	600
13	02	Timers (04 canales)	70
14	01	Micropipetter 0.5 -10 µL	350
15	01	Micropipetter 2 - 20 µL	350
16	01	Micropipetter 10 - 100 µL	350
17	01	Micropipetter 20 - 200 µL	350
18	01	Micropipetter 100 - 1000 µL	350
19	01	Micropipetter 500 - 5000 µL	350
20	04	Pipette fillers	80
21	01	Pipette aid electric	350
22	01	Multichannel, Costar (20 - 200 µL)	720
23	01	Incubator	1100
24	01	Horno de Convección	600
25	01	Contador de colonias	900
26	08	Pipette tips (1 - 1000 µL)	200
27	01	Petri dish (60 x 15)	400
28	01	Pteri dish (100 x 10)	400
29	01	Culture medium	800
30	02	Caja de microplates (96 wells)	120
31	01	Rotary evaporator	5000
32	01	Centrífuga refrigerada (IEC)	6500
Total \$			<b>30640</b>

## **X COMPRADORES DE INSUMOS**

En el mercado Norteamericano existen mas de 100 compradores de concentrados de frutas y de productos naturales liofilizados para la industria de bebidas y nutracéuticos. La industria de bebidas "funcionales", es una industria que viene expandiéndose rápidamente en USA y Canadá. Para tener una noción de la demanda por Camu-camu; se ha efectuado una serie de llamadas telefónicas a empresas que fabrican bebidas no-alcohólicas (e.g. Arizona Beverages) que utilizan productos naturales tales como el Té verde, Ginseng, Echinacea, Kava Kava, etc. se ha podido notar el interés por incorporar nuevas frutas exóticas que posean actividad antioxidante, este es el caso para el Camu-camu. Sin embargo, la observación o inquietud principal por parte de las empresas dueñas de las formulaciones radica en conocer cuanto de información científica se tiene publicado en la literatura técnica "main stream journals". Para superar este requerimiento, el Consultor está preparando una revisión científica sobre Camu-camu, incorporando esencialmente lo que se conoce sobre su valor biológico (biomédico) y cual sería el beneficio de consumir esta fruta.

La posibilidad concreta de incorporar el Camu-camu, en el corto plazo, en la fabricación de bebidas se estima en un año. Por lo tanto, en los siguientes meses se debe de "afinar" una estrategia de hacer conocer esta fruta de la Amazonía (Rainforest) en eventos científicos y de exposición en países desarrollados como USA donde el negocio de bebidas representa muchos billones de dólares.

Para iniciar un historial de exportación de Camu-camu se puede empezar con productos liofilizados o concentrados de pulpa o jugos. A pesar que actualmente se importa Camu-camu, en pequeñas cantidades (atomizado) para la industria de nutracéuticos o suplementos dietéticos, aun no se ha logrado hacer conocer notoriamente esta fruta.

A continuación se lista compradores de insumos orgánicos e ingredientes para la industria de bebidas y nutracéuticos:

Rasancó Organic Ingredients [www.rasanco.com](http://www.rasanco.com)

Rexall Sundown [www.rexallsundown.com](http://www.rexallsundown.com)

General Nutrition Companies Inc.(GNC) [www.gnc.com](http://www.gnc.com)

Arizona Drinks [www.arizonabev.com](http://www.arizonabev.com) 1 - 800 - 832-3775

Beverage Marketing <http://www.beveragemarketing.com/home.htm>. Esta compañía posee una lista de 2100 fabricantes de bebidas.

Como un nuevo nicho de mercado para productos naturales se puede mencionar el Veterinario. Este segmento del mercado está creciendo cada vez mas y los gastos para alimentar mascotas (pets) en USA representa un negocio de varios billones de dólares. Cada día se observa mas en la TV los comerciales enfatizando la inclusion de antioxidantes naturales y plantas medicinales. Por ejemplo, existe mucho interés en incluir UdG en dietas para caballos con el fin de aliviar el estado de stress oxidativo al que son sometidos continuamente.

## **XI VOLUMENES DE EXPORTACION**

La demanda por productos naturales liofilizados (UdG, SdG y Camu-camu) es dependiente del arreglo comercial que se pueda establecer con algun importador o fabricante de suplementos dietéticos. Por ejemplo, la cantidad mínima de cajas de cápsulas de UdG conteniendo cada uno 30 pastillas o cápsulas que normalmente se procesa en un batch es de 100,000 por mes. Esto representa 3,000,000 pastillas de 0.1 g c/u, lo cual hace un requerimiento de un mínimo de 300 kg de UdG liofilizado. Si el precio de exportación FOB es de un promedio de \$250, representaría un valor de venta de \$75,000 por mes. Lo que hace la industria de nutracéuticos y de bebidas en USA es el de registrar una marca (Trade Mark) y su procesamiento lo hacen a traves de plantas que brindan servicios de envasado conforme el cliente lo solicite.

Para el caso de SdG, las posibilidades de exportación ya están establecidas y existe excelentes oportunidades de insertarse al mercado de USA puesto que la única compañía que vende una formulación a base de SdG es Shaman Botanicals (**Normal Stool Formula**<sup>TM</sup>). Esta ventaja de la SdG radica en las publicaciones científicas en las cuales se demuestra que la SdG es eficaz

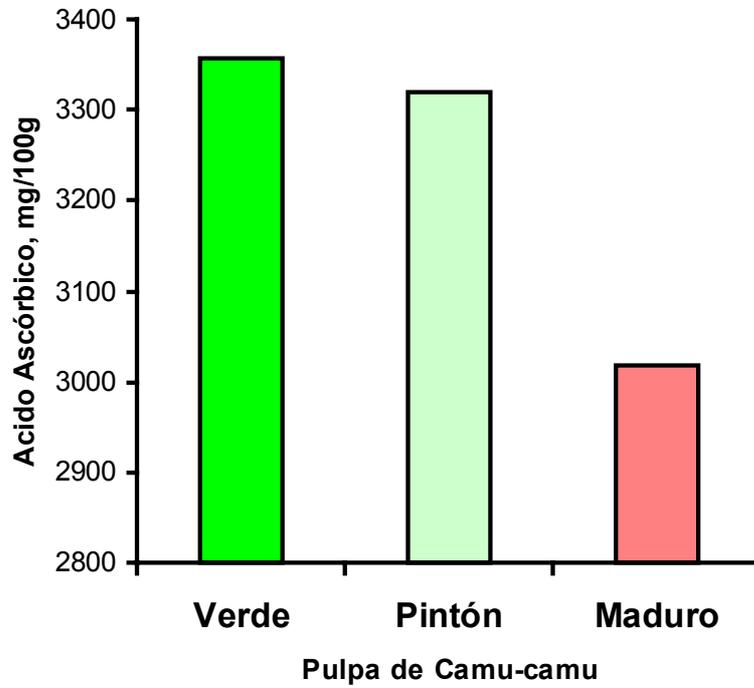
para aliviar la diarrea. Para que esta inserción al mercado ocurra será necesario que ofertemos SdG liofilizado a granel a empresas competidoras de Shaman y a precios mas competitivos que lo que se paga en estos momentos en el mercado (aproximadamente \$70 por caja de 120 pastillas). Se estima que la demanda mensual de SdG liofilizado para esta aplicación (diarrea) es de unos 200 kg por mes, solamente para una empresa en USA. Si consideramos, la posibilidad de negociar la manufactura de pastillas a base de SdG para disminuir la severidad de la diarrea y orientado para países pobres, donde el SIDA está en aumento, la oportunidad de negocios es mucho mayor.

## **XII MARCO LOGICO**

El proceso del marco lógico para cada uno de las especies motivo del presente estudio (Uña de Gato, Sangre de Grado y Camu-camu) han sido desarrollados en Iquitos con el aporte de los profesionales, empresarios y personas afines a esta actividad productiva de transformar productos naturales.

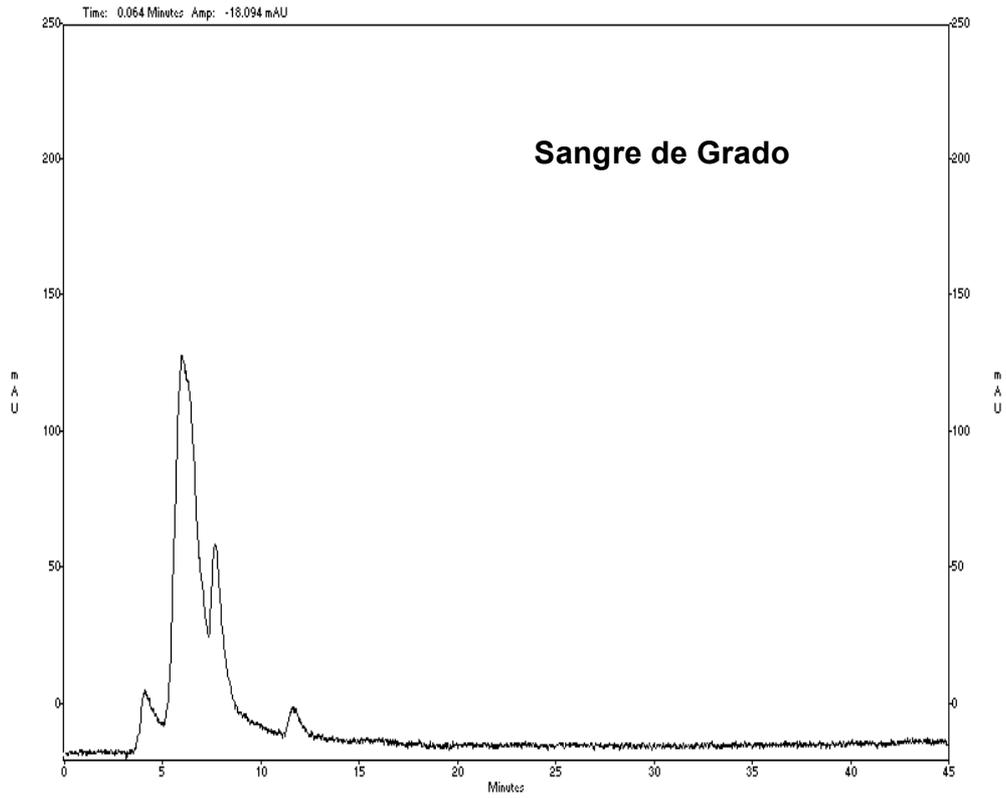
Como recomendación general a incluirse en el marco lógico el Consultor presenta tres propuestas de control de calidad que asegurarán la comercialización de Camu-camu, SdG y UdG. Es crucial el aspecto de control de calidad y se debe de incluir como una de las actividades ineludibles. Por ejemplo, en lo que respecta a Camu-camu se tiene que contemplar la cuantificación de ácido ascórbico mediante espectrofotometría y confirmado por HPLC (adjunto método de análisis espectrofotométrico). En un batch experimental de pulpa de Camu-camu preparada por el Consultor, luego congelado y transportado a mi laboratorio en USA (Laboratorio de Fitonutrientes en Albany Medical College) hemos cuantificado la concentración de ácido ascórbico en tres estados de la fruta (verde, pintón y maduro). Los resultados se presentan en la siguiente figura y se puede utilizar como referencia para generar el control de calidad de la materia a exportar.

**Figura 1.** Contenido de Acido ascórbico en pulpa fresca de Camu-camu (*Myrciaria dubia*).

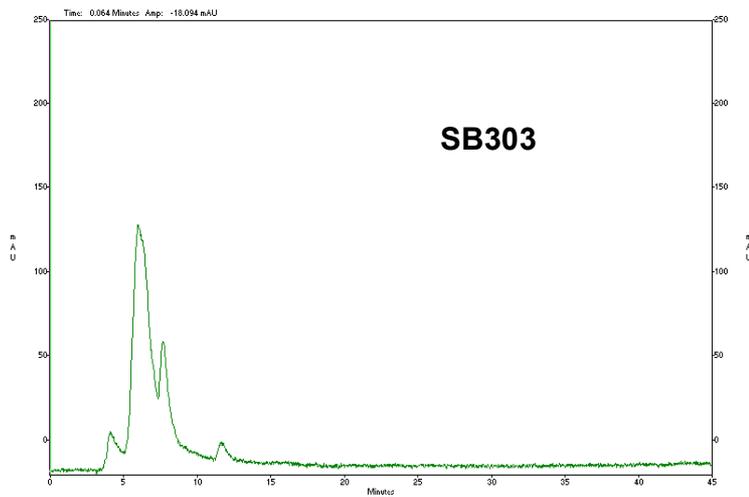


Para el caso de la sangre de Grado el control de calidad debe hacerse en función a su perfil cromatográfico (ver Figura). Esta forma de demostrar la calidad de SdG como indicador verificable para aspectos del marco lógico, garantizará su exportación.

**Figura 3.** Perfil cromatográfico de la Sangre de Grado como indicador de control de calidad.

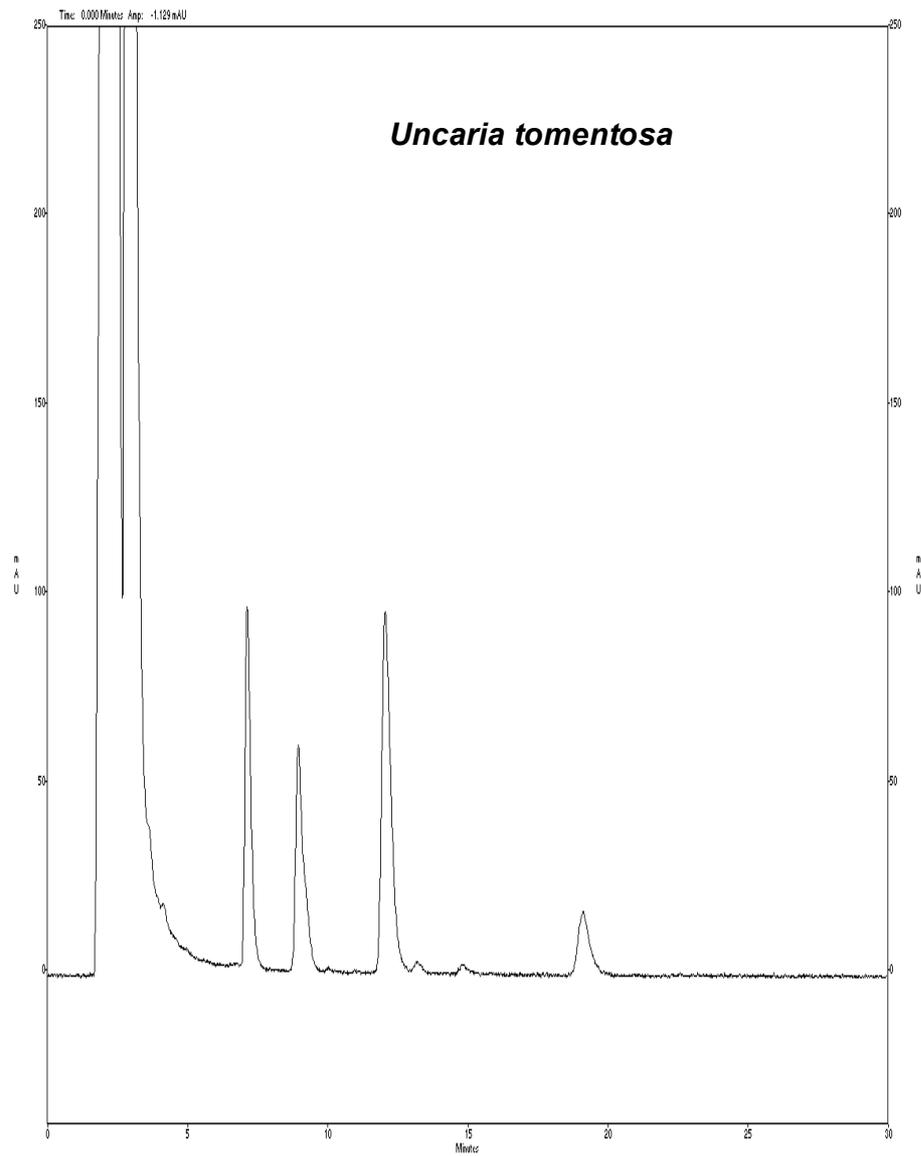


**Figura 2.** Perfil cromatográfico de SB303 (Shaman Botanicals) NSF™ formulación a base de Sangre de Grado



Para el caso de la Uña de Gato (UdG) se presenta un perfil cromatográfico como modelo de control de calidad a implementarse dentro de los verificadores del marco lógico.

**Figura 1.** Cromatograma de la Uña de gato (*Uncaria tomentosa*) como indicador de control de calidad.



### XIII BIBLIOGRAFIA

1. Bettolo, R.M., Scarpati, M.L., 1979. Alkaloids of *Croton draconoids*. *Phytochemistry* 18: 320.
2. Cai, Y., Evans, F.J., Roberts, M.F., Phillipson, J.D., Zenk, M.H., Gleba, Y.Y., 1991. Polyphenolic compounds from *Croton lechleri*. *Phytochemistry* 30: 2033-2040.
3. Cai, Y., Chen, Z.P., Phillipson, J.D., 1993. Diterpenes from *Croton lechleri*. *Phytochemistry* 32: 755-760.
4. Cai, Y., Chen, Z.P., Phillipson, J.D., 1993. Clerodane diterpenoids from *Croton lechleri*. *Phytochemistry* 34: 265-268.
5. Chang, Y-F., Li, L.L., Wu, C-W., Liu, T-Y., Lui, W-Y., P'eng, F-K., Chi C-W., 1996., Paclitaxel-induced apoptosis in human gastric carcinoma cell lines. *Cancer* 77: 14-18.
6. Chen, Z.P., Cai, Y., Phillipson, J.D., 1994. Studies on the Anti-Tumor, Anti-Bacterial, and Wound-Healing Properties of Dragon's Blood. *Planta Med* 60: 541-545.
7. Desmarchelier, C., Schauss, F.W., Coussio, J., Cicca, G., 1997. Effects of sangre de drago from *Croton lechleri* Muell.-Arg. On the production of active oxygen radicals. *J Ethnopharmacol* 58: 103-108.
8. Duke, J., Vasquez, R., 1994. Amazonian Ethnobotanical Dictionary. Boca Raton, FL: CRC.
9. Gabriel, S.E., Davenport, S.E., Steagall, R.J., Viaml, V., Carlson, T., Rozhon, R.J., 1999. A plant-derived inhibitor of cAMP-mediated fluid and chloride secretion. *Am J Gastrointest Liver Physiol* 276: G58-G63.
10. Holodniy, M., Koch, J., Mistal, M., Schmidt, J.M., Khandwala, A., Pennington, J.E., Porter, S.B., 1999. A double blind, randomized, placebo-controlled phase II study to assess the safety and efficacy of orally administered SP-303 for the symptomatic treatment of diarrhea in patients with AIDS. *Am J Gastroenterol* 94: 3267-3273.
11. Huang, Y., Johnson, K.R., Norris, J.S., Fan, W., 2000. Nuclear factor- $\kappa$ B/I $\kappa$ B signaling pathway may contribute to the mediation of paclitaxel-induced apoptosis in solid tumor cells. *Cancer Res* 60: 4426-4432.
12. Iancu, C., Mistry, S.J., Arkin, S., Atweh, G.F., 2000. Taxol and anti-stathmin therapy: A synergistic combination that targets the mitotic spindle. *Cancer Research* 60: 3537-3541.
13. Itokawa, H., Ichihara, Y., Mochizuka, M., Enomori, T., Morita, H., Shiota, O., Inamatsu, M., Tayeka, K., 1991. A cytotoxic substance from Sangre de Grado. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 39: 1041-1042.
14. Kupchan, S.M., Uchida, I., Branfman, A.R., Dailey, Jr. R.G., Fei, B.Y., 1976. Antileukemic principles isolated from Euphorbiaceae plants. *Science* 91: 571-572.
15. Miller, M.J.S., MacNaughton, W.K., Zhang, X-J., Thompson, J.H., Charbonnet, R.M., Bobrowski, P., Lao, J., Trentacosti, A.M., Sandoval, M., 2000. Treatment of gastric ulcers and diarrhea with the Amazonian herbal medicine sangre de grado. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 279: G192 -G200.

16. Perdue, G.P., Blomster, R.N., Blake, D.A., Farnsworth, N.R., 1979. South American Plants: Taspine Isolation and anti-inflammatory Activity. *J Pharm Sci* 68: 124-125.
17. Phillipson, J.D., 1995. A matter of sensitivity. *Phytochemistry* 38: 1319-1343.
18. Pieters, L., De Bruyne, T., Claeys, M., Vlietinck, A., Calomme, M., Vanden Berghe, D., 1993. Isolation of dihydrobenzofuran lignan from South American Dragon's blood (*Croton spp.*) as an inhibitor of cell proliferation. *J Nat Prod* 56: 899-906.
19. Porras-Reyes, R.H., Lewis, W.H., Roman, J., Simchowitz, L., Mustoe, T.A., 1993. Enhancement of wound healing by the alkaloid Taspine defining mechanism of action. *Proc Soc Exp Biol Med* 203: 18-25.
20. Sandoval, M., Ronzio, R.A., Muanza, D.N., Clark, D.A., Miller, M.J.S., 1997. Peroxynitrite-induced apoptosis in epithelial (T84) and macrophage (RAW 264.7) cell lines: Effect of legume-derived polyphenols (Phytolens). *Nitric oxide: Biology and Chemistry* 6: 476-483.
21. Sandoval, M., Liu, X., Mannick, E.E., Clark, D.A., Miller, M.J.S., 1997. Peroxynitrite-induced apoptosis in human intestinal epithelial cells is attenuated by mesalamine. *Gastroenterology* 113: 1480-1488.
22. Schiff, P.B., Horwitz, S.B., 1980. Taxol stabilizes microtubules in mouse fibroblast cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 1561-1565.
23. Stoner, G.D., Mukhtar, H., 1995. Polyphenols as cancer chemopreventive agents. *J Cell Biochem* 22: 169-180.
24. Ubillas, R., 1994. SP-303, an antiviral oligomeric proanthocyanidin from the latex of *Croton lechleri* (Sangre de Drago). *Phytomedicine* 1: 77-106.
25. Vaisberg, A.J., Milla, M., Planas, M.C., Cordova, J.L., Rosas de Agusti, E., Ferreyra, R., Mustiga, M.C., Carlin, L., Hammond, G.B., 1989. Taspine is the cicatrizant principle in Sangre de Grado Extracted from *Croton lechleri*. *Planta Med* 55: 140-143.
26. Sandoval, M., Okuhama, N.N., Clark, M., Angeles, F.M., Lao, J., Bustamante, S., Miller, M.J.S., 2002. Sangre de grado *Croton palanostigma* induces apoptosis in human gastrointestinal cancer cells. *J. Ethnopharmacology* (In press).
27. Sandoval, M., Charbonnet, R.M., Okuhama, N.N., Roberts, J., Krenova, Z., Trentacosti, A.M., Miller, M.J.S., 2000. Cat's claw inhibits TNF $\alpha$  production and scavenges free radicals: Role in cytoprotection. *Free Rad Biol Med* 29: 71-78.
28. Sandoval, M., Okuhama, N.N. Zhang, X-J., Condezo, L.A., Lao, J., Angeles, F.M., Musah, R.A., Bobrowski, P., Miller, M.J.S., 2002. Antiinflammatory and antioxidant activities of cat's claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. *Phytomedicine* (In press).
29. Miller, M.J.S., Vergnolle, N., McKnight, W., Musah, R.A., Davison, C.A., Trentacosti, A.M., Thompson, J.H., Sandoval, M., Wallace, J.L. 2001. Inhibition of neurogenic inflammation by the Amazonian herbal medicine Sangre de Grado. *J. Invest Dermatol* 117: 725-730.