

# Estudio farmacognóstico, antioxidante y citotóxico de *Sinningia warmingii* "papa madre"

Retuerto-Figueroa MG<sup>\*1ab</sup>, Ramos-Llica E<sup>1ac</sup>, Gorriti-Gutiérrez AR<sup>1ad</sup>, Gallardo-Jugo T<sup>1ac</sup>, Ortega-Romero E<sup>1ae</sup>, Calixto-Cotos M<sup>2ae</sup>, Cosquillo-Rafael M<sup>1ag</sup>, Fuertes-Ruitón C<sup>3ad</sup>, Quispe-Jacobo F<sup>1g</sup>, Villafuerte-Montes U<sup>4h</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación de Farmacognosia y Medicina Tradicional "GRUPO FARMA", Universidad Nacional San Marcos (UNMSM). Lima, Perú.

<sup>2</sup> Grupo de Investigación de Alimentos Nativos, Recursos Nativos y Metabolismo oxidativo. Universidad Nacional San Marcos (UNMSM). Lima, Perú.

<sup>3</sup> Grupo de Investigación de Natural Resources Research (Nature)

<sup>4</sup> Grupo de Investigación de Caracterización Integral y Procesos Tecnológicos de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos. CIPTICAL

<sup>a</sup> Químico Farmacéutico b Magister en Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible

<sup>c</sup> Bachiller en Farmacia y Bioquímica d Doctor en Farmacia y Bioquímica

<sup>e</sup> Magister en Productos Naturales y Biocomercio f Magister en Bioquímica

<sup>g</sup> Licenciado en Química h Ingeniero de Alimentos

**Resumen:** Los estudios farmacognósticos, antioxidantes y citotóxicos de plantas medicinales nativas de un país son la base para el desarrollo e innovación de productos herbarios con actividad biológica. *Sinningia warmingii*, planta herbácea peruana con raíces tuberosas se evaluó según sus características farmacognósticas, antioxidantes y citotóxicas. Los resultados muestran compuestos fenólicos, flavonoides y taninos como componentes mayoritarios, y trazas de alcaloides. La actividad antioxidante del extracto etanólico según DPPH mostró capacidades antioxidantes de 85,75 y 90,25% en las concentraciones de 16 y 20 µg/mL, respectivamente. La evaluación de citotoxicidad sobre *Artemia salina* del extracto etanólico de *S. warmingii*, mostró una Concentración Letal media (CL50) de 591,40 µg/mL con una confiabilidad del 95%. Se concluye que el extracto etanólico de la raíz de *S. warmingii* presenta compuestos fenólicos con una significativa capacidad antioxidante, que es moderadamente tóxica de acuerdo con el CYTED.

**Palabras clave:** *Sinningia warmingii*; *Artemia salina*; análisis farmacognóstico; actividad antioxidante; citotoxicidad.

**Abstract:** *Pharmacognostic, antioxidant and cytotoxic study of Sinningia warmingii* "papa madre"

The pharmacognostic, antioxidant and cytotoxic study of medicinal native plants in a country is the base to develop and innovate herbal products with biological activity. In the present study, *Sinningia warmingii* has been studied according to pharmacognostic characteristics, antioxidant capacity by DPPH and cytotoxic properties on *Artemia salina*. The results have shown phenolic compounds, flavonoids, and tannins as majority components of ethanolic extract from *S. warmingii* roots. The antioxidant capacity of ethanolic extract evaluated by DPPH has shown 85.75 and 90.25% of antioxidant capacity in the concentrations of 16 and 20 µg/ml, respectively. The cytotoxic evaluation on *A. salina* from *S. warmingii* ethanolic extract has shown median lethal concentration (LC50) of 591.40 µg/ml. In conclusion, the ethanolic extract from *S. warmingii* roots have shown phenolic compounds with significant antioxidant capacity and moderately toxic according to CYTED.

**Keywords:** *Sinningia warmingii*; *Artemia salina*; pharmacognostic; Antioxidant activity; cytotoxic.

## Introducción

La *Sinningia warmingii* (*Gesneriaceae*) denominada comúnmente "papa madre" con sinónimo científico *Reschsreineria peruviana* (Solomon 2012). Es una planta herbácea con raíces tuberosas, de tronco corto, hojas aterciopeladas verde oscuro, ovales, bordes crenulados, pecioladas y carnosas; flores provistas de amplia corola tubular, con cinco lóbulos púrpura-violáceo. *Gesneriaceae* es una familia de arbustos terrestres y epífitos que comprende entre 150 a 160 géneros y alrededor de 3 200 especies distribuidas en trópicos y

subtrópicos del viejo y nuevo mundo (Kvist et al., 2005; Weber and Skog, 2007). *Sinningia* es un género neotropical y comprende 68 especies de hierbas (Chautems, 1990; Wang et al., 1990; Chautems et al., 2010). *Sinningia warmingii* (Hiern.) es una hierba con tubérculos perennes y brotes anuales, se distribuye ampliamente en Brasil, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia, Paraguay y Argentina (Kvist et al., 2005; Perret et al., 2006; Perret et al., 2007; Verdan et al., 2014). En el Perú, se encuentran 28 géneros y 150 especies de *Gesneraceae*, que son abundantes en los bosques húmedos (500-1000 msnm). En los departamentos de Lima, La Libertad y Lambayeque sólo se registra *Sinningia warmingii* (Diaz et al., 2012). Son numerosos los híbridos. *Sinningia warmingii* se encuentra en los departamentos de Cajamarca y Huancavelica, entre 2000 – 2500 m.s.n.m. (Mostacero et al., 2009). *Sinningia warmingii* (Hiern) Chautems está considerada en el catálogo de la flora de Contumazá-Cajamarca. En la provincia de Utcubamba, en el nororiente peruano, los pobladores de "Quebrada Seca Alta", conocen las propiedades de "papa madre", nombre popular con el que se describen a *S. warmingii* (Soukup, 1995; Sagástegui, 1995; Mostacero et al., 2009; Santa Cruz et al., 2019). Utilizada en el nororiente peruano para el alivio de ciertas dolencias de las mujeres, tratamientos de inflamaciones post-parto y flujos vaginales (Mostacero et al., 2009; Vicuña Z., 2011) se utiliza como infusión de sus tubérculos para el tratamiento de problemas ginecológicos, como inflamaciones puerperales y también se emplean en el tratamiento de vaginosis microbiana "descensos vaginales" (Diaz et al., 2012; Winiewski et al., 2017). En 98% de mujeres con vaginosis y hasta en un 50% en mujeres sanas, se ha clasificado a *Gardnerella vaginalis* como una sola especie, estableciéndose como agente causal de la vaginosis (Klouman et al., 2005).

Muchas de las propiedades preventivas o curativas, para hacer frente a enfermedades agudas y crónicas, se restringen a la naturaleza química de los fitoquímicos presentes en las especies vegetales y en particular a los compuestos polifenólicos, fitoquímicos (Mercado et al., 2013).

Las plantas presentan principios activos con notable actividad fisiológica en el ser humano, siendo un importante aliado para la prevención y tratamiento de ciertas patologías. No obstante, pueden ocasionar reacciones tóxicas a quienes las utilizan; por esta razón, se realizan investigaciones para determinar la presencia de metabolitos secundarios con bioactividad y toxicidad de las plantas medicinales (Cruz et al, 2013).

Los beneficios potenciales de los antioxidantes están principalmente asociados a los efectos supresores sobre los radicales libres (Vallejo et al., 2017; Zheng and Anggreani, 2017). La capacidad antioxidante evaluada *in vitro* puede usarse como un indicador indirecto de la actividad *in vivo*. La determinación de la capacidad antioxidante de extractos, se realizó mediante el ensayo DPPH (Arnao et al., 2011). La capacidad antioxidante está relacionada con los diferentes tipos de solventes de extracción de sus constituyentes químicos bioactivos, que proporcionan respuestas diferentes. Además, el tiempo de

\*e-mail: monica.reuerto@unmsm.edu.pe

almacenamiento parece interferir en la estabilidad de estas sustancias (Santos and Goncalves; 2016).

La *Artemia salina* (Crustacea: Artemiidae) "camarón salino" o "camarón de salmuera" es un crustáceo utilizado para evaluar compuestos con actividad biológica y con estructuras químicas variadas (Naidu et al., 2014; Iannacone et al., 2016). El microcrustáceo se emplea como alimento vivo para peces y crustáceos marinos en cultivo por su alto valor nutricional (Ramírez et al., 2010; Nishimori et al., 2016), considerada una herramienta inicial para evaluar la toxicidad de toxinas fúngicas, extractos de plantas, metales pesados (Iannacone et al., 2016).

El objetivo del presente estudio fue determinar la caracterización farmacognóstica, antioxidante y citotóxica de *Sinningia warmingii*.

El conocimiento de los constituyentes químicos, la capacidad antioxidante y citotóxica de *Sinningia warmingii*, permitirá determinar la concentración óptima para estudios posteriores que tengan como objetivo aislar el o los constituyentes químicos para elaborar formulaciones farmacéuticas y evaluación de posibles efectos secundarios adversos.

## Materiales y métodos

**Muestra:** 10 kg de raíces tuberosas de *Sinningia warmingii* se colectaron al azar en la etapa de floración en la provincia de Utcubamba-Amazonas, situada a 400 m.s.n.m. La identificación taxonómica de la especie vegetal se realizó con un ejemplar completo en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

**Reactivos:** etanol absoluto QP, metanol QP, agua bidestilada, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), trolox (6-hidroxi-2, 5, 7, 8 tetrametilcromo-2 ácido carboxílico 97%) (Sigma-Aldrich USA), vitamina C (Sigma-Aldrich, USA) y reactivos necesarios para el tamizaje fitoquímico.

**Equipos:** espectrofotómetro UV-visible (Merck), balanza analítica de capacidad de 1 mg - 200 g (Ohaus Pioneer), Estufa (Memmert).

### Preparación del extracto

La raíz de la muestra se procedió a limpiar, secar y licuar con etanol; se llevó a maceración por 7 días y posteriormente se desecó en estufa de aire circulante a una temperatura de 40°C por 2 días.

### Tamizaje fitoquímico y cromatografía en capa fina

Con el uso de reactivos de coloración y precipitación se determinó los constituyentes químicos del extracto etanólico (Lock De Ugaz, 2016).

### Capacidad antioxidante

El método del reactivo 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) desarrollado por Brand-Williams et al. (1995) se utilizó para evaluar la capacidad antioxidante. El método ofrece una detección rápida de la capacidad de eliminación de radicales de compuestos específicos (Gülcin I., 2012). El radical DPPH tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción con sustancias antioxidantes, el cambio se mide en el espectrofotómetro UV-Vis (GENESYSTEM 10S UV-Vis, ThermoFisher Scientific) a la longitud de onda de 517 nm (Ramos et al., 2008; Arnao et al., 2011;) y los resultados se expresan como concentración inhibitoria al 50% de su capacidad (IC<sub>50</sub>).

### Determinación de la actividad citotóxica.

Ensayo biológico de letalidad de *Artemia salina* (Martínez-Hormaza et al., 2006; Haule et al., 2012; Abdul et al., 2016; Rahman et al., 2016;) "camarón de salmuera" fue realizado para ver el efecto citotóxico del extracto de la raíz de *Sinningia warmingii* sobre nauplios de camarones en salmuera. Los huevos de salmuera de

camarones de *Artemia salina* fueron donados por IMARPE (Instituto del Mar del Perú). Se procedió a preparar las condiciones para la eclosión de los huevos (Fig. 1), Los huevos de *Artemia salina* se incubaron durante 24 horas a temperatura ambiente (25–30 ° C) en agua salina preparada con sal marina, para la eclosión de los nauplios, y ser trasladados a los viales. Para la prueba de control cada vial contenía 10 mL de agua de mar y 10 nauplios vivos. Cada experimento se realizó en tres réplicas. Las gambas supervivientes fueron contadas después de 24 horas (figura 2).

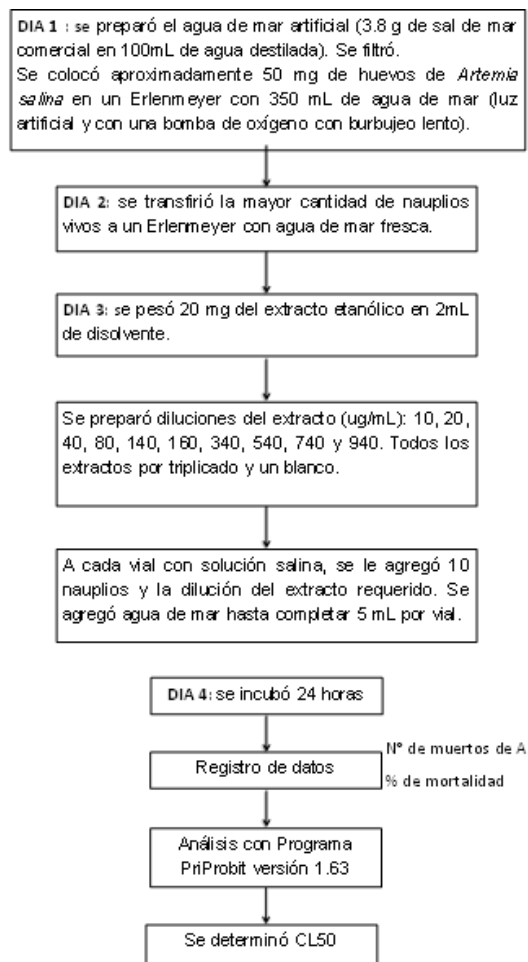


Figura 2: Método de *Artemia salina*

## Tratamiento de datos

La capacidad antioxidante fue determinada por el método de regresión utilizando el programa de Excel ver. 2016.

Los datos obtenidos de la actividad citotóxica fueron procesados usando un programa estadístico PriProbit, versión 1.63. Se determinó el porcentaje de mortalidad y la citotoxicidad del extracto.

## Resultados

### Estudio farmacognóstico

El estudio cualitativo determinó compuestos fenólicos: heterósidos flavónicos y taninos, constituyentes mayoritarios y trazas de alcaloides (tabla 1).

### Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante es dependiente de la concentración del extracto, se determinó una elevada capacidad captadora de radicales libres a concentraciones de 16 y 20 µg/mL, fue de 85,75 y 90,25% respectivamente; presentando una Concentración inhibitoria media (IC<sub>50</sub>) de 10,39 µg/mL. (tabla 2, figura 1).

**Tabla 1.** Screening farmacognóstico de raíz *Sinningia warmingii* "papa madre"

N°	Reactivo	Extracto etanólico	Constituyentes químicos
1	Molish	+	carbohidratos
2	Felhing	+	Azúcares reductores
3	Trommer	+	Azúcares reductores
4	FeCl <sub>3</sub>	+	Compuestos fenólicos
5	Gelatina	+	Taninos
6	Agua de bromo	+	Taninos catéquicos
7	Shinoda	+	Flavonoides
8	Borntrager	-	Compuestos antraquinónicos
9	Lieberman-Burchardat	-	Compuestos triterpenoides
10	Ninhidrina	-	Compuestos amino
11	Dragendorff	+	Alcaloides
12	Mayer	-	Alcaloides
13	Bertrand	-	Alcaloides
14	Sonnenschein	+	Alcaloides
15	Popoff	+	Alcaloides
16	Prueba de espuma	-	Saponinas

+: presencia; -: ausencia

**Tabla 2.** IC<sub>50</sub> (µg/mL). Concentración inhibitoria media necesario para reducir al 50% la concentración inicial del radical DPPH por el extracto etanólico de raíz *Sinningia warmingii* "papa madre"

Concentración µg/mL	Tubo 1 Abs.	Tubo 2 Abs.	Tubo 3 Abs.	PROMEDIO Abs.	Cap. Antiox %	IC 50 (µg/mL)
20	0.049	0.048	0.044	0.047	90.25	
16	0.063	0.065	0.078	0.069	85.75	
12	0.198	0.199	0.199	0.199	58.82	10.39 ± 0,003
8	0.306	0.298	0.299	0.301	37.55	
4	0.390	0.392	0.385	0.389	19.29	

Valores (DS ± medio, n=3)

**Actividad citotóxica y determinación de Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>).**

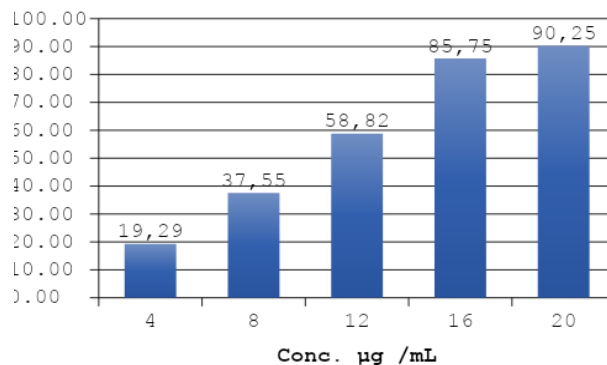
El extracto etanólico de la raíz de *Sinningia warmingii* mostró letalidad moderada. La tasa de mortalidad del camarón de salmuera se incrementó de acuerdo con el aumento de la concentración de la raíz (tabla 4).

La letalidad se calculó a partir de la supervivencia media de nauplios en viales tratados con extracto y solución control. En la evaluación de la citotoxicidad en *Artemia salina* del extracto etanólico de *Sinningia warmingii*, se determinó con la Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>), 591,40 µg/mL (450,25 µg/mL y 830,59 µg/mL) con una confiabilidad al 95%.

**Discusión**

El estudio farmacognóstico del extracto de la raíz *Sinningia warmingii* determinó presencia de azúcares, compuestos fenólicos en alta cantidad y alcaloides en menor proporción, mientras en los estudios de tubérculos de *Sinningia warmingii* de Brasil (Verdan et al., 2014) difiere de los constituyentes químicos encontrados en la fracción de hexano del extracto etanólico: ocho compuestos identificados como 7-hidroxi-α-dunniona, lapachenol, tectoquinona, 7-metoxitectoquinona, 1-hidroxitectoquinona, 7-hidroxitectoquinona, agregatina C, agregatina D, halleridone, y cedrol. Asimismo, aislaron una mezcla de esteroides, sitosterol y

**% Captación de radicales libres de *Sinningia warmingii***



**Figura 1:** Capacidad antioxidante del extracto etanólico de raíz de *Sinningia warmingii* "papa madre"

**Tabla 4.** Citotoxicidad. Efecto del extracto de raíz de *Sinningia warmingii* "papa madre" sobre nauplios de *Artemia salina*

Concentración (µg/mL)	Log (C)	% mortalidad	CL <sub>50</sub> (µg/mL)
10	1	0	
20	1.3	0	
40	1.6	0	
80	1.9	0	591,40
140	2.1	0	
160	2.2	0	(450,25 - 830,59)
340	2.5	30	
540	2.7	50	
740	2.9	60	
940	3	70	

estigmasterol. Las diferencias podrían deberse a las diferencias edafológicas y al fraccionamiento realizado en hexano.

Los resultados de investigaciones de Verdan et al., 2013; son similares a los obtenidos en nuestra investigación con respecto a los compuestos fenólicos, pero hay que tener en cuenta que los estudios farmacognósticos se realizaron sobre una especie diferente de *Sinningia Leucotricha* encontrando flavonoides, esteroides, fenilpropanoides, quinonas, cromenos, etilciclohexanos y aceites esenciales.

Se determinó una elevada capacidad captadora de radicales libres a concentraciones de 16 y 20 µg/mL, su capacidad antioxidante fue de 85,75 y 90,25% respectivamente. Con nuestros resultados podemos inferir que la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos podrían brindar efecto antiinflamatorio; siendo ensayos preliminares, recomendamos más estudios que permitan validar el uso tradicional de esta especie.

El método de *Artemia salina* para evaluar la toxicidad del extracto nos proporciona información inicial y preliminar de toxicidad y es un indicador de bioactividad, antes de probar un compuesto en líneas celulares (Pino et al., 2010). Los extractos acuosos presentan un riesgo de toxicidad cuando muestran valores CL<sub>50</sub> ≤ 1 mg / mL. (Gastaldi et al., 201). Asimismo, teniendo en cuenta la clasificación de toxicidad, todas coinciden en agrupar las sustancias con CL<sub>50</sub> inferiores a 100 µg/mL en las categorías de mayor toxicidad, mientras, los que muestran valores superiores a 1 000 µg/mL se clasifican como no tóxicos (Martinez et al., 2006; Hernandez et al., 2017). Este método tiene las ventajas de ser rápido, bajo costo,



sencillo, reproducible y aceptado por la comunidad científica para evaluar la citotoxicidad de especies vegetales (Pérez et al., 2010). Se pueden utilizar fácilmente un gran número de organismos para la validación estadística, no necesita equipamiento especial y se emplean pequeñas cantidades de muestras. Asimismo, los defensores de los derechos de los animales no han objetado el uso de estos invertebrados para el trabajo experimental (Jacques et al., 2004).

Martínez-Hormaza et al. trabajaron con muestras de hojas de *Erythroxylum confusum* Britt, donde el valor promedio de la CL<sub>50</sub> fue por debajo de 640 µg/mL, por lo que consideraron a todas las muestras como no tóxicas. En nuestro estudio los valores son similares por lo que se considera a la *Sinningia warmingii* como no tóxica y de acuerdo al CYTED (tabla 3), como ligeramente tóxica, lo que valida su bioactividad.

**Tabla 3.** Clasificación de toxicidad según CYTED

Toxicidad	µg/mL	
1	Extremadamente tóxico	0-10
2	Altamente tóxico	10-100
3	Moderadamente tóxico	100-500
4	Ligeramente tóxico	500-1000
5	Prácticamente no tóxico	1000-1500
6	Relativamente inocuo	<1500

## Conclusiones

El estudio farmacognóstico determinó presencia de carbohidratos y compuestos fenólicos como constituyentes mayoritarios, evidenció capacidad antioxidante y presenta actividad citotóxica en *Artemia salina*.

## Agradecimientos

A la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Proyecto CON CON Código: 140401071, RR N°01243-R-14)

## Bibliografía

- Abdul-Awal S, Nazmir S, Nasrin S, Rahman T. and Jamal S. Evaluation of pharmacological activity of *Hibiscus tiliaceus*. *SpringerPlus* (2016) 5:1209. DOI 10.1186/s40064-016-2891-0
- Arnao I, Seminario J, Cisneros R. y Trabucco J. Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca-Perú. *An Fac med*. 2011; 72 (4):239-43.
- Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol*. 1995; 20: 25-30.
- Chautems, Alain. Taxonomic Revision of *Sinningia* NEES: nomenclatural changes and new synonymies - (1990a). *Candollea* 45 / 1, pp. 381-388
- Chautems A, Costa T, Peixoto M. & Rossini J. Taxonomic revision of *Sinningia* Nees (Gesneriaceae) IV: six new species from Brazil and a long overlooked taxon. *Candollea* 65(2): 241-266 (2010).
- Cruz C. and Morocho L. Determinación de la concentración letal media en *Artemia salina* de diez extractos hidroetanólicos de especies de plantas de *Zamora chinchipe*. *Centro de Biotecnología*, vol. 2 nro. 1. 2013
- Díaz C, Bautista P, Bautista K, Jurado B, Placencia M. y Chimoy P. Análisis fitoquímico preliminar de la papa madre (*Sinningia warmingii*). *Pueblo cont*. 23(2) 2012.
- Gülcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol* (2012) 86:345–391
- Haule E, Moshi M, Nondo R, Mwangomo D. and Mahunnah R. A study of antimicrobial activity, acute toxicity and cytoprotective effect of a polyherbal extract in a rat ethanol-HCl gastric ulcer model. *BMC Research Notes* 2012, 5:546
- Hernández E, Carrazana D, González R, García A, Marrero O, Águila E, Morales A. y López Y. Ecotoxicidad aguda en *Physa cubensis* P. y *Artemia salina* L. de 8 antibacterianos con riesgo ambiental. *Rev. Toxicol* (2017) 34: 118- 123
- Iannacone J, Alvarino L, Valle V, Ymaña B, Argota G, Fimia F, Carhuapoma M. and Castañeda L. Toxicidad de agentes antiparasitarios, antimicrobianos e insecticidas sobre larvas del camarón salino *Artemia franciscana* (Crustacea: Artemiidae). *Rev. Toxicol* (2016) 33: 31-38
- Jacques E, Massayoshi S, Martin A, Mascarenhas A, da Silva A, Nicácia C, et al. Median Lethal Concentrations of Amazonian Plant Extracts in the Brine Shrimp Assay. *Pharmaceutical Biology*. 2004; 42 (3): 253-257.
- Klouman E, Manongi R and Klepp K. Self-reported and observed female genital cutting in rural Tanzania: associated demographic factors, HIV and sexually transmitted infections. *Trop Med Int Health*. 2005 Jan; 10(1):105-15.
- Kvist L, Skog L, Amaya-Márquez M, Salinas I. Las Gesneriáceas de Perú. *Arnaldoa*. 2005. 12 (1-2):16-40.
- Lock De Ugaz O. (2016). Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Lima, Perú. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Martínez-Hormaza I, Quintero-Rodríguez G, Márquez-Montiel L, González-Lavaut J, Álvarez-Reyes A. & Zaragoza A. Determinación de la Citotoxicidad de Extractos de *Erythroxylum confusum* Britt. mediante el Método de la *Artemia salina*. *Acta Farm. Bonaerense* 25 (3): 429-31(2006)
- Martínez H, Carrazana D, González R, García A, Marrero O, Águila E, Morales A. y López Y. Ecotoxicidad aguda en *Physa cubensis* P. y *Artemia salina* L. de 8 antibacterianos con riesgo ambiental. *Rev. Toxicol* (2017) 34: 118- 123
- Mercado-Mercado G, De la Rosa L, Wall-Medrano A, López J. y Álvarez-Parrilla E. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especies típicas consumidas en México. *Nutr Hosp*. 20t3;28 (1):36-46
- Mostacero J., Mejía F., Gamarra O. *Fanerógamas del Perú: Taxonomía, utilidad y ecogeografía*. Edit. CONCYTEC. Pag. 833. Trujillo, 2009
- Naidu J, Ismail R. and Sasidharan S. Acute Oral Toxicity and Brine Shrimp Lethality of Methanol Extract of *Mentha Spicata* L. (Lamiaceae). *Trop J Pharm Res, January 2014*; 13(1): 101.
- Nishimori T, Miura K. and Seko t. Rearing *Orius strigicollis* (Hemiptera: Anthoridae) on an alternative diet of brine shrimp, *Artemia salina* (Anostraca: Artemiidae). *Appl Entomol Zool* (2016) 51:321–325
- Pérez P, Lazo F. Ensayo de *Artemia*: útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. *Rev. Protección Veg.* [revista en la Internet]. 2010 Abr [citado 2015 Jul 25]; 25(1): 34-43. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522010000100008&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522010000100008&lng=es).
- Perret M, Chautems A, Spichiger R. Dispersal-vicariance analyses in the tribe *Sinningieae* (Gesneriaceae): a clue to understanding biogeographical history of the Brazilian Atlantic forest. *Ann. MO Bot. Gard*, 2006. 93:340–358.
- Perret M, Chautems A, Spichiger R, Barraclough Tg, Savolainen

- V. 2007. The geographical pattern of speciation and floral diversification in the neotropics: the tribe sinningieae (gesneriaceae) as a case study. *Journal of the Society for the Study of Evolution*. Evolution 61-7: 1641-1660.
25. Pinzón R, Sánchez C. Manual de Técnicas de Investigación: CYTED. Subprograma X. Química fina farmacéutica 1995, 45-47
  26. Pino Pérez Oriela, Jorge Lazo Fanny. ENSAYO DE ARTEMIA: ÚTIL HERRAMIENTA DE TRABAJO PARA ECOTOXICÓLOGOS Y QUÍMICOS DE PRODUCTOS NATURALES. *Rev. Protección Veg.* [Internet]. 2010 Abr [citado 2019 Jun 23]; 25(1): 34-43. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522010000100008&lng=es.](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522010000100008&lng=es.))
  27. Rahman A, Siddiquey A, Uzzal M, Islam R. and Emran A. A preliminary evaluation of cytotoxicity, antihyperglycemic and antinociceptive activity of *Polygonum hydropiper* L. ethanolic leaf extract. *Oany et al. Clinical Phytoscience* (2016) 2:2
  28. Ramírez-Merlano J, Otero-Paternina A, Corredor-Santamaría W, Medina-Robles V, Cruz-Casallas P. y Velasco-Santamaría y. Utilización de organismos vivos como primera alimentación de larvas de yaque (*Leiariius marmoratus*) bajo condiciones de laboratorio. *Revista ORINOQUIA - Universidad de los Llanos - Volumen 14 - No 1 - Año 2010*
  29. Ramos E, Castañeda B, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *REV ACAD PERU SALUD* 15(1), 2008
  30. Santa Cruz L. et al., Inventario de la flora de angiospermas del distrito Pulán, provincia Santa Cruz, Cajamarca, Perú. *Arnaldoa* 26 (1): 139-212, 2019 <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.261.26108>
  31. Santos M. & Goncalves E. Effect of different extracting solvents on antioxidant activity and phenolic compounds of a fruit and vegetable residue flour. *Scientia Agropecuaria* 7 (1) 7 – 14 (2016)
  32. Sagástegui A. Diversidad Florística de Contumazá. Fondo Editorial Universidad Orrego de Trujillo. 1ª.ed.Trujillo 1995
  33. Soukup J. Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana y catálogo de los géneros. Edit. Salesiana. 2ª. ed. Pag. 378, 1980
  34. Solomon J. 2012. W3 TROPICOS - Base de Datos del Missouri Botanical Garden Herbarium (MO) [MBG, <http://www.tropicos.org/>].
  35. Vallejo-Zamudio E, Rojas-Velázquez A, Torres-Bugarín O. Una poderosa herramienta en la medicina preventiva del cáncer: los antioxidantes. [www.medigraphic.com/elresidente](http://www.medigraphic.com/elresidente). Septiembre-Diciembre 2017 / Volumen 12, Número 3. p. 104-111
  36. Verdan M, Unemoto L, Faria R, Salvador M, Lemos de Sá L, Barison A, Stefanello A. Leucotrichoic acid, a novel sesquiterpene from *Sinningia leucotricha* (Gesneriaceae). *Tetrahedron Letters* 54 (2013) 4735–4737
  37. Verdan M, Ehrenfried C, Riva d, Cervi A, Salvador C, Barison A. and Stefanello M. Chemical Constituents from *Sinningia canescens* and *S. warmingii*. *Natural Product Communications* Vol. 9 (10) 2014
  38. Vicuña Z. Inventario de plantas medicinales del Tahuantinsuyo. Tomo II Pag. 1015. Lima, 2011.
  39. Wang W, Pan K, Li Z. Gesneriaceae. In: Wang Wentsai, ed., *Fl. Reipubl. Popularis Sin.* 69: 125-581. 1990.
  40. Weber A, Skog L E. The genera of Gesneriaceae. Basic information with illustration of selected species. 2007 Ed 2 <http://www.generagesneriaceae.at>.
  41. Winiewski V, Verdan M, Ribeiro M, Hernandez-Tasco A, Salvador N. and Stefanello M.
  42. Warmingiins A and B, Two New Dimeric Naphthoquinone Derivatives from *Sinningia warmingii* (Gesneriaceae). *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 28, No. 4, 598-602, 2017.
  43. Zheng X, Hu Y, Anggreani E, Lu X. Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of blueberries using Fourier transformed infrared (FT-IR) spectroscopy and Raman spectroscopy. *Food Measure* (2017) 11:1909–1918 DOI 10.1007/s11694-017-9573-7