



**Interés Terapéutico del látex de
*Croton lechleri***

**Ester Risco
José Iglesias
Salvador Cañigüeral**

Interés terapéutico del látex de *Croton lechleri*

Ester Risco
José Iglesias
Salvador Cañigueral

Unitat de Farmacologia y Farmacognòsia. Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona. España

1. Introducción

Sangre de drago es el nombre que recibe popularmente el látex exudado al rasgar la corteza de algunas especies vegetales tropicales (*Figura 1*). Es un líquido viscoso de color rojo sangre y sabor astringente.

Figura 1. Sangre de drago



El género más representativo de especies productoras de sangre de drago es *Croton* (Euphorbiaceae), y la especie más utilizada y estudiada es *C. lechleri* Muell.-Arg. Además de ésta, las siguientes especies han sido también citadas como fuente de sangre de drago: *C. palanostigma* Klotsch, *C. draconoides* Muell.-Arg., *C. erythrochilus* Muell.-Arg., *C. draco* Cham. & Schlltdl, *C. magdalenensis* Muell.-Arg. *C. equinocarpus* Muell.-Arg., *C. gossypifolius* var. *hibiscifolius*, *C. urucurana* Baill., *C. methodorus* Bentham, *C. riviniaefolius* H.B.K, *C. xalapensis* H.B.K, etc. (Cerón, 1993; Meza y Pariona, 1999). Existen otros géneros productores de sangre de drago: *Bocconia* (Papaveraceae), *Croton* (Euphorbiaceae), *Daemonorops* (Arecaceae), *Dracaena* (Liliaceae), *Gliciridia* (Leguminosae), *Jatropha* (Euphorbiaceae), *Machaerium* (Leguminosae) y *Pterocarpus* (Leguminosae).

Las especies vegetales conocidas como sangre de drago se distribuyen en América tropical y subtropical desde el sur de México y América Central hasta países tropicales y subtropicales de América del Sur. *Croton lechleri* es nativo de Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Brasil, y en algunos países se cultiva par la producción del látex (*Figura 2*).



Figura 2. Plantación de *Croton lechleri*

Si bien los nombres populares más utilizados para los *Croton* productores de sangre de drago y muchas veces para el látex, son sangre de drago y sangre de grado, la sinonimia popular es muy amplia: palo de grado, sangre de palo, huampo, topa roja, sangre del árbol, zangrado, etc. dependiendo de la zona geográfica y de los grupos étnicos (Meza y Pariona, 1999).

Descripción botánica de Croton lechleri Muell.-Arg.

Sección: *Cyclostigma* Griseb

Subsección: *Cyclostigma* (Griseb) Muell. Arg.

Sinónimo: *Croton draco* Schlecht var. *cordatus* Muell.-Arg. (Forero *et al.*, 2000).

Se trata de una especie monoica, perenne arbórea o arbustiva que puede alcanzar más de 25 m de altura (*Figura 3*). Se distribuye en un amplio rango climático y altitudinal, desde los 200 hasta aproximadamente los 1000 msnm. Las copas son globosas con un entramado desordenado, generalmente con ramificación simpodial y con fuerte tendencia a la bifurcación cuando crece a pleno sol. Las ramas están cubiertas con pelos estrellados más o menos simples. Las hojas son simples, anchas y marcadamente cordiformes, opuestas, con el ápice decuspidado o ligeramente acuminado, membranosas, plurinervadas, con dos glándulas en la base cordada. Las hojas jóvenes son tomentosas, más tarde se vuelven glabrescentes por ambos lados. Los pecíolos son más o menos largos y las estípulas son rígidas y sublanceoladas.

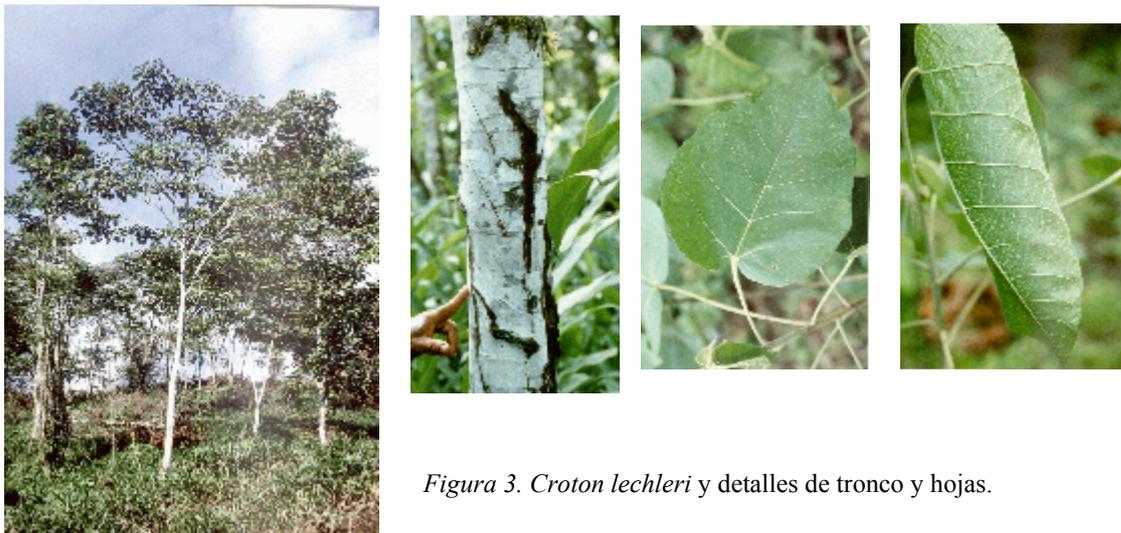


Figura 3. Croton lechleri y detalles de tronco y hojas.

Presenta espigas florales terminales o subterminales, de 22 a 72 cm. Las flores pistiladas tienen el ovario súpero elipsoide con tres carpelos, cada uno de los cuales contiene un óvulo, y está densamente cubierto por dos capas de tricomas multirradiados. Los estilos son bífidos y están profundamente divididos en la base. Al estrujar las hojas ofrecen una fragancia intensa y penetrante. Las hojas maduras cambian a color ladrillo y amarillento y luego se desprenden. (Ghia, 1993; Forero *et al.*, 2000).

2. Composición química

Los componentes mayoritarios aislados de la sangre de drago de *Croton lechleri* (*Figura 4*) son: catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina (monómeros de flavan-3-oles) y proantocianidinas de diferentes tamaños. El SP-303 es un oligómero proantocianidínico heterogéneo (2100 Daltons), aislado del látex de *C. lechleri* (Ubillas *et al.*, 1994), cuyos

componentes básicos son (+)-catequina, (+)-galocatequina, (-)-epicatequina y (-)-galoepicatequina, siendo predominantes (+)-galocatequina y (-)-epigalocatequina. Entre los compuestos minoritarios, se encuentran el alcaloide taspina, un lignano denominado dimetilcedrusina (Pieters *et al.*, 1993)(Figura 5), y diterpenos como ácido hardwickiico, bicantriol, crolequinol, ácido crolequínico, korberina A y korberina B (Cai *et al.*, 1991) (Figura 6). Además están presentes β -sitosterol y β -sitosterol-3-O- β -D-glucopiranosido, 1,3,5-trimetoxibenceno, 2,4,6-trimetroxifenol, 3,4-dimetoxifenol, alcohol 3,4-dimetoxibenzílico y alcohol 4-hidroxifenético .

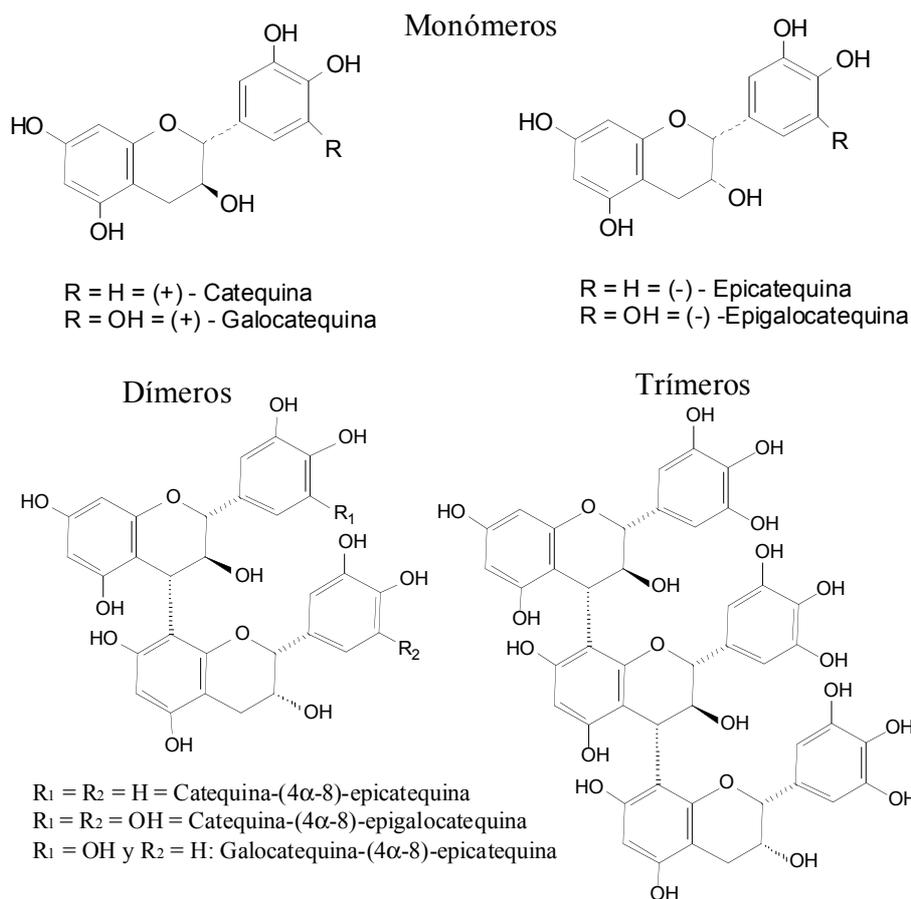


Figura 4. Monómeros, algunos dímeros proantocianidínicos y el trímero galocatequina-(4 α 8)-galocatequina-(4 α 8)-epigalocatequina. caracterizados en la sangre de drago de *Croton lechleri*.

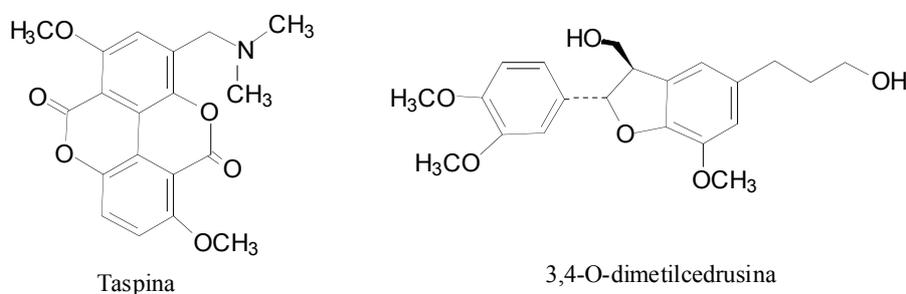


Figura 5. Estructura de la taspina y de la 3',4-O-dimetilcedrusina

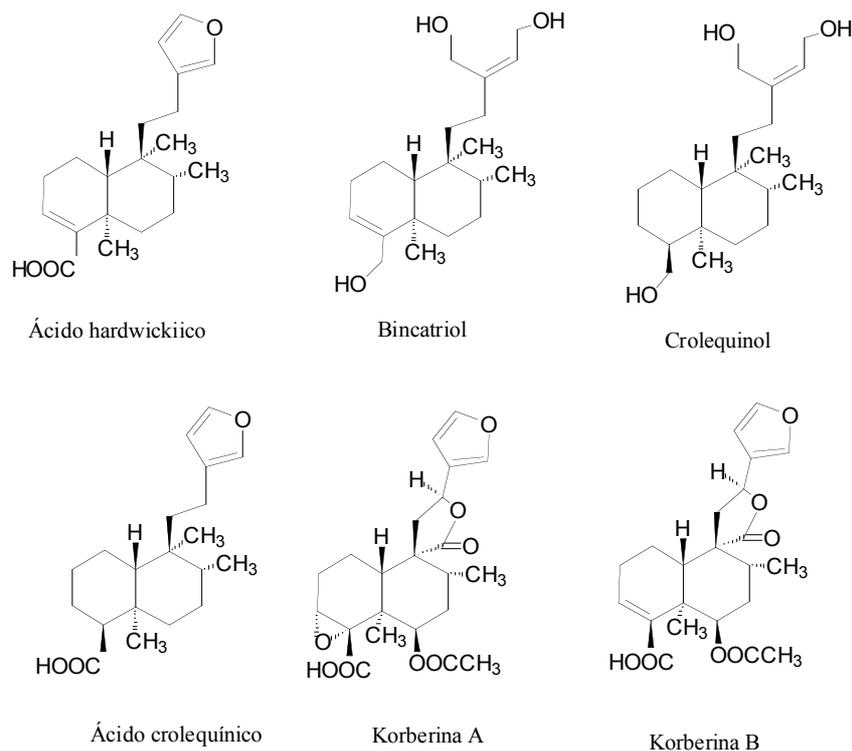


Figura 6. Diterpenos aislados de la sangre de drago de *C. lechleri*.

3. Usos populares

Sangre de drago es uno de los productos más utilizados a nivel popular en las zonas tropicales húmedas de Centro y Sudamérica. Las primeras referencias escritas datan del siglo XVII, cuando el naturalista y explorador español P. Bernabé Cobo descubrió las propiedades curativas de este látex, ampliamente conocidas por las tribus indígenas de México, Perú y Ecuador (Joyce, 1994). Se usa principalmente como cicatrizante. También se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, antisépticas y hemostáticas, además de efectos beneficiosos en el tratamiento de las diarreas (Joyce, 1994; Duke y Vasquez, 1994; Maxwell, 1990; Pieters *et al.*, 1993; Tempesta, 1993). Se utiliza en el tratamiento de las úlceras gastrointestinales, cólicos uterinos y en los casos de retención de orina, cuando es ingerida en pequeñas dosis. Además, se le atribuye acción anticancerígena. Otras utilizaciones indígenas incluyen el tratamiento de fiebres por causas digestivas y pirosis (Joyce, 1994), su uso en baños vaginales antes del parto (Duke y Vasquez, 1994), para hemorragias después del parto (Maxwell, 1990) y para afecciones de la piel (Rios, 1992; Phillipson, 1995).

En todas estas indicaciones de medicina popular se utilizan alrededor de 8 gotas (aunque se alcanzan incluso dosis de 20 a 30 gotas), que se suelen añadir a una infusión de cualquier planta aromática. En los países de origen resulta habitual encontrar este látex en diferentes presentaciones comerciales, tanto en forma líquida como incorporado a diversos preparados.

4. *Potencial terapéutico*

ACTIVIDAD CICATRIZANTE

Una de las actividades más conocidas, y de las primeras estudiadas, de sangre de drago es la cicatrizante, y en ella está involucrado más de un principio activo. La sangre de drago estimula la contracción de la herida, ayuda en la formación de la costra y regenera rápidamente la piel ayudando a la formación de colágeno (Pieters *et al.*, 1993; Pieters *et al.*, 1995). A esta acción contribuyen la taspina, la 3'-4-O-dimetilcedrusina y los polifenoles (catequinas y proantocianidinas), y se ha demostrado que el látex total es más activo que sus componentes aislados.

La sangre de drago mezclada con óxido de zinc puede ser utilizada en el tratamiento de la alveolitis seca dolorosa, ya que induce la formación del tejido de granulación de los alveolos secos, elimina el dolor y el mal olor presente en esta enfermedad en períodos que fluctúan entre 24 horas y 4 días posteriores al tratamiento (Marcelo y Meza, 1999).

La taspina promueve las fases tempranas de la curación de una herida y su mecanismo de acción podría estar relacionado con la estimulación de la quimiotaxis de fibroblastos (Vaisberg *et al.*, 1989); sin embargo, no se ha encontrado actividad en ensayos específicos sobre la quimiotaxis de macrófagos, estimuladora de neutrófilos o de la proliferación de fibroblastos. La taspina actúa en el inicio del proceso de cicatrización *in vivo* en ratón durante las primeras 60 horas, transcurrido este período de tiempo no se observa ninguna diferencia significativa con el proceso normal de cicatrización. Este alcaloide muestra un efecto cicatrizante dosis-dependiente ($DE_{50} = 0,375$ mg/Kg) en pruebas *in vivo* en ratones (Vaisberg *et al.*, 1989). Además, se ha estudiado el efecto de la taspina en el tratamiento de la úlcera gástrica aguda inducida por indometacina en rata. La taspina reduce los índices de ulceración, aumenta el espesor y la consistencia de la capa de mucus gástrico.

El lignano 3'-4-O-dimetilcedrusina también interviene en la acción de curación de heridas con sangre de drago (Pieters *et al.*, 1993; Pieters *et al.*, 1995). Sin embargo, el látex es cuatro veces más efectivo en la curación de heridas que la dimetilcedrusina o la taspina aisladas. Sangre de drago facilita la curación úlceras gástricas, reduciendo la actividad mieloperoxidasa, el tamaño de la úlcera y la sepsis (Miller *et al.*, 2000). Los polifenoles juegan un papel importante en la acción cicatrizante del látex (Spencer *et al.*, 1988), probablemente debido a la acción secuestradora de radicales libres. Las proantocianidinas estimulan la contracción de la herida y la formación de una costra oscura que recubre la herida (Pieters, 1992; Pieters *et al.*, 1993). De hecho, muestras de látex que no presentaron 3'-4-O-dimetilcedrusina y contienen muy baja proporción de taspina han mostrado actividad cicatrizante (Marcelo y Meza, 1999).

ACTIVIDADES ANTIMICROBIANA Y ANTIVIRAL

Numerosos estudios avalan la actividad antimicrobiana y antiviral de sangre de drago, y principalmente del SP-303. Esta proantocianidina inhibe diferentes virus DNA y RNA (Ubillas *et al.*, 1994), incluyendo el virus herpes (HSV tipos 1 y 2), el virus de la hepatitis (A y B), el virus de la influenza A (FLU-A) y el virus de la parainfluenza (PIV) (Gilbert *et al.*, 1993; (Sidwell *et al.*, 1994). También es efectivo contra el virus RSV (virus sincitial respiratorio) (Wyde *et al.*, 1993; Gilbert *et al.*, 1993). La actividad viral contra los dos tipos

de virus herpes simple, incluye también el tipo I timidinaquinasa deficiente (Barnard *et al.*, 1993), ya que impide la penetración del virus en la célula. Sin embargo, es inactivo frente al citomegalovirus humano. En ensayos vaginales en ratón, reduce significativamente la formación de la lesión cuando se aplica tópicamente al 5-10% (Barnard *et al.*, 1993). EL SP-303 se encuentra en fase clínica como tratamiento tópico de pacientes de SIDA con lesiones recurrentes por herpes genital (Safrin *et al.*, 1994; Orozco-Topete *et al.*, 1997) y como terapia de diarreas en enfermos de SIDA (Holodniy *et al.*, 1999; Sherman *et al.*, 2000). Además se ha demostrado su eficacia en el tratamiento de las producidas por la toxina colérica (Gabriel *et al.*, 1999).

La sangre de drago de *C. lechleri* es poco activa frente a *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*. El 1,3,5-trimetoxibenceno y el 2,4,6-trimetoxifenol son muy activos frente a *B. subtilis*, más potentes que la penicilina y el cloramfenicol (Chen *et al.*, 1994).

ACTIVIDAD INMUNOMODULADORA

Sangre de drago ha demostrado actividad inmunomoduladora *in vitro*. Observaciones clínicas, de un grupo de médicos del CEIA (Reymond, 1999) han apuntado sobre el posible interés de la sangre de drago de *C. lechleri* como adyuvante en el tratamiento de una serie de enfermedades, que tienen en común un importante componente inmunológico (autoinmunes, cancerosas, neurológicas y virales). Sangre de drago presenta una potente actividad inhibidora sobre las vías clásica y alternativa del sistema del complemento (Risco *et al.*, 2000) e inhibe la proliferación de células T estimuladas (Risco, 2000). Muestra una acción dual en la modulación de la producción de especies reactivas de oxígeno (actividad antioxidante/prooxidante) (Risco *et al.*, 1996) y de la fagocitosis (inhibición/estimulación) (Risco *et al.*, 2000), dependiendo de la concentración ensayada.

Actividad sobre el sistema del complemento (SC)

El sistema del complemento forma parte de la primera línea de defensa y posee un alto grado de sofisticación que le confiere la capacidad de interactuar eficientemente con otros sistemas efectores de la inmunidad humoral y celular y de la inflamación (Song *et al.*, 2000). Por este motivo, deficiencias en alguno de sus componentes provocaría diversos desórdenes como consecuencia de un desequilibrio en la activación de la respuesta inmune (Whaley y Schwaeble, 1997), principalmente en estados de infección o enfermedades como la leucemia linfática crónica (Schlesinger *et al.*, 1996). Sin embargo, una activación incontrolada del SC puede provocar la formación del CAM (complejo atacante de membrana) sobre los tejidos propios y una generación excesiva de mediadores inflamatorios. Por consiguiente, la activación del SC es una parte esencial en la patogénesis de un gran número de enfermedades humanas (por inmunocomplejos, Alzheimer y otras enfermedades neurológicas, traumatismo cerebral, lupus eritematoso, artritis reumatoide, quemaduras, esclerosis múltiple, aterosclerosis, isquemia aguda de miocardio, diabetes, etc) (Kawano *et al.*, 1999; Sahu y Lambris, 2000; Gasque *et al.*, 2000; Molenaar *et al.*, 2001). Es interesante desarrollar inhibidores del complemento para suprimir el proceso de estas enfermedades (Asghar y Pasch, 2000; Sahu y Lambris, 2000).

La sangre de drago obtenida de *Croton lechleri* muestra una potente actividad inhibidora de las vías clásica y alternativa del sistema del complemento (*Figura 7*) con una IC₅₀ de 5 µg/ml y 185 µg/ml, respectivamente. Sin embargo, el efecto del látex es mayor que el de la taspina,

que presenta inhibición sobre la vía clásica ($IC_{50} = 38 \mu\text{g/ml}$) y no muestra efecto sobre la vía alternativa (Risco *et al.*, 2000). La actividad del látex observada sobre el sistema del complemento podría ser debida a la presencia de monómeros de flavan-3-oles, proantocianidinas dimericas y triméricas, y se relacionaría con la reducción en el medio de los niveles de Ca^{2+} y el Mg^{2+} necesarios para la actividad del sistema del complemento (Kosasi *et al.*, 1989), ya que este látex precipita ambos cationes.

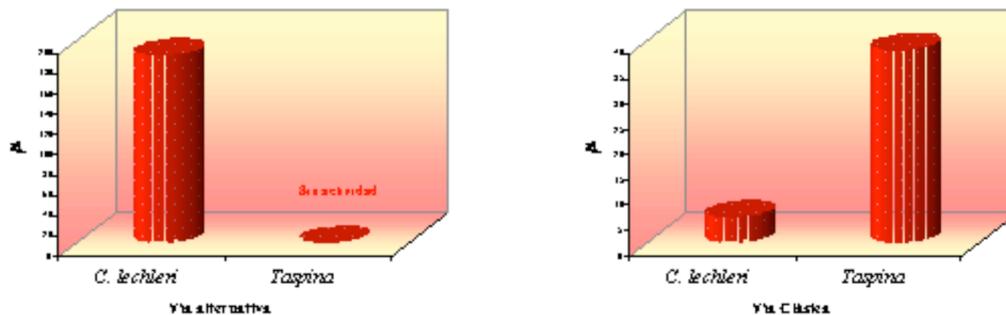


Figura 7. Comparación de las IC_{50} obtenidas en la valoración de la actividad del látex de *C. lechleri* y de la taspina sobre las vías clásica y alternativa del sistema del complemento.

Actualmente, se conoce la actividad moduladora del sistema del complemento de series de monómeros flavan-3-oles, dímeros y trimeros de proantocianidina, compuestos que están presentes en la sangre de drago. Además, los dímeros suelen ser más activos que los monómeros sobre la VC y no se ha podido establecer ninguna relación estructura-actividad sobre la VA (De Bruyne *et al.*, 1999; Pieters *et al.*, 1999).

Actividad sobre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS)

La sangre de drago presenta una actividad dual sobre la producción de ROS (Risco *et al.*, 1996; Desmarchelier *et al.*, 1997). La producción de ROS está relacionada con el concepto de estrés oxidativo. El estrés oxidativo es la ausencia de balance entre los mecanismos que generan ROS y los que los consumen, es decir, se trata de una producción incontrolada de ROS. Las ROS han aparecido como el denominador común causante o cooperante en múltiples patologías (aterosclerosis, cancer enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, artritis reumatoide, shock hemorrágico, SIDA, envejecimiento, etc) (Gutteridge, 1993; Maxwell, 1995). Consecuentemente, las estrategias terapéuticas basadas en la recuperación del balance oxidativo han mejorado sustancialmente el tratamiento de muchas enfermedades.

Sangre de drago presenta una actividad dual sobre la producción de ROS en neutrófilos y monocitos de sangre humana, tanto estimulados con H_2O_2 como con PMA: a concentraciones superiores a los $10 \mu\text{g/ml}$ actúa como estimulante de la producción de ROS, mientras que a concentraciones inferiores a $1 \mu\text{g/ml}$ la actividad es inhibitoria (Figura 8) (Risco *et al.*, 1996). Se ha comprobado que concentraciones superiores a $50 \mu\text{g/ml}$ de sangre de drago se produce daño celular sobre neutrófilos humanos (Risco, 2000). La taspina no presenta actividad sobre la producción de ROS en leucocitos humanos.

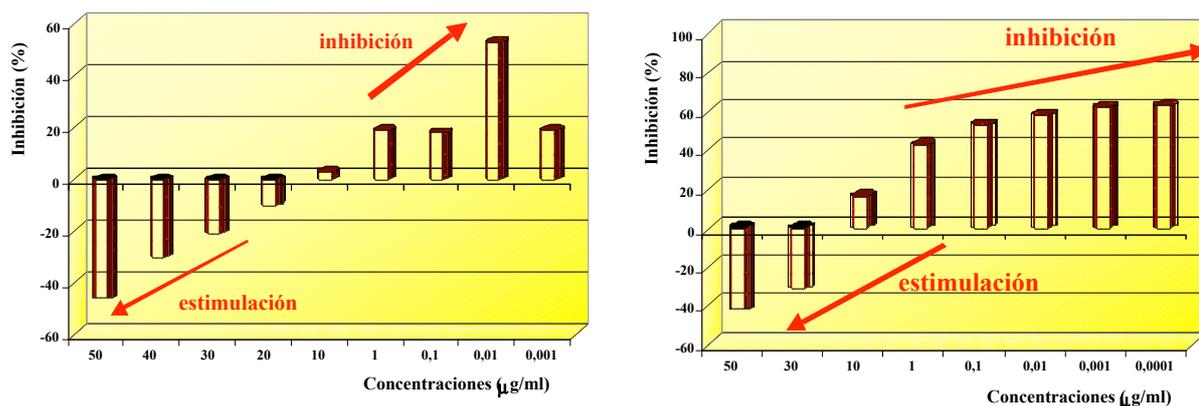


Figura 8. Inhibiciones obtenidas para el látex de *C. lechleri* en la producción de ROS en neutrófilos humanos estimulados con H₂O₂ (100 μM) (izquierda) y con PMA (10 μM) (derecha).

Los taninos condensados, y en general los ácidos fenólicos, polifenoles, flavonoides (compuestos por uno o más anillos aromáticos con diferentes grupos hidroxilos), presentan capacidad de quelar los radicales libres y se relacionan con propiedades antioxidantes (Packer *et al.*, 1999). Las proantocianidinas presentan una mayor capacidad antioxidante que los monoméricos flavan-3-oles, porque poseen un mayor número de lugares para secuestrar radicales (Bors y Michel, 1999; Santos-Buelga and Scalbert, 2000). Además diversos estudios de inmunomodulación afirman que una misma sustancia puede actuar como agente inmunoestimulante o como inmunosupresor dependiendo de la dosis (Wagner, 1987). Esta acción prooxidante/antioxidante ha sido observada en compuestos polifenólicos, como la quercetina, que actúa como antioxidante o prooxidante dependiendo de la concentración y del origen del radical libre (Metodiewa *et al.*, 1999), y el número de grupos hidroxilo influye en dicha acción dual (Alanko *et al.*, 1999). Otros antioxidantes, como el ácido ascórbico, a determinadas concentraciones o condiciones fisiológicas, también se comporta como prooxidante (Podmore ID *et al.*, 1998; Childs *et al.*, 2001).

Actividad sobre la fagocitosis

Tanto la fagocitosis como la producción de ROS reflejan las funciones más representativas de leucocitos y macrófagos (Adams y Hamilton, 1984). La actividad fagocítica es el principal mecanismo mediante el cual el sistema inmune elimina la mayoría de microorganismos patógenos. Las células fagocíticas juegan un papel importante en el proceso de inflamación como primera línea de defensa produciendo ROS y enzimas proteolíticas, y por la modificación de la expresión en su superficie de moléculas de adhesión. Sin embargo, el proceso fagocítico puede estar implicado en diversas patologías, debido a que las células fagocíticas liberan ROS y mediadores de la inflamación (Higuchi *et al.*, 2001), se adhieren unas con otras (factor importante en la aterosclerosis) y activan el SC. Cuando no se completa el proceso fagocítico puede producirse daño tisular (Ricevuti, 1997).

Sangre de drago estimula o inhibe la fagocitosis en neutrófilos y monocitos humanos dependiendo de la concentración (Risco *et al.*, 2000). A concentraciones inferiores a 30 μg/ml estimula la fagocitosis e incrementa el número de células que fagocitan más de una partícula (índice fagocítico). A concentraciones de 20 μg/ml la fagocitosis de monocitos humanos se estimula en un 72% y a 10 μg/ml en un 54%. Sin embargo, a concentraciones superiores se inhibe el proceso fagocítico índice fagocítico: a la concentración de 50 μg/ml se observa un

67% de inhibición en monocitos humanos (*Figura 9*).

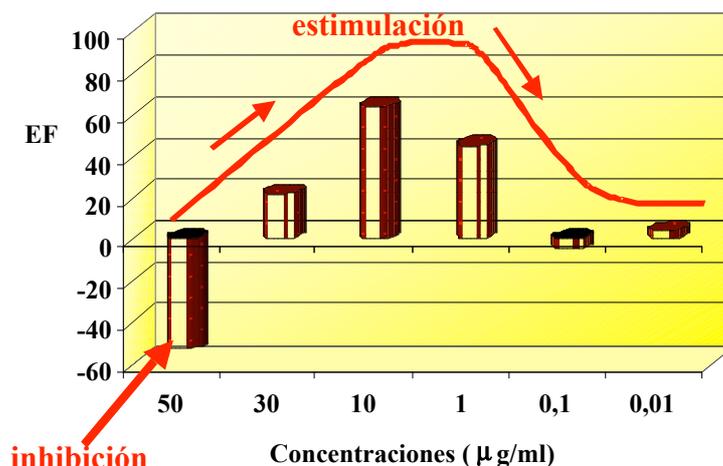


Figura 9 Representación del porcentaje de estimulación de la fagocitosis (EF) de monocitos humanos tratado con el látex de *C. lechleri*.

Únicamente se ha observado estimulación concentración-dependiente, entre 5 µg/ml y 40 µg/ml de taspina sobre la fagocitosis de monocitos humanos. La taspina no presenta actividad significativa sobre la fagocitosis de neutrófilos humanos. Por tanto, son otros compuestos del látex los responsables de la actividad dual sobre la fagocitosis.

Actividad sobre la proliferación linfocitaria

Los linfocitos (linfocitos B y T y sus subpoblaciones C-4 y C-8) poseen un importante papel en prácticamente todos los mecanismos de defensa. Pueden ser activados directamente por antígenos y mitógenos, o indirectamente por citoquinas o sustancias liberadas por los macrófagos (Wagner *et al.*, 1999).

Sangre de drago no presenta actividad sobre la proliferación de esplenocitos normales. Sin embargo, muestra inhibición sobre la proliferación de esplenocitos estimulados con Concanavalina A y sobre células leucémicas murinas (*Figura 10*) (Risco, 2000).

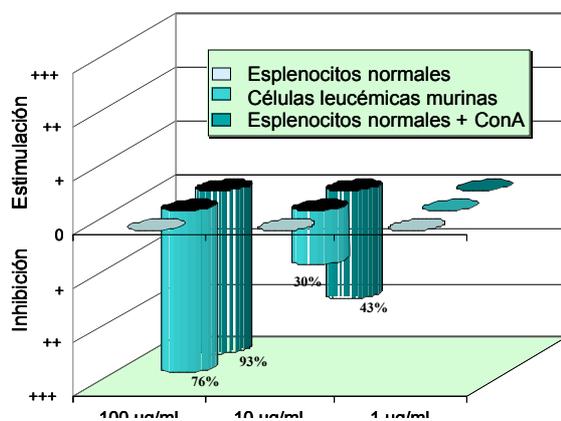


Figura 10. Efecto del látex de *C. lechleri* sobre la proliferación linfocitaria.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Se ha estudiado la actividad antiinflamatoria de la taspina en tres modelos farmacológicos (Persinos-Perdue *et al.*, 1979; Vlientick y Dommissse, 1985). En el modelo del edema inducido por carragenina en la región subplantar de la rata, la taspina produjo inhibición dosis-dependiente, con una DE_{50} de 58 mg/Kg a las tres horas de la administración de carragenina (vía oral), siendo de 3 a 4 veces más potente que la fenilbutazona. En el modelo del granuloma inducido por torunda de algodón, la taspina inhibió la formación de granulomas de forma estadísticamente significativa durante una semana (20 mg/Kg). En el modelo de artritis inducida por un coadyuvante en rata, la taspina inhibió la inflamación de forma estadísticamente significativa a 20 mg/Kg/día (Persinos-Perdue *et al.*, 1979). Las Dosis Letales 50 (DL_{50}) por vía oral en ratas Wistar macho fueron de 518 mg/Kg para una dosis única y de 100 mg/Kg para 7 dosis diarias.

Se ha comprobado que la taspina no es el único responsable de la acción antiinflamatoria (Risco, 2000). El látex total presenta una potente actividad antiinflamatoria estadísticamente significativa por vía intraperitoneal, en el modelo del edema inducido por carragenina en la región subplantar de la rata (Risco, 2000). Además, muestra una buena correlación dosis-respuesta en lo que se refiere a su actividad antiinflamatoria en el modelo experimental empleado. Dosis superiores a 25 mg/Kg muestran una inhibición de la inflamación del 100% (Figura 11). Sin embargo, a estas dosis se observa la formación de exudado peritoneal, probablemente debido a un efecto contrairritante. No se observa exudado peritoneal a dosis menores de 25 mg/Kg. A la dosis de 10 mg/Kg, sangre de drago presenta una potente inhibición del edema durante las cinco horas posteriores a la administración de la carragenina (73% de inhibición a las dos horas). A la dosis de 5 mg/Kg, la inhibición es del 55%, a las 3 horas desde la administración de la carragenina. El efecto antiinflamatorio de sangre de drago a 5 mg/Kg i.p. es comparable al de 20 mg/Kg i.p. de naproxeno, durante las 4 primeras horas.

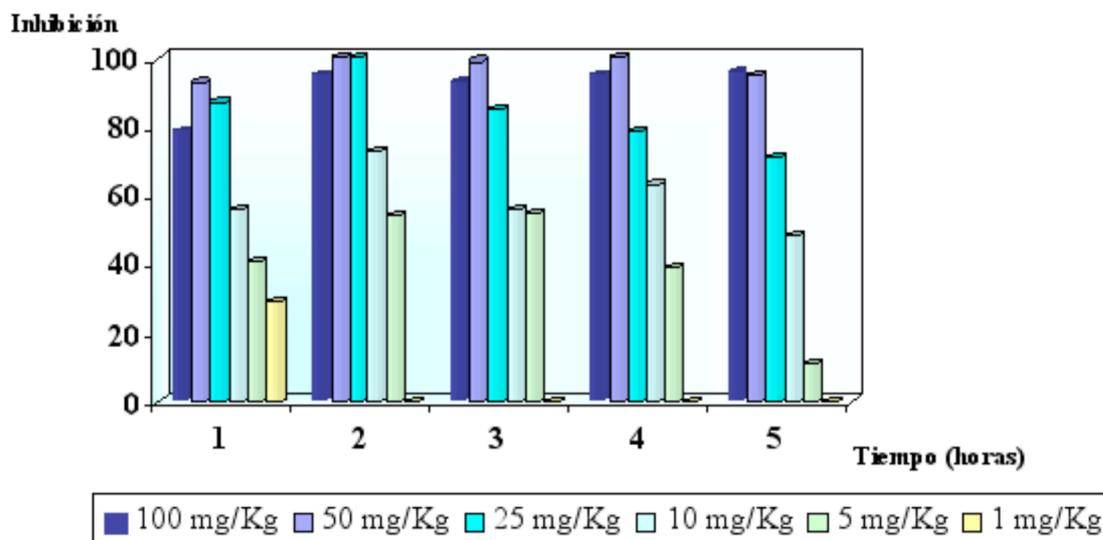


Figura 11. Comparación de los porcentajes de inhibición obtenidos en la valoración del látex liofilizado de *C. lechleri* por vía intraperitoneal.

Referencias bibliográficas

- Adams DO, Hamilton TA. 1984. The cell biology of macrophage activation. *Annu. Rev. Immunol.*, 2: 283-299.
- Alanko J, Riutta A, Holm P, Mucha I, Vapaatalo H, Metsä-Ketelä. 1999. Modulation of arachidonic acid metabolism by phenols: relation to their structure and antioxidant/prooxidant properties. *Free Radic. Biol. Med.*, 26 (): 193-201.
- Asghar SS, Pasch MC. 2000. Therapeutic inhibition of the complement system. Y2K update (Review). *Frontiers in Bioscience*, 5: E63-81.
- Barnard DL, Huffman JH, Meyerson LR, Sidwell RW. 1993. Mode of inhibition of respiratory syncytial virus by a plant flavonoid SP-303. *Chemotherapy*, 39 (3): 212-217.
- Barnard DL, Smeets DF, Huffman JH, Meyerson LR, Sidwell RW. 1993. Antitherpesvirus activity and mode of action of SP-303, a novel plant flavonoid. *Chemotherapy*, 39 (3): 203-211.
- Bors W, Michel C. 1999. Antioxidant capacity of flavanols and gallate esters: pulse radiolysis studies. *Free Radic. Biol. Med.*, 27 (11/12): 1413-1426.
- Cai Y, Evans F, Roberts M, Phillipson JD, Zenk M, Gleba Y. 1991. Polyphenolic compounds from *Croton lechleri*. *Phytochemistry*, 20: 2033-2040.
- Cerón C. 1993. Etnobotánica del Ecuador. Estudios regionales. Ediciones Abya-Yala. Cayambe (Ecuador).
- Chen Z., Cai Y, Phillipson J. 1994. Studies on the anti-tumour, anti-bacterial and wound-healing properties of dragon's blood. *Planta Med.*, 60: 541-545.
- Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. 2001. Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in human after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic. Biol. Med.*, 31 (6): 745-753.
- De Bruyne T, Pieters L, Witvrouw M, De Clercq E, Vanden Berghe D, Vlietinck A. 1999. Biological evaluation of proanthocyanidin dimers and related polyphenols. *J. Nat. Prod.*, 62:954-958.
- Desmarchelier C, Witting Schaus F, 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.
- Duke, J., Vasquez, R. 1994. Amazonian Ethnobotanical Dictionary, CRC Press Inc.: Boca Raton, FL.
- Forero LE, Chávez JF, Yesid H. 2000. *Croton lechleri*. Fundamentos de agrotecnología de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas. Convenio Andrés Bello. CYTED. Martínez, Yesid & Cáceres (Editores). Satafé de Bogotá DC (Colombia).
- Gabriel SE, Davenport SE, Steagall RJ, Vimal V, Carlson T, Rozhon EJ. 1999. A novel plant-derived inhibitor of cAMP-mediated fluid and chloride secretion. *Am. J. Physiol.*, 276 (1 Pt 1): G58-63.
- Gasque P, Dean YD, McGreal EP, VanBeek, Morgan BP. 2000. Complement components of the innate immune system in health and disease in the CNS. *Immunopharmacol.*, 49: 171-186.
- Ghia F. 1993. Descripción botánica de tres especies de *Croton*. *Etiquetas de Herbario BCF*.
- Gilbert BE, Wyde PR, Wilson SZ, Meyerson LR. 1993. SP-303 small-particle aerosol treatment of influenza A virus infection in mice and respiratory syncytial virus infection in cotton rats. *Antiviral Res.*, 21 (1): 37-45.
- Higuchi S, Tanimoto A, Arima N, Xu H, Murat Y, Hamada T, Makishima K, Sasaguri Y. 2001. Effects of histamine and interleukin-4 synthesized in arterial intima on phagocytosis by monocytes/macrophages in relation to atherosclerosis. *FEBS Lett.*, 505: 217-222.
- Holodny M, Koch J, Mistal M, Schmidt JM, Khandwala A, Pennington JE, Porter AB. 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. Gastr.*, 94 (11): 3267-3273
- Joyce C. 1994. Earthly Goods: Medicine-Hunting in the Rainforest. Little, Brown, & Company; New York, NY.
- Kawano M, Seya T, Koni I, Mabuchi H. 1999. Elevated serum levels of soluble membrane cofactor protein (CD46, MPC) in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin. Exp. Immunol.*, 116 (3): 542-546.
- Kosasi S, Hart LA, van Dijk H, Labadie RP. 1989. Inhibitory activity of *Jatropha multifida* latex on classical complement pathway activity in human serum mediated by a calcium-binding proanthocyanidin. *J. Ethnopharmacol.*, 27: 81-89.
- Marcelo AJ, Meza EN. 1999. Propiedades biológicas de metabolitos secundarios de "SANGRE DE GRADO". En Marcelo AJ, Calderón C, Medina D, Valencia M, Pariona M & Meza EN. Desarrollando nuestra diversidad biocultural: "SANGRE DE GRADO" y el reto de su producción sustentable en el Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Fondo Editorial. Elsa N. Meza Editora. Lima (Perú). Pág.: 165-196
- Maxwell N. 1990. Witch Doctor's Apprentice, Hunting for Medicinal Plants in the Amazon, 3rd Edition, Citadel Press: New York, NY.
- Metodiewa D, Jaiswal AK, Cenas N, Dickancaité E, Segura-Aguilar J. 1999. Quercetin may act as a cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product. *Free Radic. Biol. Med.*, 26 (): 107-116.
- Meza EN, Pariona M. 1999. Nombres aborígenes peruanos de las especies de *Croton* que producen el látex denominado "Sangre de Grado". En Marcelo AJ, Calderón C, Medina D, Valencia M, Pariona M & Meza EN. Desarrollando nuestra diversidad biocultural: "SANGRE DE GRADO" y el reto de su producción sustentable en el Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Fondo Editorial. Elsa N. Meza Editora. Lima (Perú). Pág.: 25-44.
- Miller M, MacNaughton W, Zhang X, Thompson J, Charbonnet R, Bobrowski P, Lao J, Trentacosti AM, 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.
- Molenaar ET, Voskuyl A, Familian A, van Mierlo GJ, Dijkmans BA, Erik Hack C. 2001. Complement activation in patients with rheumatoid arthritis mediated in part by C-reactive protein. *Arthritis & Rheumatism*, 44 (5): 997-1002.
- Neill, D, Palacios W. 1989. Árboles de la Amazonia Ecuatoriana. Lista preliminar de especies. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Publicado por la Dirección Nacional Forestal. Quito (Ecuador).
- Orozco-Topete R, Sierra-Madero J, Cano-Dominguez C, Kershenovich J, Ortiz-Pedroza G, Vazquez-Valls E, García-Cosío C, Soria-Córdoba A, Armendariz AM, Teran-Toledo X, Romo-García J, Fernández H, Rozhon EJ. 1997. Safety and efficacy of Virend for topical treatment of genital and anal herpes simplex lesions in patients with AIDS. *Antiviral Res.*, 35 (2): 91-103.
- Parcker L, Rimbach G, Virgili F. 1999. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) Bark, pycnogenol. *Free Radic. Biol. Med.*, 27 (5/6): 704-724.
- Persinos-Perdue G, Blomster RN, Blake DA, Farnsworth NR. 1979. South American plants II: taspine isolation and Anti-inflammatory activity. *J. Pharm. Sci.*, 68 (1): 124-126.
- Phillipson JD. 1995. A matter of some sensitivity. *Phytochemistry*, 38 (6): 1319-1343.
- Pieters L, de Bruyne T, Claeys M, Vlietinck J. 1993. Isolation of the dihydrobenzofuran lignan form South American dragon's blood (*Croton* sp.) as an inhibitor of cell proliferation. *J. Nat. Prod.*, 56 (6): 899-906.
- Pieters L. 1992. The biologically active compounds of sangre de drago. Tradicional South American drug. Universiteit Antwerpen. Department Farmaceutische Wetenschappen. Germany.
- Pieters L, de Bruyne T, van Poel B, Vingerhoets R, Totté J, Vanden Berghe D, Vlietinck A. 1995. In vivo wound healing activity of dragon's blood (*Croton* spp.), a traditional South American drug, and its constituents. *Phytomedicine*, 2 (1): 17-22.

- Pieters L, De Bruyne T, Vlietinck J.** 1999. Low-molecular weight compounds with complement activity. En *Immunomodulatory agents from plants*. Progress in Inflammation Research, ed. by Wagner H (Birkhäuser):137-160.
- Podmore ID, Griffiths HR, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Lunec Joseph.** 1998. Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature*, 392: 559.
- Reymond E.** 1999. Estudio sobre posibles indicaciones terapéuticas de sangre de drago. Comunicación personal.
- Ricevuti G.** 1997. Host Tissue damage by phagocytes. Phagocytes, biology, physiology, pathology and pharmacotherapeutics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 832: 426-448.
- Rios, M D.** 1992. Amazon Healer, The Life and Times of an Urban Shaman. Avery Publishing Group, Carden City Park, NY.
- Risco E.** 2000. Sangre de drago. Estudio sobre la actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora. Tesis Doctoral. Unidad de Farmacología y Farmacognosia. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona. España.
- Risco E, Ghia F, Vila R, Iglesias J, Cañigüeral S.** 2000. Immunomodulatory activity of sangre de drago (dragon's blood) from *Croton lechleri*. 4th Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research. Zürich (Switzerland). Poster.
- Risco E, Ghia F, Vila R, Iglesias J, Cañigüeral S.** 1996. Activity of sangre de drago (Dragon's blood) on free radicals production in rat and human leukocytes.. 44th Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research Prague (Czech Republic). Oral communication.
- Safrin S, McKinley G, McKeough M, Robinson D, Spruane SL.** 1994. Treatment of acyclovir-unresponsive cutaneous herpes simplex virus infection. *Antiviral Res.*, 25 (3-4): 185-192.
- Sahu A, Lambris JD.** 2000. Complement inhibitors: a resurgent concept in anti-inflammatory therapeutics.. Review. *Immunopharm.*, 49: 133-148.
- Santos-Buelga C, Scalbert A.** 2000. Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutritions and health. *J. Sci. Food Agric.*, 80: 1094-1117.
- Schlesinger M, Broman I, Lugassy G.** 1996. The complement system is defective in chronic lymphitic leukemia patients and in their healthy relatives. *Leukemia*, 10 (9): 1509-1513.
- Sherman DS, Fish DN.** 2000. Mangement of protease inhibitor-associated diarrhea. *Clin. Infects Dis*, 30 (6): 908-914.
- Sidwell RW, Huffman JH, Moscon BJ, Warren RP.** 1994. Influenza viurs-inhibitory effects of intraperitoneally and aerosol-administeres SP-303, a plant flavonoid. *Chemotherapy*, 40 (1): 42-50.
- Song W-C, Sarrias MR, Lambris JD.** 2000. Complement and innate immunity. *Immunopharm.*, 49: 187-198.
- Spencer C, Cai Y, Martin R, Gaffney S, Goulding P, Magnolato D, Lilley T, Haslam E.** 1988. Polyphenol complexation. Some thoughts and observations. *Phytochemistry*, 27: 2397-2409.
- Tempesta MS.** 1993. Proanthocyanidin polymers having antiviral activity and methods of obtaining same. United states patent. 5,211,944.
- Ubillas, R, Jolad RC, Kermnan MR, King SR, Sesin DF, Barret M, Stoddart CA, Flaster T, Kco J, Ayala F, Meza E, Castañel M, McJeekin D, Rozhov E, Tempesta MS, Barnard D, HuffmanJ, Smeed D, Sidwell R, Joike K, Brazier A, Safrin S, Orlando R, Kenny PTM, Berova N, Nekanishi K.**1994. SP-303, an antiviral oligomeric proantocyanidin form de latex of *Croton lechleri* (Sangre de Drago). *Phytomedicine*, 1: 77-106.
- Vaisberg A, Milla M, Planas M, Cordova J, de Agusti E, Ferryra R, Mustiga M, Carlin L, Hammond G.** 1989. Taspine is the cicatrizant in Sangre de Drago extracted form *Croton lechleri*. *Planta Med.*, 55: 140-143.
- Vlietinck A.J, Dommissie R.A.** 1985. Advances in Medicinal Plant Research. Wiss. Verlag; Stuttgart, Germany.
- Wagner H, Kraus S, Jurcic K.** 1999. Search for potent immunostimulating agents from plants and other natural sources. En *Immunomodulatory agents from plants*. Progress in Inflammation Research, ed. by Wagner H (Birkhäuser): 1-39.
- Wagner H.** 1987. Immunostimulants from higher plants (recent advances). In *Biologically active natural products*. Edited by Hostettman and Lea. Claredon Press-Oxford: 127-141.
- Whaley K, Schwaeble W.** 1997. Complement and complement deficiencies. *Semin. Liver Dis.*, 17 (4): 297-310.
- Wyde PR, Ambrose MW, Meyerson LR, & Gilbert BE.** 1993. The antiviral activiy of SP-303, a natural polyphenolic polymer, against respiratory syncytial and parainfluenza type 3 viruses in cotton rats. *Antiviral Res.*, 20 (2): 145-154.