

Estudio toxicológico y teratogénico del extracto metanólico de *cinnamomun zeylanicum* (canela).

Huamán, S*; Hurtado, H*; Kong, V*; León, C*; León, D*; Lister, P*; Miñano, K*; Orrego, F*; Santillán, L*; Sánchez, M*; Vargas, E*.

Asesores: Dr. Benjamín Castañeda**; Mgs Lucy Ibáñez**

RESUMEN

Se realizó el estudio fitoquímico, toxicológico agudo y citotóxico del *cinnamomum zeylanicum* (canela). Para la determinación de la DL50 se utilizaron 30 ratones albinos, cuyos pesos oscilaron entre 25 y 30 gr., siguiendo el método de Probits. Igualmente se determinó la concentración letal media (CL-50) en artemia salina. La actividad citotóxica y teratogénica fue evaluada en huevos de Tetrapygus Níger (erizo de mar). Nos permite concluir, siguiendo los criterios de William, que el extracto metanólico de la canela es ligeramente tóxico y posee efecto citotóxico frente al erizo de mar, no evidenciándose efecto teratogénico, a las dosis empleadas.

Palabras claves: *Cinnamomum ceylanicum*, actividad citotóxica, artemia salina.

* Alumnos de la Facultad de Medicina USMP

** Director del Instituto de Investigación

SUMMARY

We have performed a Phytochemic. Toxicologic and Cytotoxic study , of *Cinnamomum zeylanicum* (canela) in laboratory. We have determinated the letal 50-doses (DL50) in mice, the letal middle concentration (CL_50) in *Artemia salina* and the cytotoxic and teratogenic effect on *Tetrapygnus niger* eggs (sea Hedgehog)

We may conclude following the William Criteria that the metanolic extract of canela is lightly toxic and it has cytotoxic effects on sea Hedgehog at the doses studied.

Key words: *Cinnamomum ceylanicum*, Cytotoxic activity, *Artemia salina*.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos muy antiguos el hombre ha utilizado a la planta como medio terapéutico para minimizar las dolencias que le causan las diversas enfermedades.

Dentro del arsenal de plantas utilizadas, encontramos la canela (*cinnamomun zeylanicum*), la cual, por sus propiedades atribuidas: antidiarreica, antriartrítica, estimulante del apetito, para trastornos gastrointestinales (flatulencia, dispepsia y meteorismo), antimicrobiano frente a bacterias y hongos, es utilizada en forma empírica, ya que no son reconocidas científicamente muchas de estas propiedades mencionadas.

Hoy en día esta planta no ha dejado de ser utilizada, pero su empleo se limita al aspecto culinario y aromático, más que como planta medicinal.

Estos aspectos nos motivaron a profundizar las propiedades antimicrobianas de la canela, basados en un trabajo previo, cuyo resultado fue muy satisfactorio y donde demostramos su actividad antimicótica y antibacteriana (en bacterias Gram +) *in vitro*. Con la eventual posibilidad del uso clínico, de la canela, es necesario considerar otros estudios, entre ellos el de su toxicidad y potencial teratogénico.

El presente trabajo tiene como una de sus finalidades determinar la toxicidad de la canela, basándonos en dos tipos de ensayos, estandarizados por la comunidad científica (CYTED).

El primer ensayo consiste en establecer la toxicidad aguda, en ratones, determinando la dosis letal media o DL50.

La citotoxicidad fue evaluada en *Artemia salina*, mediante la determinación de la concentración letal media o CL50, correlacionándola, posteriormente, con la DL50 en ratones, a efectos de darle mayor veracidad. Asimismo, evaluamos el grado de teratogenicidad que pudiera tener la canela; para lo cual realizamos un bioensayo en huevos fecundados de *Tetrapygnus Níger* (erizo de mar). Esta técnica aún no ha sido estandarizada y la utilizamos con la finalidad de establecer una estandarización y determinar su utilidad en los estudios farmacológicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Preparación de extracto.

En la preparación del extracto metanólico se utilizó dos kilos de corteza de canela, dos litros de metanol y placas petri. Al polvo obtenido, luego de triturar la canela y cernirla, se le añade el metanol; se deja secar por siete días, en cantidad de 40 ml y se deja evaporar; se raspa el precipitado y es estabilizado.

Estudio fitoquímico.

Recolección y preparación de la muestra. La especie vegetal utilizada fue el *cinnamomun zeylanicum* (canela), cuya corteza se obtuvo de un mercado local. El material seco se trituró y tamizó, hasta que quedara como polvo fino.

Preparación de extractos. Se prepararon cuatro extractos diferentes, cada uno con 10 mg del material en polvo disuelto en distintos solventes, el primero en agua destilada, el segundo en metanol, el tercero en cloroformo y el cuarto en etanol al 96%; todos en una dilución del 10%, los cuales fueron refrigerados por una semana.

Análisis fitoquímico y lectura.

Se realizaron pruebas de coloración y/o precipitación en cada uno de los extractos obtenidos, realizando la lectura fotoquímica de acuerdo a los diferentes reactivos utilizados. Para evaluar Alcaloides se utilizaron los reactivos Dragendorf, Mayer, Wagner, Popoff, para evaluar los Taninos se utilizaron los reactivos: Gelatina, Acetato de Plomo, Dicromato de Potasio. Así como también para evaluar Fenoles: Cloruro férrico; Flavonoides: Reactivo de Shinoda, Esteroides: Reactivo de Lieberman; Saponinas: Agua destilada y Azúcares con el Reactivo de Fehling.

Técnica de acondicionamiento de la artemia salina en el laboratorio.

Adultos.

Materiales utilizados: Pecera de vidrio de 15x29x19, tanque de oxígeno, focos de luz, artemia salina y algas como alimento.

Metodología. En el laboratorio se preparó agua de mar, disolviendo 3.8 gramos de cloruro de sodio en 100 ml de agua destilada (según técnica del CYTED). Se condicionó el equipo con el oxigenador y las luces, con agua de mar, algas y artemia salina.

Nauplius de Artemias (huevos).

Materiales: Los mismos utilizados, anteriormente, en adultos, Erlenmeyer, agua salada preparada en el laboratorio, huevos de artemia: Marca BRINE SHRIMP EGGS.

Distribuidor San Francisco Bay Brand Inc.
239 Enterprise Drive, Newark, Ca 9450.
Medio nutritivo: Levadura fresca.

Metodología (según Cyted). Colocamos 50 Mg. de huevos de artemia salina en un Erlenmeyer con 350 ml de agua salina; colocamos en un lugar iluminado, conectando una bomba de oxígeno con burbujeo lento.

Determinación de porcentajes de eclosión en artemia salina.

Materiales: Huevos de artemia salina, agua salada preparada en el laboratorio, placas petri.

Metodología: Agua salada preparada según Cytec; se colocan 20 huevos de artemia salina en cada petri, por triplicado, y se les pone iluminación por 24 horas; al término del cual se cuentan los huevos eclosionados y se saca un porcentaje.

Bioensayo de toxicidad en artemia salina.

Se realizó según la técnica estandarizada por la Cyted: Programa Iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo. La toxicidad se expresa como CL50 (concentración letal 50).

Materiales: Extracto metanólico de canela, huevos de artemia salina, equipo para acondicionamiento

de artemia, agua de mar, viales, DMSO, micro pipetas, levadura .

Metodología:

Día 1: Preparación y filtrado de agua salada. Colocación de 50 mg de huevos de artemia salina en un Erlenmeyer conteniendo 350 ml de agua salada; conexión de una bomba de oxígeno a burbujeo lento.

Día 2: Transferencia de la mayor cantidad posible de nauplius vivos a otro Erlenmeyer conteniendo agua salina fresca.

Día 3: Disolución de 60 mg de extracto metanólico de canela en 6 ml de solvente, de la siguiente forma:

1. Las muestras apolares (canela) se disuelven en 15mg de DMSO y en 5ml de agua destilada (hace un total de 2ml). A partir de esta solución se preparan diluciones de 1, 10, 100, 250, 500 y 1000 ppm, transfiriendo 0.5, 5, 25, 50, 125, 250 y 500 microlitros respectivamente. Son tres viales por cada concentración (21 en total). Se controla cada muestra; si la muestra es apolar agregamos DMSO al control.

2. Los nauplius están listos para el ensayo. A cada vial se le agrega 10 nauplius (30 nauplius por dilución) y la dilución del extracto requerida. Luego se agrega agua de mar hasta completar 5ml por vial. A cada vial se le agrega, además, una gota de suspensión de levadura (3mg de levadura seca disuelve en 5 ml de agua de mar, como alimento).

Nota: Los nauplius pueden ser utilizados entre 48 a 72 horas de iniciada la incubación; a las 72 horas deben ser descartados.

Día 4: Después de 24 horas se cuenta y anota el número de sobrevivientes en cada dilución. Se analizarán los datos con un programa estadístico para determinar valores de CL50.

Toxicidad aguda.

Determinación de la dosis letal 50.

La prueba más común de toxicidad aguda involucra la determinación de la dosis letal media DL50 del compuesto en estudio, mediante el método de los probits. Utilizamos 30 ratones albinos cuyos pesos oscilaron entre 25 y 30 gr.

Determinamos el grado de toxicidad, siguiendo los criterios de William (1985).

Actividad teratógena de la canela en huevos fecundados de *tetrapygnis niger* (erizo del mar).

Modificaciones en el desarrollo embrionario pueden deberse a factores medioambientales que pueden afectar e incluso detener el desarrollo del erizo de mar. La sensibilidad de este modelo biológico permite utilizarlo para detectar una posible actividad teratógena de los principios activos de la canela.

Materiales: Erizos de mar (*tetrapygnis niger*), agua de salina (500ml), papel filtro, viales, portaobjetos y cubreobjetos, plataforma para placas petri (410x210x40), beakers, pipetas Pasteur, embudos de vidrio, microscopio compuesto, extracto metanólico de canela.

Método

1. Fecundación: Para la fecundación se colocan los erizos adultos en placas petri (previa disección y reconocimiento de gónadas); se tomará el espermatozoide con la pipeta Pasteur, evitando una posible contaminación, utilizando una jeringa y aguja. Se toman las gónadas y se colectan los ovocitos granates para depositarlos en un beaker con 200 ml de agua salina helada (10°C - 12°C); las gónadas se agitan suavemente para lograr su liberación. Se lavan los ovocitos y se decanta el agua sobrenadante y reemplazándola con agua de mar helada fresca. Este procedimiento servirá para remover fluidos celómicos, espinas rotas y restos de superficie del cuerpo, en el agua. Los ovocitos lavados están listos para la fertilización. Se requiere las gónadas femeninas de dos erizos de mar. Los espermatozoides activos, a diferencia de los huevos, son viables sólo por un tiempo limitado en agua de mar. En una placa petri se colocan las gónadas masculinas de dos erizos de mar (de preferencia colocar las gónadas completas, sin maltratarlas).

Añadir al beaker que contiene los 200ml de agua de mar filtrada más los ovocitos, 300ml de agua de mar doblemente filtrada para completar a 500ml, asimismo se le añadirá dos gotas de los espermatozoides obtenidos de la placa petri. Agitar para que ocurra la fecundación. La fecundación se comprueba mediante la observación, al microscopio, de la membrana de fertilización. Se realiza un segundo lavado, retirando 200 ml de la mezcla y agregando nuevamente 200ml de agua doblemente filtrada.

Trasladar 1 ml de esta última solución con huevos fecundados a cada uno de los viales.

Solución con Canela:

Pesar 100mg del extracto de canela y diluir en 1ml de agua de mar doblemente filtrada, adicionando 10 ul de disolvente apolar, DMSO. A partir de esta solución stock, se toma: 25ul, 50ul, 100ul, y 200ul, y se añade, por triplicado, a cada uno de los viales que deberán contener 1ml de agua de mar doblemente filtrada y que contengan los huevos fecundados de los erizos de mar; lo que determinará concentraciones de 2,500 ppm, 5,000 ppm, 10,000 ppm y 20,000 ppm, respectivamente.

Los controles son de dos tipos: controles positivos, donde cada vial contendrá 1ml de agua de mar doblemente filtrada, con huevos fecundados de erizo de mar y 5 ul de DMSO, y controles negativos, que sólo contendrán 1 ml de agua de mar doblemente filtrada.

Marcar los viales con las concentraciones respectivas del extracto de la planta realizando este procedimiento por triplicado. Dejamos como control el beaker con los huevos fecundados a temperatura ambiente y con oxigenador. Los viales con las diferentes concentraciones de extracto serán colocados en una plataforma con oxigenación permanente (agitador mecánico) y en un ambiente a temperatura de 15°C. Luego de 24 horas contabilizar cien individuos seleccionados al azar de cada vial con la ayuda de un microscopio compuesto, indicando en que estadio de desarrollo se encuentran. Los resultados son evaluados con el programa de análisis estadístico Stata 7.0, para poder determinar el nivel de significancia.

RESULTADOS

Identificación taxonómica de la especie vegetal evaluada.

La identificación taxonómica de la planta estudiada, la canela, fue realizada por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y corresponde a la constancia N° 067-USM-02 y es la siguiente:

DIVISIÓN:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE:	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE:	MAGNOLIIDAE
ORDEN:	LAURELES
FAMILIA:	LAURACEAE
GÉNERO:	Cinnamomun
ESPECIE:	Cinnamomun zeylanicum
N.V:	canela

Análisis fitoquímico de *cinnamomum zeylanicum* (canela).

Cuadro 1

Metabolitos secundarios	Extracto acuoso	Extracto de metanol	Extracto de cloroformo	Extracto con etanol
Taninos	++	++	-	++
Aminoácidos libres y grupos aminos	-	-	-	-
Compuestos fenólicos	+++	+++	-	+++
Flavonoides -	-	+++	+	+
Triptenoides y esteroides	+	+++	++	+++
Naftoquinonas Antroquinonas	+	+++	-	++
Alcaloides	+++	+++	-	+++
Autocianinas, flavonoides catéquicos	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-
Azúcares	++	+++	-	-

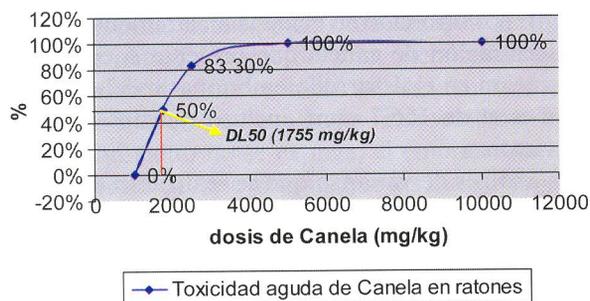
Reacción leve +
 Reacción moderada ++
 Reacción marcada +++

En mayor proporción compuestos fenólicos, alcaloides, azúcares, flavonoides, triterpenoides y esteroides, naftoquinonas y antroquinonas y en menor proporción taninos, no evidenciándose la presencia de aminoácidos libres, ni presencia de grupos amino, por otro lado, no se identificó presencia de saponinas, catequinas y antocianinas.

Toxicidad aguda en ratones.

Gráfica 1

Toxicidad aguda de Canela en ratones



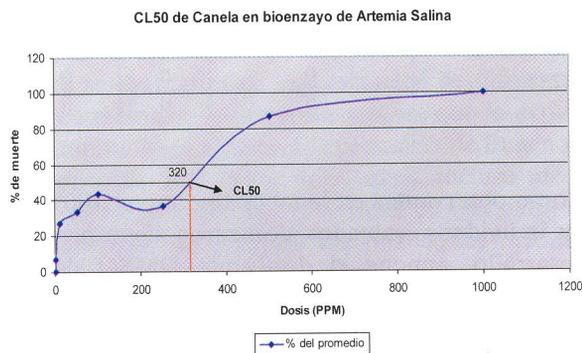
Mediante la gráfica de curva se pudo determinar la dosis letal media (DL50) probable, resultando esta 1750mg/Kg de peso, lo cual nos indica según la escala de William, que el extracto metabólico de canela resulta ser ligeramente tóxico.

Bioensayo de toxicidad en artemia salina.

Antes de determinar la toxicidad de la canela frente a las artemias salinas, se determinó el porcentaje de eclosión de los quistes de artemia salina, en el cual se obtuvo un porcentaje de eclosión de 55%, porcentaje que evidencia la buena calidad de la artemia salina con la que se realizó el ensayo.

Luego de seguir la técnica, se determinó mediante la gráfica de la curva que la concentración letal media (CL50) probable de canela es de 320 partes por millón (ppm), lo que es igual a decir 320ug/ml, lo cual nos indica que la canela tiene actividad tóxica. (Valores menores de 1,000 ppm se consideran con actividad tóxica).

A continuación se observa gráficamente la determinación del CL50.



El análisis de nuestros resultados por método de los Probis . Ver. 1.63 (Finney, D. J. (1978) Statistical Method in Biological Assay), determinó que la CL50 en cada caso es como se muestra en la siguiente tabla.

Prueba	CL 50	Rangos al 99% de confianza
1	349	103 - 573
2	367	103 - 596
3	401	113 - 645
Promedio	372	106 - 605

Estos resultados coinciden con el anterior, puesto que con 372 ppm de canela, igual nos indica que nuestro extracto tiene bioactividad tóxica.

Actividad teratógena de la canela en huevos fecundados de *tetrapyus niger* (erizo del mar).

Primer ensayo:

Luego de las 24 horas de realizado el ensayo, se realizó el conteo de 100 individuos de cada vial, obteniéndose los siguientes resultados:

Concentración (ppm)	Estadios menores a blástula	blástula	Gástrula
Control negativo	32	29	49
	56	8	36
Control positivo	96	3	5
2500	100	0	0
	100	0	0
	100	0	0
5000	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
10000	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
20000	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0

Como observamos en la tabla anterior, el 100% de los individuos evaluados alcanzaron algún nivel de desarrollo, aunque el disolvente DMSO parece tener algún efecto retardante del desarrollo normal. A 2,500 ppm se pudo observar niveles de desarrollo inferiores a blástula en el total de los muestreados. Las otras concentraciones fueron tóxicas puesto que no se obtuvo ningún individuo vivo.

Estos resultados hacen ver la necesidad de otro ensayo con concentraciones inferiores.

Segundo ensayo:

Se realizó la fecundación de los erizos de mar y a las 24 horas de desarrollo se observó el efecto de canela a distintas concentraciones, como sigue a continuación:

Concentraciones Ppm	Desarrollo menor a blástula (%)	Blástula (%)	Gástrula (%)
Control negativo	(Vial 1)	0	100
	(Vial 2)	0	100
Control positivo	(Vial 1)	0	100
	(Vial 2)	0	100
66.7 ppm	(Vial 1)	0	99
	(Vial 2)	0	96
	(Vial 3)	0	97
○ ppm	(Vial 1)	0	97
	(Vial 2)	0	98
	(Vial 3)	0	80
333.4 ppm	(Vial 1)	100 muertos	0
	(Vial 2)	100 muertos	0
	(Vial 3)	100 muertos	0
490.1 ppm	(Vial 1)	100 muertos	0
	(Vial 2)	100 muertos	0
	(Vial 3)	100 muertos	0

En este ensayo, los controles, positivos y negativos, alcanzaron el estadio de desarrollo de Gástrula.

Las concentraciones de 66.7 ppm y 166.7 ppm presentan efecto teratógeno el cual se evidencia con el menor desarrollo de algunos individuos muestreados. Las otras concentraciones resultaron ser letales para los huevos fecundados.

Posteriormente se decide hacer un seguimiento de 48 horas de las concentraciones que presentaron el efecto, los resultados fueron los siguientes:

CONCENTRACIÓN (ppm)	MUERTAS	PLUTEUS TEMPRANO	PLUTEUS TARDIO
Control negativo	(Vial 1)	0	100
	(Vial 2)	0	100
Control positivo	(Vial 1)	0	100
	(Vial 2)	0	100
66.7 ppm	(Vial 1)	0	100
	(Vial 2)	0	100
	(Vial 3)	0	100
166.7 ppm	(Vial 1)	0	50
	(Vial 2)	13	40
	(Vial 3)	43	10
333.4 ppm	(Vial 1)	100	0
	(Vial 2)	100	0
	(Vial 3)	100	0

A las 48 horas de observación, los individuos muestreados alcanzan su desarrollo hasta pluteus tardío (tanto en los controles como en el de 66.7 ppm), por otro lado se evidencia claramente que la concentración de canela que presenta o evidencia alteración en el desarrollo embrionario del erizo de mar es el de 166.7 ppm, incluso muchos de ellos murieron.

Los análisis de varianza que se realizaron entre los distintos grupos evaluados, frente a sus respectivos controles, nos permite afirmar que existe una diferencia estadísticamente significativa, entre el grupo control y el de 166.7 ppm, lo cual nos indica que a

esta concentración presenta efecto citostático y teratogénico en el desarrollo del erizo del mar. Esta diferencia se mantiene tanto para los pluteus tempranos como para pluteus tardío.

DISCUSIÓN

Artemia Salina: A efectos de entender mejor y explicar nuestros resultados, consideramos de interés hacer una breve revisión de las características biológicas de la artemia salina; se trata de un pequeño crustáceo que vive en las aguas salobres e hipersalinas de todo el mundo. Se le conoce desde 1755 con distintos nombres como: "verme de sales", "brinde worm", "saltz tiehem", "soferin", "baherel dud" y "fessanwurm". Los anglosajones lo llaman "brinde shriimp", "artemia salina" pero el más conveniente parece ser "camarón de salmuera" (www.artemiasalina.htm). Es la presa viva más adecuada para la alimentación de los estadios post-larvarios de muchas especies de peces y crustáceos marinos. Y en su fase adulta resulta un aporte interesante para multitud de invertebrados y peces.

Estadios de la Artemia Salina



En circunstancias normales las artemias son animales vivíparos, sólomente en situaciones de estrés ponen huevos. Este tipo de situaciones de estrés se da en la naturaleza debido a un incremento de la concentración salina en lagos salados con una evaporación mayor del agua hasta la desecación. Para que el individuo no se extinga, el embrión duerme en la cáscara del huevo hasta que las lluvias proporcionen suficiente agua salada para que las artemias puedan despertarse y pueda empezar un ciclo nuevo. Sus estadios son: huevo, naupliu, metanaupliu y adulto.

En algunas oportunidades, las aguas salinas se colorean de rojo, azul o verde, como consecuencia de la gran cantidad de partículas minúsculas de color marrón (200-300 micras de diámetro) en la superficie de los lagos, los que finalmente son arrojados a la orilla por acción del oleaje; corresponden a quistes secos inactivos, conocidos como "Dave-reiern" (huevos secos), los que se mantienen en estado de "Dispusia" o "Latente" mientras permanezcan secos o bajo condiciones anaeróbicas. Al producirse la inmersión en el agua marina, los quistes se hidratan, se hacen esféricos y dentro de su cáscara el metabolismo del embrión es activado.

En el Perú, hay varios lugares en donde abunda el camarón de salmuera tales como la Laguna de Chilca, situado a 75 kms. de la Carretera Panamericana Sur de Lima; Salinas de Huacho a 115 kms. de la Carretera Panamericana Norte de Lima; Salinas de Cáucato, a 225 kms. de la Carretera Panamericana Sur en unos arenales cercanos a Pisco.

Igualmente, con el propósito de facilitar la discusión del tema, haremos una breve reseña acerca de la canela, que en un estudio realizado, por nosotros, el año 2001, demostramos actividad antimicrobiana frente a *cándida albicans* y, en menor grado, sobre *bacillus thursinensis* y *stafilococos aureus*, las cuales se evaluaron en dos extractos de diferentes concentraciones; la literatura reporta que la actividad antimicótica se debe a la presencia de Eugenol. Es conocida desde hace 4,000 años, incluso mencionada en la Biblia bajo el nombre de Quesiah.

La búsqueda de la canela fue una de las razones determinantes para el descubrimiento de ruta hacia Ceilan y la India, bordeando África, realizada por los portugueses en el siglo XVI. A mediados del siglo XVIII, los holandeses se apoderaron de Ceilan y monopolizaron el comercio mundial de la canela durante 200 años. A ellos se debe también que se empiece a cultivar de modo sistemático en occidente, como en Malasia e Indonesia, así también en la India, Madagascar y en regiones de Sudáfrica. Esta especie es oriunda de Ceilan, de allí el nombre *cinamomun zeylanicum*.

La planta pertenece a la familia de las lauráceas que crece hasta 20 metros de altura, de ramaje tetragono, recubierto de una corteza amarilla y aromática de sabor picante y dulce.

El canelo ha sido largamente investigado en diferentes laboratorios. Se trata de una planta tipo de principios activos, de los cuales el primero reconocido fue la vitamina C. Esta vitamina se encuentra

en mayor cantidad en la corteza del árbol y alcanza concentraciones superiores a los frutos del naranjo y del limonero. El aceite esencial, hasta un 4% en la corteza, contiene cinamaldehído (60 a 75%), cinamil acetato, cinamil alcohol, cinamaldehído, eugenol y metil eugenol. El aceite de las hojas tiene casi 80% de eugenol y otras sustancias.

Algunas de las propiedades reconocidas a la canela se atribuyen al cinamaldehído como hipotensor, espasmolítico e incrementa el flujo sanguíneo periférico; inhibe las enzimas de la ciclooxigenasa y de la lipoxigenasa en el metabolismo del ácido araquidónico (14), (16), (24), (25). El aceite de corteza y sus extractos presentan actividad antifúngica antibacteriana y antiviral y aumentan la actividad de la tripsina. El aceite de la hoja es antiséptico y anestésico gracias a su alto contenido de eugenol (14), (15).

Tradicionalmente se ha usado como: estimulante del apetito, carminativo, antiséptico, espasmolítico, emenagogo, antidismenorreico. Se le atribuyen propiedades afrodisíacas, antirreumáticas y antidiarreas (14), (15).

En cuanto al análisis fitoquímico, la literatura revisada reporta la presencia de Terpenoides, lo que coincide con nuestros resultados, además mencionan presencia de eugenol y cinnamaldehído, elementos no determinados en el presente trabajo; no encontramos literatura sobre la presencia de Taninos, fenoles, flavonoides, esteroides, naftoquinonas y antroquinonas, alcaloides y azúcares (14), (20), (22), (24), (26).

Los resultados de la evaluación de toxicidad evidencian la actividad tóxica que puede tener el extracto metanólico de canela frente a organismos vivos, ya sea artemia salina o en ratones albinos, lo que debe llevarnos a una utilización cuidadosa de la misma. Asimismo, parece poseer innegable propiedad antimicótica y antibacteriana, como lo demostráramos en un trabajo previo (en prensa) realizado el 2001 y que podría ser motivo de la búsqueda de posibles aplicaciones terapéuticas. Posteriores investigaciones podrían identificar los principios activos responsables de tales acciones.

Uno de los objetivos específicos del trabajo fue determinar algún tipo de correlación entre los dos ensayos de toxicidad utilizados, cosa que se pudo demostrar, ya que tanto en el ensayo de toxicidad aguda en ratones como en el bioensayo en artemia salina, se obtuvieron valores que evidencian bioactividad tóxica; evidenciándose, además, que ambas técnicas son útiles en la evaluación de la toxicidad

de plantas medicinales u otras sustancias; el bioensayo en artemia salina resulta ser bastante económico y de aplicación sencilla, extrapolable a los estudios hechos con animales superiores.

También decidimos determinar la actividad teratogena del extracto metanólico de canela en huevos fecundados de erizo de mar *tetrapygus níger*, cuyos resultados evidencian la actividad teratogena a concentraciones de canela de 166.7 ppm (o ug/ml), si bien el efecto parece ser el de retardar o prolongar los estadios de desarrollo reconocidos (efecto citostático), el simple hecho de que se realice en el proceso de desarrollo embrionario de un ser vivo y que altere de alguna forma el mismo, le da la propiedad de ser teratogeno. No pudimos observar ningún tipo de malformación o alteración estructural de los erizos en desarrollo, pero es claro que resulta ser tóxico en mayores concentraciones.

En el extracto metanólico evaluado, el uso del metanol como solvente no indica tener algún tipo de efecto perjudicial frente a los animales de experimentación, puesto que este fue sometido a evaporación, dejando sólo la canela seca y cristalizada que estaba disuelta en ella. De igual manera el disolvente para sustancias apolares, como la canela, dimetilsulfóxido o DMSO, no tuvo efecto en los animales de experimentación, puesto que los controles que contenían la misma sustancia no mostraron tener ningún efecto en los ensayos.

CONCLUSIONES

La especie vegetal evaluada en el presente trabajo, corresponde al *cinnamomum zeylanicum*, según clasificación realizada por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, cuyo nombre popular es "canela". De dicho estudio podemos colegir las siguientes conclusiones:

1. El análisis fitoquímico demostró la presencia de esteroides, triterpenoides, flavonoides, fenoles, naftoquinonas, alcaloides y azúcares.
2. Los bioensayos de toxicidad aguda, realizados en ratones y artemia salina, y siguiendo la clasificación de William indican que el extracto metanólico de la canela es ligeramente tóxico; evidenciándose una estrecha correlación entre las dos técnicas empleadas.
3. El extracto metanólico de la canela presenta actividad citostática frente al desarrollo embrio-

nario del *tetrapygus níger*, no evidenciándose malformación alguna en los embriones evaluados.

AGRADECIMIENTO

A la magíster en Ciencias Mónica Paredes Anaya y al licenciado en Biología Daniel Sánchez Oré Chávez.

Benjamin Castañeda C.
Facultad de Medicina Humana
Universidad de San Martín de Porres

BIBLIOGRAFÍA

1. NEILANDS, J. B.; ORIAN, G. H. "Harvest of death" [Cosecha de muerte]. Publicado por "Collier-Macmillan Limited", Londres, 1972.
2. http://www.zarc.com/espanol/tear_gases/backgroundsp.html
3. DICKE, J. M. Teratología: principios y práctica. En: Complicaciones médicas durante el embarazo. Clin Med North Am (ed esp);73: 621-636; 1989.
4. RUBIO, B. S.; GARCÍA F. L. Utilización de fármacos durante el embarazo y la lactancia. Farm Hosp.; 17(1): 3-24; 1999.
5. SALVADOR, J.; MARTÍNEZ-FRÍAS, M. L.; RODRÍGUEZ, P. E. Consumo de medicamentos por la mujer embarazada en España. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid, 1989.
6. Grupo de trabajo DUP. Estudio multicéntrico sobre el uso de medicamentos durante el embarazo en España (III). Los fármacos utilizados durante el primer trimestre de la gestación. Med. Clin; 96:52-57; 1991.
7. Grupo de trabajo DUP. Estudio multicéntrico sobre el uso de medicamentos durante el embarazo en España (II). Los fármacos utilizados durante la gestación. Med Clin;96:11-15; 1991.
8. Manual de patología general. Universidad Católica de Chile. 2da Ed. Cap.II: Alteraciones del Medio. 1996.
9. Instituto Superior de Ciencias Médicas de Camaguey "Carlos J. Finlay", Rev. Cubana Plant Med 1(3):9-12, Septiembre, 1996.
10. Plantas Medicinales. <http://www.terra.es/personal/permont/menu.htm>
11. www.queldea.com/gentesana/articulos/index/jsp/modulo/gentesana/articulos/1310/html.
12. <http://www.geocities.com/yerba2001/fichas/cinnamon.html>
13. LEUNG, A.; FOSTER, S. Enciclopedia of Common Natural Ingredients Used in Foods, Drugs, and Cosmetics, 2d ed. New York: John Wiley & Sons, 168-70. 1996.
14. MUÑOS, A. Plantas Medicinales; su utilización, Práctica. 1º Edición, Santa Fe-Bogotá D.C., Agosto 1994.
15. DEAN, K. Plant patents: Cinnamon. Herbalgram; 40:23; 1997.
16. Vademecum de Fitoterapia. <http://www.fitoterapia.net/vademecum/indexp.html>.
17. www.geocites.com/misalud/.
18. www.reforma.com/articulos/052359
19. www.terra.comgt/especiales/medicinatural/canela.html.
20. CYTED. Manual de Técnicas de Investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo; 1995.
21. AQUINO R.; DE FEO, V.; DE SIMONE, F.; DE TOMASSI, N.; PIZZA, C. Flora Officinali dell America latina. Ed. Gutenberg-ancusi S. A. 157 - 159.
22. DE FEO, V. Fitoterapia. Vol. LXIII, Nº 5: 417 - 440; 1992.
23. SOUKUP, J. Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de géneros. Editorial Salesiana. Lima; 1987.

24. Evaluación de la actividad in vitro de extractos de *Cinnamomun zeylanicum* (Canela). Por publicar. Kong W, V.; Huamán S, A.; León S, D.; Orrego T, F.; Lozada V, J.; Huapaya Y.; Chauca C, J.; Ibáñez V, L.
25. Apuntes de medicina tradicional
Fernando Cabieses. CONCYTEC 1993
26. PAHLOW, M.
El gran libro de las plantas medicinales; Editorial Everest. 9a Edición. 1996
27. Industria Farmacéutica. Tomo I; Universidad de Lima. Facultad de Ingeniería Industrial. Edición Alción S. A. N°1; 1987.
28. BRACK EGG, A.
Diccionarios enciclopédicos de plantas útiles del Perú; junio 1994.
29. Vegetales: alimentos, medicamentos y belleza. Sistema de información científica Antonio Raimondi. Primera Edición. Q.F. Sánchez, Poma, Peralta, López; 1995.
30. FERNÁNDEZ-POLA CUESTA, J.
Plantas Medicinales. Editorial Omega, 1994.
31. BAND, S. C; CRISÓSTOMO, V. L.; ARREDONDO, V.
Valor nutritivo de tres microalgas sobre una cepa regional de "Artemia". Primer encuentro sobre Investigación y Desarrollo Costero: Guerrero, Oaxaca y Chiapas. Universidad del Mar. Pto. Angel, Oax. 14-16 de noviembre 1996
32. CASTRO, M. J.; MALPICA, S. A.; RODRÍGUEZ, G. S. A., CASTRO, B. R. y DE LARA, A. R.
Análisis morfométrico de la "Artemia" spp. En la salina "Las Coloradas", Oaxaca, México. Oceanología 2,6.117-128. 1995.