

Brugmansia: Una especie promisoría para la producción de alcaloides del tropano

Lucía Arteaga de García¹
Margarita Perea²
Ma. Teresa Reguero¹

RESUMEN

Se hace una recopilación de los trabajos de investigación que se han realizado sobre el género *Brugmansia*, que resulta de gran interés por su potencial utilización como materia prima para la obtención de alcaloides del tropano a nivel industrial. Además de la perspectiva histórica sobre estas plantas, se plantean los estudios fitoquímicos y las investigaciones que se han adelantado en el campo de cultivo de tejidos "in vitro" para la obtención de estos alcaloides en porcentajes más altos que en la planta cultivada, utilizando como material de partida distintas variedades de *Brugmansia* que se localizan en el territorio colombiano.

SUMMARY

In this paper, a review of the research work of the genus *Brugmansia*, of great importance because its potential as industrial source of tropane alkaloids, is made. In addition to the historic perspective on these plants, phytochemical studies as well as "in-vitro" tissue cultures studies in order to obtain the alkaloids in a major proportion than in the cultivated plants, are reported. The vegetal material used in these assays was several genus of *Brugmansia* found in Colombia.

PERSPECTIVA HISTORICA.

Desde hace varios siglos se conocen y utilizan las plantas pertenecientes a la familia Solanaceae por sus propiedades venenosas. A esta familia pertenecen especies como:

¹ Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Apartado Aéreo 14490. Santafé de Bogotá. COLOMBIA

² Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Apartado Aéreo 14490. Santafé de Bogotá. COLOMBIA

Atropa, *Brugmansia*, *Datura*, *Duboisia*, *Hyosciamus*, *Mandragora* y *Scopolia* entre otros. Se sabe que durante la Edad Media la belladona fué utilizada por los envenenadores para producir enfermedad y muerte. Lineo, en 1753, le dió al arbusto el nombre científico de *Atropa belladonna*. El nombre de belladona (bella dama) se debe al uso que hacían las mujeres romanas, del jugo de esta planta como cosmético, específicamente por su poder de dilatación de la pupila y *Atropa* deriva de la palabra "Atropos" dios griego "Atros", que corta el hilo de la vida (1).

Otro género relacionado perteneciente a esta familia es el género *Datura*, usado tanto en el viejo como en el nuevo mundo, en los ritos mágico-religiosos por sus efectos narcóticos. Existen evidencias que antes del descubrimiento de América, se utilizaba la *Datura metel* en Arabia e India. Según Abu Mansur (médico árabe del siglo X) a esta planta se le asignaban otros usos medicinales. También es conocido que las sacerdotisas del oráculo de Delfos, entraban en trance, cuando interpretaban el oráculo, bajo la acción de un preparado a base de *Datura*. La *Datura sanguinea* era utilizada por los aborígenes americanos como excitante y narcótico según los escritos del Barón de Humboldt. (2)

De acuerdo con el padre Cobo, en su Historia del Nuevo Mundo (1653), las hojas de *Datura stramonium* eran empleadas por los indígenas americanos en el tratamiento de las fracturas de huesos. También se usaron en el Valle del Sibundoy para el reumatismo y por sus efectos psicotrópicos y vermífugos.

En México dan el nombre de "toloache" a un preparado que hacen a base de *Datura*, que es una versión moderna del antiguo término usado por los nahuatl toloatzin que significa "cabeza inclinada" y que hace referencia a la forma del fruto de estas plantas. En esta civilización era utilizada no sólo en las ceremonias religiosas como alucinante, sino que tenía algunos usos medicinales, específicamente en el tratamiento y alivio de dolores reumáticos y para reducir las hinchazones.

En cuanto al género *Brugmansia* se sabe que era utilizado desde tiempos remotos como alucinógeno. Este empleo quizá

provenza del conocimiento que se tenían de las *Daturas* y que fué traído a tierras americanas por los protoindígenas mongoles a finales del período Paleolítico y durante el Mesolítico. A medida que los primeros pobladores del continente americano migraron hacia el sur, encontraron otras especies de *Datura*, especialmente en México donde fueron utilizadas por los médicos-sacerdotes-brujos con fines terapéuticos. Durante la migración de estas tribus hacia el sur del continente americano, al llegar a los Andes seguramente reconocieron el parecido de las *Brugmansias* con las *Daturas* y fueron utilizadas de forma similar.

Existe escasa información sobre el uso de la *Brugmansia* antes de la llegada de los españoles a estas tierras. El científico francés La Condamine menciona su uso entre los Omaguas del río Marañón. Otra referencia a estas plantas fué hecha por von Humbolt y Bonpland quienes se interesaron en la "tonga" que no es otra que la *Brugmansia sanguinea* de flores rojas y el uso que hacían de ella en ceremonias religiosas (3)

En Colombia las *Brugmansias* fueron usadas especialmente en las regiones Andina y Amazónica, como medicinas y alucinógenos. (3). Es bien sabido que los Chibchas usaron la *Brugmansia sanguinea* en ceremonias religiosas en el templo del sol y para producir un estado de sueño y de inconciencia a las esposas y esclavos de los guerreros que morían, con el fin de enterrarlos vivos con ellos.

Actualmente se conoce con el nombre de 'Burundanga' un extracto obtenido de especies de *Brugmansia* que crecen silvestres en la sabana de Bogotá, utilizando como disolventes gasolina ó cocinol y algunos otros reactivos impuros como ácido sulfúrico, amoníaco, etc. y que contiene principalmente escopolamina. A veces se utiliza el fruto seco y pulverizado adicionado a la comida o bebida con fines delictivos.

ESTUDIOS FITOQUÍMICOS

Las *Brugmansias* se conocen con los nombres de cacao sabanero y es un género que posee varias especies de arbustos y árboles pequeños originarios de Suramérica, principalmente de los Andes.

En cuanto a los estudios realizados en el género *Brugmansia* destacan a nivel internacional los efectuados por Evans y colaboradores (4, 5, 6, 7, 8). En 1952 publica este autor un artículo (5) sobre alcaloides del género *Datura*, sección *Brugmansia*, pero haciendo énfasis que la especie en estudio era *Datura cornigera* Hook y en donde informa la presencia de atropina, escopolamina, hiosciamina, hioscina, noratropina, norhiosciamin, 3 α , 6 β -ditigloiloxitropano, 3 α , 6 β -dihidroxi-

tropano, 7-hidroxi-3, 6-ditigloiloxitropano y 3 α -tigloiloxitropano-6 β -ol. En una segunda publicación en 1966, sobre este mismo tópico, utilizando como modelo en estudio la *Datura sanguinea*, Evans (4) informa sobre los siguientes alcaloides del género *Datura* sección *Brugmansia*: 3 α , 6 β -ditigloiloxitropano; tigloidina; 3 α -acetoxitropano; atropina; apoescopolamina 7-hidroxi-3, 6-ditigloiloxitropano; 6 β isovaleriloxi - 3 α - tigloiloxitropano-7 β -ol; y 3 α -tigloiloxi-6 β -acetoxi- tropano.

Como se puede observar en esta época se consideraba al género *Brugmansia* como una sección del género *Datura*. Es así como el género *Brugmansia* se encuentra íntimamente relacionado con el género *Datura* en lo que se refiere a su morfología y química. La taxonomía y nomenclatura de las especies agrupadas bajo el nombre genérico de *Brugmansia* se trató, durante muchos años, con incertidumbre. Un intenso estudio realizado, en la década del 70, por Loockwod (9) separó el género *Brugmansia* morfológica y biológicamente del género *Datura*. (3)

Existen varios estudios realizados en Colombia sobre esta especie, uno de ellos es una investigación realizada en 1986, (10) sobre el contenido de alcaloides de cuatro especies de *Brugmansia*, se encontró que en algunas de ellas, la cantidad de alcaloides totales supera el 0.25%, lo cual las hace susceptibles de emplearse como materia prima para la obtención de estos alcaloides a nivel industrial. Los resultados obtenidos en esta investigación, se presentan en la Tabla No. 1

TABLA No. 1

ALCALOIDES TOTALES PRESENTES EN BRUGMANSIAS COLOMBIANAS

Especie	Alcaloides totales expresados como atropina (%)
<i>Brugmansia arborea</i>	0.16
<i>Brugmansia aurea</i>	0.17
<i>Brugmansia x candida</i> (R & P)	0.10
<i>Brugmansia sanguinea</i>	0.34

Tomando en consideración que el contenido más alto de alcaloides (0.34%) lo presentaba la *Brugmansia sanguinea*, en este mismo estudio se investigó el contenido de estos alcaloides en diferentes partes. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla No. 2

TABLA No. 2

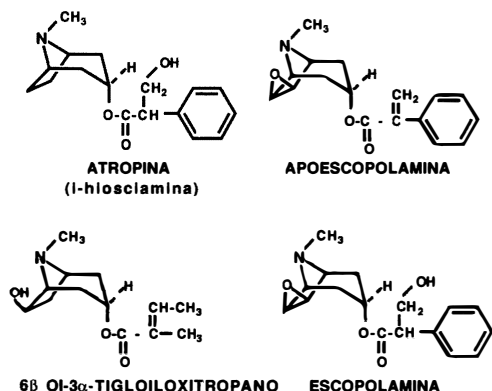
ALCALOIDES TOTALES PRESENTES EN ALGUNOS ORGANOS DE *Brugmansia sanguinea*

Organo	Alcaloides totales expresados como atropina (%)
Hojas	0.34
Tallos	0.15
Frutos verdes (cápsulas)	0.16
Semillas	0.24
Flores	0.38

Es importante destacar que en esta investigación (10) se realizó un estudio comparativo entre *Brugmansias* colombianas y *Daturas* mexicanas, el cual demostró que el contenido cualitativo en ambas especies es similar sin embargo, existen diferencias importantes en el aspecto cuantitativo, ya que en las *Brugmansias* el alcaloide principal es la escopolamina, mientras que en las *Daturas* es la atropina.

La *Brugmansia sanguinea* es un arbusto que crece en todos los climas y regiones de Colombia, estando especialmente distribuida en la región andina.

En otro estudio efectuado en Colombia, (11) sobre *Brugmansia sanguinea*, se encontró que, en las partes aéreas de la planta, se encontraban presentes seis alcaloides, lo cual fué puesto de manifiesto por cromatografía en capa delgada. El contenido total de alcaloides informado en este estudio fué de 0.26%. De estos alcaloides se pudieron aislar cuatro, utilizando la metodología informada en la USP XIX (12) y posteriormente fueron purificados a través de cromatografía en columna los cuales fueron identificados y caracterizados por sus constantes físicas, espectroscópicas y cromatográficas. El resultado de esta investigación arrojó como principales alcaloides: apoescopolamina, escopolamina, atropina y 3 α -tigloiloxi-tropano-6 β -ol. Las estructuras de estos compuestos se muestran a continuación:



Las *Brugmansias* son arbustos que crecen abundantemente en la región Andina y son fuente de alcaloides del tropano principalmente escopolamina y atropina. Estos alcaloides constituyen los principios activos de diversos Sistemas de Entregade Fármacos (SENF) utilizados como anticolinérgicos.

CULTIVO DE TEJIDOS

Además de los estudios eminentemente fitoquímicos, existen numerosas investigaciones sobre la biosíntesis y producción de alcaloides del tropano a partir de cultivo de tejidos, efectuados principalmente utilizando el género *Datura*. Los resultados obtenidos indican que se produce una cantidad menor de alcaloides por las técnicas "in vitro" que las que se obtienen del material vegetal de campo.

Chan y colaboradores en 1965, (13) realizaron un estudio sobre la producción de alcaloides en callos y células en suspensión de *Datura*. Los resultados obtenidos, en cuanto al contenido de alcaloides, en los callos obtenidos de semillas de *Datura innoxia* y *Datura stramonium* fueron de 0.05% y 0.15% respectivamente. Los callos de tejidos de hojas de *Datura stramonium* contienen 0.006% de alcaloides a los ocho meses y de 0.021% a los once meses. La adición de precursores al medio, tales como clorhidrato de ornitina y clorhidrato de fenilalanina (0,1 y 0,2%) produce un contenido superior de alcaloides tomando como referencia el medio sin adición de precursores. La hiosciamina es el principal alcaloide encontrado en las células en suspensión.

Netien y Combet en 1966, (14) encontraron que el contenido de alcaloides en los callos de segmentos de tallos de *Datura metel* de un año de edad, era de 0.0056% con relación al peso húmedo.

Durante 1968, Staba y Jindra (15) iniciaron estudios tendientes a dilucidar el efecto de la iluminación sobre cultivos de callos de semillas de *Datura stramonium* y *Datura innoxia*. La conclusión a la que llegaron fué que los tejidos que contenían clorofila crecían más rápidamente, así mismo encontraron que al adicionar al cultivo manganeso (14 ppm) se promovía la producción de alcaloides como: cuscohigrina, colina y pseudotropina.

En otros estudios conducidos por Romeike y Koblitz (16) se informa acerca del contenido de alcaloides en callos de *Datura stramonium* (5 años) y de callos obtenidos a partir de tallos de *Datura metel* (19 meses) era de 0.0026% y 0.00185% respectivamente.

A partir de callos obtenidos de hojas y semillas de *Datura stramonium* y *Datura innoxia* Konoshima y colaboradores (17) llegaron a la conclusión que en contenido de alcaloides

TABLA No. 2

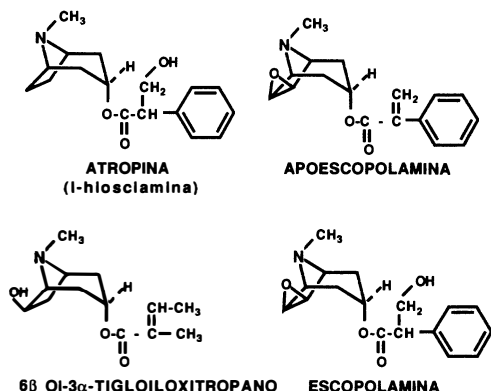
ALCALOIDES TOTALES PRESENTES EN ALGUNOS ORGANOS DE *Brugmansia sanguinea*

Organo	Alcaloides totales expresados como atropina (%)
Hojas	0.34
Tallos	0.15
Frutos verdes (cápsulas)	0.16
Semillas	0.24
Flores	0.38

Es importante destacar que en esta investigación (10) se realizó un estudio comparativo entre *Brugmansias* colombianas y *Daturas* mexicanas, el cual demostró que el contenido cualitativo en ambas especies es similar sin embargo, existen diferencias importantes en el aspecto cuantitativo, ya que en las *Brugmansias* el alcaloide principal es la escopolamina, mientras que en las *Daturas* es la atropina.

La *Brugmansia sanguinea* es un arbusto que crece en todos los climas y regiones de Colombia, estando especialmente distribuida en la región andina.

En otro estudio efectuado en Colombia, (11) sobre *Brugmansia sanguinea*, se encontró que, en las partes aéreas de la planta, se encontraban presentes seis alcaloides, lo cual fué puesto de manifiesto por cromatografía en capa delgada. El contenido total de alcaloides informado en este estudio fué de 0.26%. De estos alcaloides se pudieron aislar cuatro, utilizando la metodología informada en la USP XIX (12) y posteriormente fueron purificados a través de cromatografía en columna los cuales fueron identificados y caracterizados por sus constantes físicas, espectroscópicas y cromatográficas. El resultado de esta investigación arrojó como principales alcaloides: apoescopolamina, escopolamina, atropina y 3 α -tigloiloxi-tropano-6 β -ol. Las estructuras de estos compuestos se muestran a continuación:



Las *Brugmansias* son arbustos que crecen abundantemente en la región Andina y son fuente de alcaloides del tropano principalmente escopolamina y atropina. Estos alcaloides constituyen los principios activos de diversos Sistemas de Entrega de Fármacos (SENF) utilizados como anticolinérgicos.

CULTIVO DE TEJIDOS

Además de los estudios eminentemente fitoquímicos, existen numerosas investigaciones sobre la biosíntesis y producción de alcaloides del tropano a partir de cultivo de tejidos, efectuados principalmente utilizando el género *Datura*. Los resultados obtenidos indican que se produce una cantidad menor de alcaloides por las técnicas "in vitro" que las que se obtienen del material vegetal de campo.

Chan y colaboradores en 1965, (13) realizaron un estudio sobre la producción de alcaloides en callos y células en suspensión de *Datura*. Los resultados obtenidos, en cuanto al contenido de alcaloides, en los callos obtenidos de semillas de *Datura innoxia* y *Datura stramonium* fueron de 0.05% y 0.15% respectivamente. Los callos de tejidos de hojas de *Datura stramonium* contienen 0.006% de alcaloides a los ocho meses y de 0.021% a los once meses. La adición de precursores al medio, tales como clorhidrato de ornitina y clorhidrato de fenilalanina (0,1 y 0,2%) produce un contenido superior de alcaloides tomando como referencia el medio sin adición de precursores. La hiosciamina es el principal alcaloide encontrado en las células en suspensión.

Netien y Combet en 1966, (14) encontraron que el contenido de alcaloides en los callos de segmentos de tallos de *Datura metel* de un año de edad, era de 0.0056% con relación al peso húmedo.

Durante 1968, Staba y Jindra (15) iniciaron estudios tendientes a dilucidar el efecto de la iluminación sobre cultivos de callos de semillas de *Datura stramonium* y *Datura innoxia*. La conclusión a la que llegaron fué que los tejidos que contenían clorofila crecían más rápidamente, así mismo encontraron que al adicionar al cultivo manganeso (14 ppm) se promovía la producción de alcaloides como: cuscohigrina, colina y pseudotropina.

En otros estudios conducidos por Romeike y Koblitz (16) se informa acerca del contenido de alcaloides en callos de *Datura stramonium* (5 años) y de callos obtenidos a partir de tallos de *Datura metel* (19 meses) era de 0.0026% y 0.00185% respectivamente.

A partir de callos obtenidos de hojas y semillas de *Datura stramonium* y *Datura innoxia* Konoshima y colaboradores (17) llegaron a la conclusión que en contenido de alcaloides

disminuía cuando se proporcionaba al cultivo una única fuente de nitrógeno. En este mismo trabajo se evaluó la adición de algunos precursores al medio, sin embargo, solamente la adición de ácido DL-trópico a una concentración de 500 mM y de tropina 250 mM presentó algún efecto positivo en el contenido de alcaloides. Los alcaloides derivados del tropano que fueron encontrados en estos callos son: atropina, escopolamina, tropina, apoatropina y otros cinco alcaloides que no pudieron ser identificados.

Cuando se regeneran plantas a partir de cultivo de células de *Datura innoxia*, Hiraoka y colaboradores (18) encuentran un contenido total de alcaloides del 0.33%, comparable con el que se obtiene de materia vegetal normal. Los alcaloides que se informan en este estudio son: hiosciamina, escopolamina y tres alcaloides no identificados. En este mismo género otro autor (19) encontró que el tipo de callo dependiendo si es de raíz, tallo, hoja, etc., influye en el aumento de biomasa. Todos los clones estudiados formaron alcaloides como: hiosciamina y escopolamina. Smorodin (20) utilizando *Datura innoxia* investigó el efecto que presentan diferentes factores físicos sobre el contenido de alcaloides y encontró que se producía mayor cantidad de atropina cuando se incrementaba la presión osmótica del medio, usando sacarosa, 1.6 % de agar y a 25°C.

Otro aspecto que ha sido investigado es el efecto que se produce tanto en crecimiento como en contenido de alcaloides cuando se utilizan diferentes fuentes de carbono como: sacarosa, manosa, glucosa, maltosa y fructosa. El mejor resultado se obtuvo cuando se utiliza sacarosa al 3%. (26,27)

En 1976 Romeike (21) encontró que la adición de ácido trópico al medio que contenía 2, 4-D y tropina, produjo acetiltropina en cultivos "in vitro" de *Datura metel* y *Datura stramonium*. La adición de ácido naftalenacético al cultivo de *Datura innoxia*, condujo a la producción casi exclusiva de atropina.

Otro factor físico que influye en el contenido de alcaloides en los callos procedentes de raíz y hoja de *Datura innoxia* es la luz. Verzar-Petri y colaboradores (22) encontraron un contenido más elevado de alcaloides en la luz que en la oscuridad. Los callos de raíz cultivados en condiciones de luz proporcionaron un contenido de alcaloides totales de 0.039%, mientras que en la oscuridad era de 0.15%. En estos callos se detectaron ocho alcaloides: meteloidina, cuscohigrina, tropina, ácido trópico, teloidina, hiosciamina, escopolamina, 6-hidroxi hiosciamina y norescopolamina.

Algunos autores (23) evaluaron el efecto de la concentración de kinetina y 2, 4-D y la condición de luz y oscuridad sobre el contenido de alcaloides en *Datura innoxia* y encontraron que en las dos primeras semanas el contenido de alcaloides se

incrementa, pero este comienza a decaer a medida que el crecimiento se hace más intenso. Verzar, (22) además evaluó el efecto de estos reguladores sobre callos obtenidos de pétalos y ovarios de *Datura innoxia*.

Lindsey y colaboradores durante 1983 (24) observaron una relación inversa entre la tasa de crecimiento, la diferenciación de las células y la acumulación de las células en cultivo de células de siete especies de plantas pertenecientes a la familia Solanaceae, dentro de las cuales se encontraba *Datura innoxia*. El contenido de los alcaloides disminuía al aumentar el crecimiento y la friabilidad de las células.

Sobre el género *Brugmansia* se realizó en Colombia un estudio (25) sobre la producción de alcaloides en tres especies de brugmansia (*Brugmansia arborea*, *Brugmansia candida* y *Brugmansia sanguinea*) a través de cultivos "in vitro". Los resultados de este estudio indicaron que el mejor tratamiento para la inducción de callos en las tres especies se presentó en la oscuridad, utilizando medio de Murashige-Skoog enriquecido con 2,4-D y kinetina. También se obtuvo organogénesis directa en cada una de las tres especies, utilizando explante de hojas cultivado en medio de Murashige-Skoog con los reguladores de crecimiento kinetina, AIA y BAP. Utilizando la técnica de cromatografía en capa delgada se pudieron detectar en callos de 18 semanas: atropina, escopolamina y otros tres alcaloides. El contenido total de alcaloides en los callos de las *Brugmansias* oscila entre 0.001 a 0.01%.

CONCLUSIONES

El género *Brugmansia* se presenta como uno de los más promisorios como materia prima para la obtención de alcaloides del tropano, específicamente escopolamina y actualmente se continúa la investigación sobre las condiciones "in vitro" que proporcionen un contenido de alcaloides adecuado que permita su utilización para la obtención industrial de estos alcaloides.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tyler, V. E., Brady, L. R. y Robbers, J. E., (1979) "*Farmacognosia*". 2da. Edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires. pág. 203-204
2. Dewolf, J y Gordon, D., (1955), *Baileya* 4 (1), 1-25
3. Shultes, R., and Hofmann, A., "*The botany and chemistry of hallucinogen*". Charles C. Thomas, Illinois, (1980) pág. 264-269
4. Evans, W.C. and Major, V., *J. Chem. Soc.*, 18, 1621-1623 (1966)

5. Evans, W.C. and Pethan, M., *J. Pharm. Pharmacol.*, 14 (31) 147-156 (1952)
6. Evans, W.C. and Lampard, T., *Lloydia*, 32 (2) 123-126 (1969)
7. Evans, W.C. and Major, V., *J. Chem. Soc.*, 22, 2775-2778 (1968)
8. Evans, W.C. et al., *Planta Médica*, 13 (3) 353-358 (1965)
9. Lockwood, J.E., "A taxonomic revision of *Brugmansia*" Tesis PhD. Harvard University. Cambridge, Mass (1973)
10. Reguero, M.T. y García L., *Rev. Mex. de Cien. Farm.*, 16 (5), 17-19 (1986)
11. Almanza, C.P., Barragán, Y.C., "Extracción, separación y caracterización de los alcaloides contenidos en la especie *Brugmansia sanguinea* del altiplano Cundiboyasense" Tesis. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. (1989)
12. *The United States Pharmacopoeia XIX*. Mack Publ. Co. Pennsylvania (1975) pag. 79
13. Chan, W, and Staba, E.J., *Lloydia*, 28, 55-62 (1965)
14. Netien, M.A. and Combet, J., *Compt Rend. Acad. Cien. París*. (1966) pag.262, 1084.
15. Saba, E.J. and Jindra, A., *J. Pharm. Sci.*, 57, 701 (1968)
16. Romeike, A., and Koblitz, G., *Kulturpflanze*, 18, 169-177 (1970)
17. Konoshima, M., Tabata, M., Yamamoto, H., and Hiraoka, N., *Yakugaku Zasshi*, 90, 370-377 (1970)
18. Hiraoka, N., and Tabata, M., *Phytochemistry*, 12, 1671-1675 (1974)
19. Gusev, I.F., *Rast. Resur.*, 9, 168-176 (1973)
20. Smorodin, V. and Bereznogoeskava, P., *Rast. Resur.*, 9, (4) 550-555 (1974)
21. Romeike, A., *Biochem. Physiol.*, 168, (1-4) 87-92 (1976)
22. Verzar-Petri, G., Kiet, D.H., Szoke, E., *Acta Bot. Acad. Scie. Hung.*, 24, 351-361 (1978)
23. Dung, N., Skore, E. Verzar-Petri, G., *Acta Bot. Acad. Scie. Hung.*, 27, (3-4) 325-333 (1980)
24. Lindsey, K., and Yeoman, M., *J. Exp. Bot.*, 34, (145) 1055-1065 (1983)
25. García Gómez, Fernando "Estudio comparativo de la producción de alcaloides en tres especies del género *Brugmansia* mediante el cultivo de tejidos vegetales "in vitro". Tesis. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. (1986)
26. Potoczki, A., Szoke, N., Verzar-Petri, G., *Acta Bot. Acad. Scie. Hung.*, 28, 133-143 (1981)
27. Szoke, N.N., Dung, G., Verzar-Petri, G., Potoczki, A., *Acta Bot. Acad. Scie. Hung.*, 29, 403-410 (1981)