

## **Evaluación tóxica y citotóxica del fruto de *Morinda citrifolia* "noni" cultivada en Perú**

### **Cytotoxic and toxic assessment from the fruit of *Morinda citrifolia* cultivated in Peru**

### **Avaliação tóxica e citotóxicos del fruto de *Morinda citrifolia* "noni", cultivada no Peru**

Edwin Espinoza Gutiérrez<sup>1</sup>, Farath Leto Huayanca<sup>2</sup>, Jorge Arroyo Acevedo<sup>3</sup>,  
Lester Domínguez Huarcaya<sup>4</sup>, Braulio Cisneros Hilario<sup>5</sup>, Cesar Fuentes Ruitón<sup>6</sup>

---

#### **Resumen**

La investigación evaluó la actividad tóxica y citotóxica del fruto de *Morinda citrifolia* "noni" cultivada en Perú. Se extrajo el extracto acuoso y etanólico del jugo del fruto de *M. citrifolia*; se usaron ratas Holtzmann hembras de 170 a 200 g y *Tetrapygnus niger* "erizo de mar". Las ratas se distribuyeron al azar en 3 grupos, el primero recibió solución salina fisiológica 2 mL/kg, el segundo extracto etanólico y el tercero extracto acuoso, ambos a la concentración de 1000 mg/kg, la toxicidad a dosis repetidas se realizó durante 60 días. La citotoxicidad se llevo a cabo en huevos fertilizados de *T. niger* y se consideró variación e inhibición en los estadios de desarrollo. Se evaluó posibles cambios hematológicos, bioquímicos, patológico y peso corporal. En ratas se observó disminución del peso corporal en 7 y 6 %, y ausencia de variación en los parámetros hematológicos, bioquímicos y patológicos. Las dos sustancias evaluadas inhibieron el desarrollo de los huevos fertilizados de *T. niger*. El extracto al ser administrada por vía oral durante 60 días es segura en ratas y posee citotoxicidad en los huevos de *T. niger*.

Palabras clave: *Morinda citrifolia*, toxicidad, bioquímicos.

#### **Abstract**

The research aimed to evaluate the toxic and cytotoxic activity of *Morinda citrifolia* fruit "noni" cultivated in Peru. Aqueous and ethanol extract of the fruit juice of *M. citrifolia* "noni" was removed; Holtzmann 170 female rats were used at 200 g of *Tetrapygnus niger* "sea urchin". The rats were randomized into 3 groups, the first received physiological saline 2 mL/kg, the second and the third ethanol extract aqueous extract, and both the concentration of 1000 mg/kg, repeated dose toxicity was performed for 60 days. Cytotoxicity was held in fertilized eggs of sea urchins and variation and inhibition in the development stages are considered. Possible haematological, biochemical, pathological, and body weight were evaluated. In rats decreased body weight was observed in 7 and 6 % correspondingly, and no variation in haematological, biochemical and pathological parameters. The two tested substances inhibited the development of the fertilized eggs of sea urchins. Under the experimental conditions has been demonstrated that the plant to be administered orally for 60 days is safe in rats and has cytotoxicity in eggs of sea urchin.

Keywords: *Morinda citrifolia*, toxicity, biochemicals.

#### **Resumo**

A pesquisa avaliou a atividade tóxica e citotóxicos del fruto de *Morinda citrifolia* "noni" cultivado no Peru. Extraído do extrato aquoso e etanólico de sumo de fruta de *M. citrifolia*; usado de fêmeas ratos Holtzmann 170 a 200 g e *Tetrapygnus niger* "mar de porco-espinho". Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, o primeiro recebeu soro fisiológico 2 mL/kg, etanol extrato extrato de segundo e terceira aquoso, ambos para o de concentração 1000 mg/kg, toxicidade de dose repetida foi realizado por 60 dias. Citotoxicidade foi realizada em fertilizado ovos de *T. niger* e foi considerada a va-

---

<sup>1</sup> Dirección General Medicamentos Insumos y Drogas. jlarroyoa@gmail.com

<sup>2</sup> Alcon Pharmaceutical S.A.

<sup>3</sup> UNMSM, Facultad de Medicina Humana, Instituto de Investigaciones Clínicas, Lima-Perú.

<sup>4</sup> UNMSM, Facultad de Medicina Humana, Senior Clinical Research Associate en Covance, Lima-Perú.

<sup>5</sup> Universidad San Pedro, Facultad de Ciencias de la Salud.

<sup>6</sup> UNMSM, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Lima-Perú.

riação e a inibição em de estágios de desenvolvimento. Avaliar eventuais alterações hematológicas, bioquímicas, patológicas e peso corporal. Diminuição del peso corporal em 7% e 6% e ausência de variação nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e patológicas foram observados em ratos. As duas substâncias avaliadas inibiu o de desenvolvimento fertilizado ovos de *T. Níger*. El extracto de planta sendo administrada por via oral para 60 dias é seguros em ratos e possuir citotoxicidade em ovos de *T. niger*.

Palabras-clave: *Morinda citrifolia*, toxicidade, bioquímica.

## Introducción

Actualmente los tratamientos con plantas medicinales, demanda que se efectué sobre una base científica que valide la actividad terapéutica y la inocuidad de estas (Nonato, 2001). Los extractos de las plantas constituyen mezclas de sustancias con propiedades toxicas, mutagénicas (Wall, 1993) y carcinogénicas (Ecobichon, 1993); congreso de plantas medicinales de México, 2000), y su uso se correlaciona con la ocurrencia de enfermedades, de ahí el peligro del consumo de plantas medicinales, debido a los escasos datos sobre la acción mutagénica de las plantas medicinales (Popoca, 1998).

*M. citrifolia* “noni” es una especie que pertenece a la familia Rubiáceae, con actividad antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral, antihelmíntica, analgésica, antiinflamatoria, hipotensora e inmunoestimulante (Wang, 2001; Hiramatsu, 1993). Estudios *in vitro* e *in vivo* muestran efectos beneficiosos. Sin embargo, carecen de información clínica y es que en la actualidad no existen resultados de estudios farmacológicos experimentales con relevancia clínica (CYTED, 1995). Se ha reportado casos de hepatotoxicidad; y es probable que sea por uno de sus componentes: las antraquinonas (Mancebo, 2002; Leisther, 1975).

Por lo expuesto la hipótesis fue: el extracto de noni tiene un efecto citotóxico a nivel de las células de los huevos de erizos de mar y no tiene un efecto toxico en ratas. El objetivo fue evaluar el efecto citotóxico del extracto de noni a nivel de las células de los huevos de erizos de mar y el efecto toxico en ratas.

## Material y métodos

Para la evaluación de la toxicidad a dosis repetidas en ratas, la muestra vegetal fue recolectada en la localidad de Achaguay, Provincia de Bagua chica, departamento de Amazonas. Para la preparación del extracto etanólico se licuó el fruto de Noni, filtrándose y obteniéndose 4 litros de jugo, luego fue sometido a maceración con 4 litros etanol al 96% por 7 días en un frasco de color ámbar, luego se filtró, el líquido obtenido se colocó en una estufa con aire circulante a 40° C hasta evaporación del solvente y peso constante. Para la preparación del extracto acuoso se licuó el fruto de Noni y se filtró, 4 litros del filtrado se mezclaron con 4 litros de agua destilada, se agitó por 10 minutos y se dejó en reposo por 24 horas, luego se filtró, el líquido obtenido se colocó en una estufa con aire circulante a 40° C hasta evaporar el solvente. Se evaluó el extracto etanólico de la planta mediante cromatografía para separar los metabolitos. Para la determinación de antraquinonas se realizo la reacción de Bortranger y para la de flavonoides la reacción de Shinoda.

Para la toxicidad a dosis repetidas en ratas, se ejecutaron las pruebas según Mancebo, et al., 2002 y siguiendo las directrices de la OECD para los ensayos de Toxicidad (OECD, 1995; ICH, 1995a; ICH, 1995b; ICH, 1969; Piccirillo, 1999), para lo cual se emplearon 21 ratas albinas de raza Holtzman, hembras de peso promedio 170±200 gr. Los animales fueron observados durante las primeras 24 h, y luego a diario

por 7 días. Se establecieron tres grupos de siete ratas cada uno: grupo 1 (control negativo: agua destilada), grupo 2 (extracto etanólico: dosis 1000 mg/kg) y grupo 3 (extracto acuoso: dosis 1000 mg/kg). El ensayo duró 60 días, administrando a 6 días por semana. Se empleó una sola dosis del extracto: 1000mg/Kg de peso corporal, administrada por vía oral. Se realizaron observaciones de parámetros clínicos a diario, se realizó a los 60 días exámenes de hematología y de química sanguínea para evaluar los parámetros hematológicos, bioquímicos y luego se realizó una necropsia para el examen anatomopatológico.

Para la evaluación citotóxica se recolectó *T. niger* en condiciones naturales, trasladándolos en agua de mar a 10-15° C de temperatura, y llevados en el menor tiempo posible al Laboratorio de Biología Celular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM. Para obtener los gametos se abrió el erizo mediante una incisión en la parte inferior, determinando el sexo del animal, se extrajo los racimos de óvulos de 4 a 5 erizos hembras depositándolos en un beaker con 200 mL de agua de mar (10-12° C), para obtener los huevos se usó un oxigenador para mantenerlos viables, luego se lavo los óvulos para eliminar el tejido celómico, y las gónadas masculinas obtenidas fueron colocadas en refrigeración (Hose, 1985; Jacobs, 1981).

Para la fertilización se agregó a los óvulos una gota de espermatozoides secos, y se agitó para facilitar la fecundación, por microscopía se observa la formación de un halo alrededor del ovocito rodeado por espermatozoides. El extracto se diluyó con agua de mar y trabajó con dos concentraciones: extracto etanólico (0.4 mg, 0.2mg y 0.1 mg/mL) y un extracto acuoso (0.4 mg, 0.2mg y 0.1 mg/mL). Se marcaron los viales con las concentraciones respectivas de cada una de los extractos realizándose este procedimiento por triplicado, a cada vial se agregó 1mL de cada concentración de los extractos obtenidos, luego se añadió 2mL de la suspensión de los ovocitos fecundados.

Los controles fueron de dos tipos un control interno (control negativo) que contenía 1mL de agua de mar filtrada con 2mL de los huevos fecundados y el control externo contenía los huevos fecundados a temperatura ambiente. Los viales con las diferentes concentraciones de cada extracto fueron colocadas en el agitador magnético, a 1000 RPM (revoluciones por minuto) a una temperatura de 15° C  $\pm$  0.1. Se realizaron las observaciones en un estereoscopio hasta que el control negativo llegó a realizar su clivaje, lo cual ocurrió a las 4 horas, las siguientes lecturas fueron a las 24 y 48 horas, y se contabilizó alrededor de 100 embriones por cada vial.

Para medir el nivel de actividad de los extractos se usaron las siguientes categorías de inhibición: 80-100% (actividad fuerte), 60-80%(actividad moderada), 20-60% (actividad media), 1-20% (actividad baja), 0-1% (no hay actividad), (adaptadas de *Zea et al.*, 1986).

Para ambos estudios los datos fueron evaluados a través de la estadística descriptiva expresando en valores medios  $\pm$  error estándar de la media y porcentajes, y por la estadística inferencial considerando un  $p < 0,05$  con la prueba de ANOVA y Comparaciones Múltiples (LSD).

## Resultados

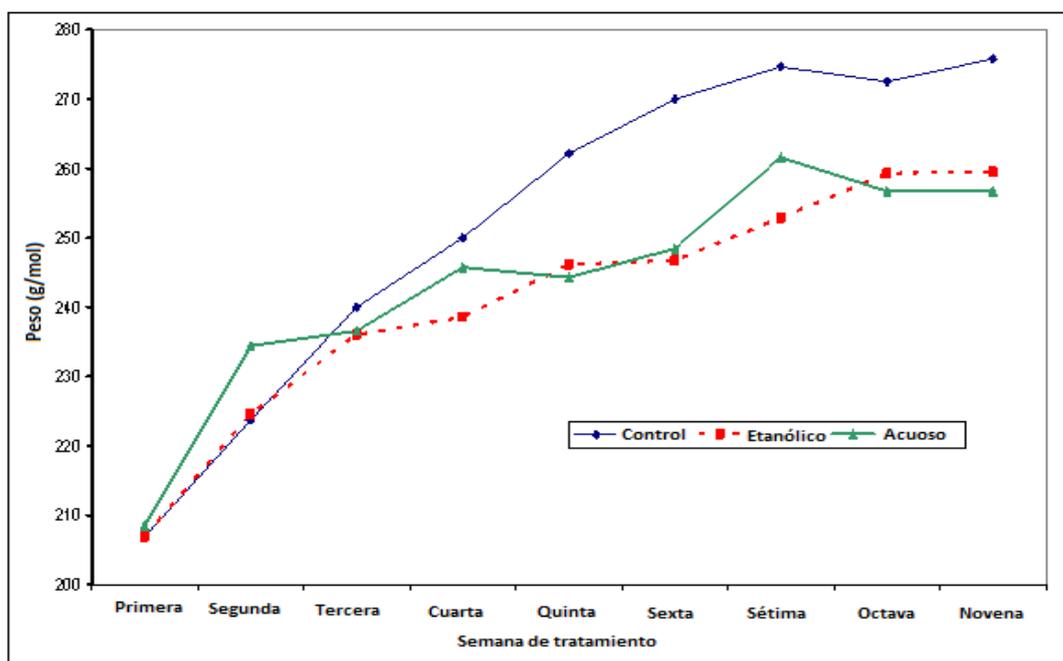


Figura 1. Valores medios de los pesos corporales de las ratas al evaluar la citotoxicidad de *M. citrifolia*.

Tabla 1. Valores medios de las pruebas hematológicas obtenidas al evaluar la toxicidad a dosis repetidas en ratas (n=7).

Pruebas Hematológicas	Tratamientos	Valores medios	DE + EE
Hemoglobina	Normal (SSF)	11.11	2.12 ± 0.8
	Etanólico <i>M. citrifolia</i>	12.06	1.37 ± 0.52
	Acuoso <i>M. citrifolia</i>	11.6	1.96 ± 0.74
Hematocrito	Normal (SSF)	34.71	5.44 ± 2.06
	Etanólico <i>M. citrifolia</i>	37.57	2.57 ± 0.97
	Acuoso <i>M. citrifolia</i>	37.1429	5.87 ± 2.22
Leucocitos	Normal (SSF)	7042.86	2119.64 ± 801.15
	Etanólico <i>M. citrifolia</i>	7914.29	2211.66 ± 835.93
	Acuoso <i>M. citrifolia</i>	6857.14	2324.4 ± 878.54

Donde DE ± EE: Desviación estándar ± error estándar.

Tabla 2. Valores medios de las pruebas de bioquímica sanguínea obtenidas al evaluar la toxicidad a dosis repetidas en ratas (n=7).

Bioquímica sanguínea	Tratamiento	Valores medios	DE ± EE
<b>Colesterol total</b>	Normal (SSF)	172.29	27.46 ± 10.38
	Etanólico <i>M. citrifolia</i>	153.57	33.4 ± 12.62
	Acuoso <i>M. citrifolia</i>	155.29	22.43 ± 8.48
<b>HDL</b>	Normal (SSF)	47	10.65 ± 4.02
	Etanólico <i>M. citrifolia</i>	53.71	10.73 ± 4.06
	Acuoso <i>M. citrifolia</i>	43.29	6.32 ± 2.39

<b>Triglicéridos</b>	Normal (SSF)	121.43	15.6 ± 5.9
	Etanólico <i>M. citrifolia</i>	133.86	23.48 ± 8.87
	Acuoso <i>M. citrifolia</i>	148	28.84 ± 10.9
<b>Glucosa</b>	Normal (SSF)	82.29	13.98 ± 5.29
	Etanólico <i>M. citrifolia</i>	89.43	7.87 ± 2.97
	Acuoso <i>M. citrifolia</i>	89.14	14.55 ± 5.5
<b>Urea</b>	Normal (SSF)	20.57	8.56 ± 3.24
	Etanólico <i>M. citrifolia</i>	22	6.71 ± 2.54
	Acuoso <i>M. citrifolia</i>	17	4.47 ± 1.69
<b>TGP</b>	Normal (SSF)	12.57	1.72 ± 0.65
	Etanólico <i>M. citrifolia</i>	13.57	4.93 ± 1.86
	Acuoso <i>M. citrifolia</i>	14.86	7.1 ± 2.69
<b>Fosfatasa alcalina</b>	Normal (SSF)	115.14	38.75 ± 14.65
	Etanólico <i>M. citrifolia</i>	144.57	19.26 ± 7.28
	Acuoso <i>M. citrifolia</i>	145	16.46 ± 6.22

Donde DE ± EE: Desviación estándar ± error estándar.

**Tabla 3.** Resultados del extracto etanólico y acuoso, sometidos al ensayo de citotoxicidad en embriones de erizos de mar a las 24 horas, de tratamiento. Control 100% vivos.

Fracción	Concentración	Resultados
Etanólico	0,4mg/mL	+ (**)
	0,2mg/mL	+
	0,1mg/mL	v (g)
Acuoso	0,4mg/mL	+ (**)
	0,2mg/mL	v (g/b)
	0,1mg/mL	v (g/b)

Nota: v = vivos, += muertos, g = gástrula, b = blástula, g/b = mayor % de gástrula, b/g = mayor % de blástula. (\*) = Exogastrulación. (\*\*)= Cambios en la coloración del núcleo

**Tabla 4.** Ensayo de citotoxicidad del extracto etanólico y acuoso en embriones de erizos de mar a las 24 y 48 horas.

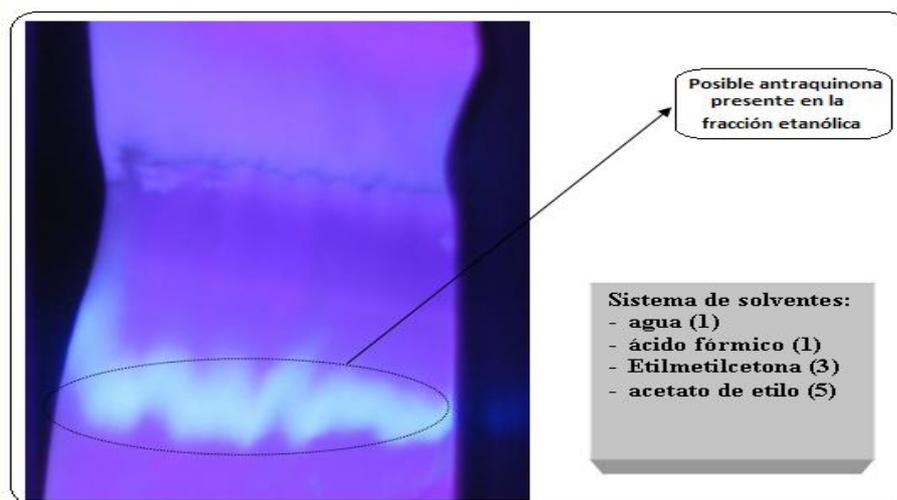
Fracción	Tratamientos	%ctx.24h	%ctx.48h	Actividad (*)
Etanólica	0,4mg/mL	100	100	Fuerte
	0,2mg/mL	100	100	Fuerte
	0,1mg/mL	98	98	Fuerte
Acuoso	0,4mg/mL	100	100	Fuerte
	0,2mg/mL	87	100	Fuerte
	0,1mg/mL	75	100	Moderada

Dónde: % Citotoxicidad (ctx) = muerte celular; (\*) Para medir el nivel de actividad de las fracciones obtenidas se usan las siguientes categorías de inhibición (adaptadas de *Zea et al.*, 1986). 80-100%: Actividad fuerte, 60-80%: Actividad moderada, 20-60%: Actividad media, 1-20%: Actividad baja, 0-1%: No hay actividad.

**Tabla 5.** Porcentaje de viabilidad celular (%V.C) a las 24 y 48 horas de los grupos controles al evaluar la citotoxicidad del extracto etanólico y acuoso de *Morinda citrifolia* “noni” en embriones de erizos de mar.

	%V. C (24 h)	%V. C (48 h)
Control	100%	80%

V. C = viabilidad celular (células vivas)



**Figura 2.** Cromatograma del extracto etanólico del fruto de *M. citrifolia*.

## Discusión

Una evaluación toxicológica integral, donde tanto los métodos de experimentación animal más convencionales y bien conocidos como los nuevos métodos alternativos permanezcan en armónica integración, permitirá ofrecer un mayor margen de seguridad para reducir al mínimo el riesgo potencial y con la mayor certeza posible (Johnson, 2002). En el estudio de toxicidad a dosis repetidas en ratas, existió un incremento del peso corporal en todos los grupos a medida que transcurrieron los días del ensayo, aunque este no se expresó de forma significativa, por lo que la planta no produce un efecto tóxico (Figura 1).

En el caso de los parámetros hematológicos, la hemoglobina se encuentra dentro del rango normal. En el caso de los valores de leucocitos totales se pudo observar que el grupo tratado con el extracto acuoso presentó valores por debajo del grupo control, lo que nos indicaría una posible leucopenia a diferencia del caso del extracto etanólico donde se evidenció un incremento del número de leucocitos, por lo que se deduce que nuestra planta contiene principios activos inmunoestimulantes, lo cual también fue reportado en otros estudios (Ecobichon, 1993; Nayak, 2010) (Tabla 1). En el caso de los parámetros bioquímicos (Tabla 2), se observó una disminución de los niveles de colesterol tanto en el tratamiento con extracto acuoso como con el extracto etanólico lo que nos indica que nuestra planta tiene efecto hipolipemiante, esta inhibición significativa de la subida de los niveles de lípidos por parte de nuestra planta puede ser un indicativo de la inhibición de la biosíntesis de colesterol mediante la inhibición de la HMG Co-A. Esta enzima juega un papel clave en el control de los niveles de lípidos en el plasma y otros tejidos. La drogas hipolipemiantes como las estatinas actúan inhibiendo HMG Co-A, sin embargo puede que esta inhibición sea por mecanismos

adicionales, un ejemplo de esto es que la *M. citrifolia* es rico en flavonas, que se sabe que inhiben la biosíntesis de lípidos, lo cual ha sido reportado en otros estudios (Garthoff, 1995; Nayak, 2010; Mandukhail, 2010); así mismo, se observó un incremento de los niveles de HDL con respecto al grupo control, con lo cual se observa un gran potencial para estudios posteriores, relacionados con la obesidad y enfermedades cardiovasculares. Mientras que a nivel de los otros parámetros bioquímicos no se observó significancia patológica.

En el ensayo de citotoxicidad en embriones de erizo de mar se observó que los extractos presentan actividad citotóxica, el extracto etanólico-acuosa produjo exogastrulación. También se observaron daños citológicos como pérdida de pigmentación de la célula; se determinó el porcentaje de inhibición y citotoxicidad durante el desarrollo embrionario para los extractos obtenidos. La determinación del % de citotoxicidad se realizó por comparación con los estadios normales de desarrollo observados en el control (figura 3-5). En base a los resultados obtenidos del ensayo de citotoxicidad podemos observar que los extractos presentan una fuerte actividad citotóxica; asimismo, se observa que a la menor concentración aun se presenta una fuerte actividad citotóxica pero nada asegura que a una menor concentración aun se siga presentado este grado de actividad, por ello se recomendaría trabajar con concentraciones más bajas con la finalidad de encontrar la dosis mínima eficaz, para poder evaluar luego la posible actividad en células tumorales (Deng, 2012; Ma, 2013).

### Conclusión

El extracto etanólico de *M. citrifolia* posee antraquinonas, son seguros a nivel hematológico y bioquímico al ser administrados durante 60 días por vía oral a ratas. *In vitro*, el extracto etanólico y acuoso así como las fracciones del fruto de *Morinda citrifolia* “noni” del Perú poseen efecto citotóxico en los embriones de erizo de mar.

### Referencias bibliográficas

- Congreso de Plantas Medicinales de México. (2000). *Extractos de algunas plantas medicinales como antitumorales*. Thahui-Medic 10II.
- CYTED. (1995). *Manual de Técnicas de Investigación*. Subprograma X. Química Fina Farmacéutica. Proyecto X-1. Búsqueda de Principios Bioactivos en Plantas de la Región. p 226.
- Deng, S., West, B., Palu, A., Jensen, C. (2012). Phytochemical, Antioxidant and Toxicological Investigation of *Morinda citrifolia* L. Blossoms. *ISRN Analytical Chemistry* Volume. 1- 5.
- Ecobichon, D. J. (1993). *Mutagenesis. The basis of toxicity testing*. MC Gill University, Montreal. De. CRC, INC, Boca Raton, Florida. 113-136.
- Garthoff, B. (1995). Alternative testing in drug research and development. Validation issue. *Toxicology in Vitro*. 9: 789-93.
- Hiramatsu, T., Imoto, M., Koyan, T., Umezawa, K. (1993). Induction of normal phenotypes in ras-transformed cells by Damnacanthol from *Morinda Citrifolia*. *Cancer Letters*; 73: 2-3, 161-166.
- Hose, J. E. (1985). Potential uses of sea urchin embryos for identifying toxic chemicals: description of a bioassay incorporating cytologic, cytogenetic and embryologic endpoints. *Journal of Applied Toxicology*. 5(4): 245-254.

- International Conference on Harmonisation (ICH) Guideline on detection of toxicity to reproduction for medical products. (1995), *Fed Reg*, 59.
- International Conference on Harmonisation (ICH) of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. (1995). Guidance on specific aspects of regulatory genotoxicity test for pharmaceuticals. *Drug Inf. J.*, 9: 4.
- International Conference on Harmonisation (ICH) of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. (1996). Dose selection for carcinogenicity studies of pharmaceuticals. *Drug Inf. J.* 9: 4.
- Jacobs, R., White, S., Wilson, L. (1981). Selective compound derived from marine organisms: effects on cell division in fertilized sea urchin eggs. *Federation Proceedings*. 40(1):28-31.
- Johnson, A., Hemscheidt, S. T., Csiszar, W. K. (2002). Cytotoxicity of Water and Ethanol extracts of *Morinda citrifolia* (L.). Against Normal Epithelial and Breast Cancer Lines. *Proceedings, Hawai'i Noni Conference*.
- Leistner, E. (1975). Isolation, identification and biosynthesis of anthraquinones in cell suspension cultures of *Morinda citrifolia*. *Planta Medica Supplement*. 214-224.
- Ma, D., Chen, M., Su, C., West, B. (2013). *In Vivo* Antioxidant Activity of Deacetylasperulosidic Acid in Noni. *Journ Analytical Methods in Chemistry*: 1-5.
- Mancebo, A., Scull, I., González, Y., Arteaga, M. (2002). Ensayo de toxicidad a dosis repetidas (28 días) por vía oral del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* en ratas Sprague Dawley. *Rev. Toxicol.* 19: 73-78.
- Mandukhail, S., Aziz, N., Gilani, A. (2010). Studies on antidyslipidemic effects of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit leaves and root extracts. *Lipids in Health and Disease*, 9:88.
- Nayak, S., Mengi, S. (2010). Immunostimulant activity of noni (*Morinda citrifolia*) on T and B lymphocytes. *Pharmaceutical Biology*, 48(7): 724–731.
- Nonato, L. D., Nina, E., Cerruti, T., Mestanza, M., Gorriti, A., Inchaustegui, R. (2001). Evaluación toxica, citotóxica y genotóxica de la corteza liofilizada de *Uncaria tomentosa* (Wild) DC. I Reunión Internacional del Genero *Uncaria* “Uña de Gato”; 2001 Ago 16-18; Perú: Iquitos; p 138-146.
- OECD. (1995). Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents. En: *Guidelines for the Testing of Chemicals*, Paris, Organization for Economic Cooperation & Development. 407.
- Piccirillo, V. J. (1999). Repeated-Dose Toxicity Studis. In: *Product Safety Evaluation Handbook*: Ed. Gad S.C.; Ed.Marcel Dekker, Inc., United States, 1999: 201-222.
- Popoca, J., Aguilar, A., Alonso, D., Villareal, M. L. (1988). Cytotoxic of selected plants used as antitumorals in Mexican tradicional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 59: 173-177.
- Wall, M., Wani, M. (1993). Antimutagenic agents from natural products of terrestrial and marine origin. En: *Antimutagenesis and carcinogenesis mechanisms*, III Edited by G Broenzetti et al, plenum press, New York. p 87-97.
- Wang, My., Su, C. (2001). Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (Noni). *Rev. Ann NY Acad Sci.* 12 (952): 161-8.
- Zea, S., A. Medina y C, Duque. (1986). Ichthyotoxic, cytotoxic and antimicrobial activity of some sponges of the Colombian Caribbean. *An. Inst. Inv. Mar. Punta de Betín* (15/16): 31-48