

Impacto del Látex de *Croton lechleri* Sobre el Tránsito Intestinal y la Coordinación Motora en Murinos

Impact of *Croton lechleri* Latex on Intestinal Transit and Motor Coordination in Murines

Introducción. *Croton lechleri*, conocido como "sangre de grado", es una planta medicinal utilizada tradicionalmente por sus efectos terapéuticos. **Objetivos.** Este estudio evaluó los efectos del látex liofilizado de *Croton lechleri* sobre el tránsito intestinal y la coordinación motora en ratones albinos. **Materiales y métodos.** Se utilizaron dos metodologías experimentales. En el estudio del tránsito intestinal se utilizaron 32 ratones, distribuidos en cuatro grupos. Se les administró solución salina al 9% (control, p.o.), *C. lechleri* (100 y 1000 mg/Kg, p.o.) y Atropina (1 mg/Kg, i.p.). Posteriormente, se les administró carbón activado y, 45 minutos después, fueron sacrificados para evaluar la distancia recorrida por el carbón a lo largo del intestino delgado. Para la evaluación de la coordinación motora, se seleccionaron 28 ratones que recibieron los mismos tratamientos, incluyendo Diazepam (1 mg/Kg, i.p.). Se midió el tiempo de retroceso en el test de Chimney cada hora durante dos horas. **Resultados.** El látex liofilizado de *C. lechleri* redujo significativamente el tránsito intestinal a la dosis de 100 mg/Kg ($p < 0,001$), con efectos comparables a los de la Atropina. En cuanto a la coordinación motora, el látex liofilizado no afectó significativamente la coordinación en comparación con el grupo control ($p > 0,05$), mientras que el Diazepam mostró una reducción significativa ($p < 0,001$). **Conclusión.** El látex liofilizado de *C. lechleri* a 100 mg/Kg mostró una reducción significativa del tránsito intestinal sin afectar la coordinación motora, sugiriendo su potencial como agente modulador del tránsito intestinal sin efectos adversos sobre la coordinación motora.

Palabras clave: *Croton*; Látex; Desempeño Psicomotor; Tránsito Gastrointestinal (Fuente: DeSC BIREME).

ABSTRACT

Introduction. *Croton lechleri*, known as "sangre de grado", is a medicinal plant traditionally used for its therapeutic effects. **Objectives.** This study evaluated the effects of freeze-dried *Croton lechleri* latex on intestinal transit and motor coordination in albino mice. **Materials and methods.** Two experimental methodologies were used. Thirty-two mice, distributed in four groups, were used in the intestinal transit study. They were administered 9% saline solution (control, p.o.), *C. lechleri* (100 and 1000 mg/kg, p.o.) and Atropine (1 mg/kg, i.p.). Subsequently, they were administered activated charcoal and, 45 minutes later, they were sacrificed to evaluate the distance traveled by the charcoal along the small intestine. For the evaluation of motor coordination, 28 mice were selected and received the same treatments, including Diazepam (1 mg/kg, i.p.). The recoil time in the Chimney test was measured every hour for two hours. **Results.** Lyophilized latex of *C. lechleri* significantly reduced intestinal transit at the dose of 100 mg/kg ($p < 0.001$), with effects comparable to those of Atropine. In terms of motor coordination, lyophilized latex did not significantly affect coordination compared to the control group ($p > 0.05$), while

Diazepam showed a significant reduction ($p < 0.001$). **Conclusion.** Lyophilized *C. lechleri* latex at 100 mg/kg showed a significant reduction in intestinal transit without affecting motor coordination, suggesting its potential as a modulating agent of intestinal transit without adverse effects on motor coordination.

Keywords: *Croton*; *Latex*; *Psychomotor Performance*; *Gastrointestinal Transit* (Source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

El sistema nervioso central (SNC) es un área clave en la farmacología moderna, especialmente en la búsqueda de nuevas terapias para tratar trastornos neurológicos y psiquiátricos. Las plantas medicinales, que se han utilizado durante siglos en diversas culturas, representan una rica fuente de compuestos bioactivos con el potencial de modular la progresión de la enfermedad neuronal. En este sentido, es fundamental explorar cómo estas plantas afectan el SNC, ya que pueden ofrecer alternativas más seguras y naturales a los medicamentos convencionales, que a menudo tienen efectos secundarios significativos(1,2).

Por otro lado, el estudio de la motilidad gastrointestinal ha ganado relevancia debido a su papel central en el manejo de trastornos digestivos, como el síndrome del intestino irritable, la constipación y la diarrea. La motilidad intestinal es un proceso regulado por el sistema nervioso entérico y está influenciado por diversos factores, incluidos los fármacos y compuestos naturales(3,4).

Dentro de estos compuestos, el látex de *Croton lechleri*, comúnmente conocido como “sangre de grado,” ha captado una atención particular. Esta planta, ampliamente utilizada en la medicina tradicional amazónica, es reconocida por sus propiedades cicatrizantes, antiinflamatorias(5,6), antidiarreicas, antimicrobianas(6) y anticancerígenas(7). Sin embargo, a pesar de su uso generalizado, la investigación sobre sus efectos sobre el SNC y el tránsito intestinal ha sido limitada.

El objetivo del presente estudio fue investigar los efectos del látex liofilizado de *C. lechleri* en dos áreas clave: la coordinación motora y el tránsito intestinal. Para evaluar la coordinación motora, se empleó el test de Chimney, un modelo ampliamente utilizado para medir la capacidad de los ratones para realizar movimientos coordinados. Este test es sensible a las sustancias que afectan el SNC, permitiendo identificar efectos sedantes, depresores del sistema nervioso, o incluso tóxicos.

Simultáneamente, para investigar el tránsito intestinal, se empleó carbón activado como marcador del tránsito intestinal en ratones en ayuno. Se administró látex liofilizado de *C. lechleri* y se comparó su efecto con Atropina. Este enfoque permitió observar cómo el látex afecta el movimiento del contenido intestinal a lo largo del intestino delgado, proporcionando un análisis cuantitativo del tránsito intestinal.

El látex liofilizado de *C. lechleri* podría representar una fuente prometedora de compuestos bioactivos con aplicaciones tanto en el manejo de problemas digestivos como en el tratamiento de trastornos neurológicos. Estos resultados iniciales sientan las bases para estudios más

profundos que permitan esclarecer los mecanismos de acción de este látex y explorar su uso en terapias médicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de investigación

Estudio experimental trasversal.

El estudio se llevó a cabo durante un periodo de tres meses, desde la preparación de las muestras vegetales hasta las fases de experimentación, obtención de datos, análisis estadístico y redacción del primer borrador.

La muestra de *Croton lechleri* ("sangre de grado"), se recolectó en el mes de marzo, en el Distrito de San Juan Bautista, ubicado en el Km 30 de la carretera Iquitos-Nauta, Departamento de Loreto, Perú. Posteriormente, fue identificada y codificada en el Herbarium Amazonense-AMAZ de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), en Iquitos, Perú, bajo el código de registro EUP-0007.

Liofilización de la muestra vegetal

El látex de *C. Lechleri* fue congelado a -35 °C para ser liofilizado en un liofilizador (Labotec, modelo 50N) a una temperatura de -40 °C y una presión de $1,33 \times 10^{-3}$ mbar durante 120 hs(8). El producto obtenido se almacenó en frascos herméticos a temperatura ambiente protegido de la luz. Este procedimiento fue realizado en el Laboratorio de Fitoquímica del Instituto de Medicina Tradicional.

Animales

Ratones albinos machos *Mus musculus*, cepa Balb/c, libres de patógenos, entre 6-8 semanas de edad, procedentes del Centro Nacional de Productos Biológicos (CNPB) del Instituto Nacional de Salud (INS), Lima-Perú, fueron aclimatados durante 15 días en el Bioterio del Instituto de Medicina Tradicional (IMET), Iquitos-Perú, en jaulas de polipropileno con camas de viruta, a una temperatura de 24 ± 2 °C, humedad relativa entre 40-70%, un fotoperiodo de 12 horas luz/oscuridad, alimentación con pellets y agua *ad libitum*. Posteriormente, se seleccionaron los animales que presentaron pesos entre 24-27 g.

Evaluación del Tránsito Intestinal

Se utilizó el método descrito por Pol & Puig(9) con ligeras modificaciones, para ello se empleó carbón activado como marcador del tránsito intestinal. Se seleccionaron 32 ratones con un peso promedio de $25,0 \pm 2,1$ g, sometidos a un ayuno de 12 horas antes del experimento. Los animales fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos de ocho ratones cada uno. Los grupos recibieron los siguientes tratamientos: solución salina al 9% (grupo control), Atropina a una dosis de 1 mg/Kg (grupo control positivo), y látex liofilizado de *Croton lechleri* a dosis de 100 mg/Kg y 1000 mg/Kg, administrados por vía oral. Después de 30 minutos, se administró a cada animal

una suspensión de carbón activado al 10%. Luego de 45 minutos, los ratones fueron sacrificados, y se midió la distancia recorrida por el carbón activado desde el píloro hasta la válvula ileocecal. Los resultados se expresaron como el porcentaje de la longitud total del intestino delgado recorrida por el carbón activado, en relación con la longitud total del intestino delgado. Este enfoque permitió observar cómo el látex afecta el movimiento del contenido intestinal a lo largo del intestino delgado, proporcionando un análisis cuantitativo del tránsito intestinal.

Se utilizó el test de Chimney descrito por Pytko *et al.*(10) con ligeras modificaciones, un modelo ampliamente utilizado para medir la capacidad de los ratones para realizar movimientos coordinados. Este test es sensible a las sustancias que afectan el SNC, permitiendo identificar efectos sedantes, depresores del sistema nervioso, o incluso tóxicos. Se seleccionaron 28 ratones con un peso promedio de $24,2 \pm 1,3$ g. Inicialmente, se registró el tiempo basal de retroceso de los animales, definido como el tiempo necesario para que cada ratón recorriera una longitud de 25 cm dentro de un tubo vertical. Los ratones fueron distribuidos aleatoriamente en cuatro grupos de siete animales cada uno. Los grupos recibieron los siguientes tratamientos: solución salina 9% (control negativo), látex liofilizado de *Croton lechleri* a dosis de 100 y 1000 mg/Kg administrado por vía oral, y Diazepam a 1 mg/Kg (control positivo) administrado por vía intraperitoneal.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en la evaluación de la coordinación motora y tránsito intestinal, se analizaron a través de las medidas de tendencia central y de dispersión: media, análisis de varianza (ANOVA), normalidad de Shapiro-Wilk y pruebas post- hoc de Tukey y T de Student para muestras relacionadas, con una probabilidad de $p < 0,05$. Para ello se utilizó el paquete estadístico SPSS versión clásica.

Se consideraron las directrices de la Organization for Economic Co-operation and Development (OECD), como el Guidance Document on the Recognition, Assessment, and use of Clinical Signs as Humane Endpoints for experimental Animals Used in Safety Evaluation(11).

RESULTADOS

Evaluación del Tránsito Intestinal

Los datos muestran que la administración oral de látex liofilizado de *Croton lechleri* ("sangre de grado") a dosis de 100 mg/Kg y 1000 mg/Kg en ratones albinos resultó en una reducción del tránsito intestinal del carbón activado. El efecto fue más pronunciado a la dosis de 100 mg/Kg ($p < 0,001$). Al comparar estos resultados con el grupo tratado con Atropina, no se observaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$). Por otro lado, la administración de Atropina a una dosis de 1 mg/Kg provocó una reducción significativa en el recorrido del carbón activado a través del intestino delgado ($p < 0,001$). Además, al comparar las longitudes promedio del intestino desde el píloro hasta la válvula ileocecal, se encontró una diferencia significativa en la

longitud del intestino en el grupo tratado con solución salina en comparación con los demás grupos ($p < 0,001$) (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de diferentes tratamientos sobre el tránsito del carbón activado en el intestino de ratones albinos.

Tratamiento	LID (cm) $\pm$ DE	LRCA (cm) $\pm$ DE	Dif. Signif.
Solución salina 9%	45,2 $\pm$ 1,1	35,6 $\pm$ 1,4	a
Atropina 1 mg/Kg	44,1 $\pm$ 0,9	24,2 $\pm$ 0,7	b
<i>C. lechleri</i> 100 mg/Kg	37,6 $\pm$ 0,3	24,6 $\pm$ 0,4	b
<i>C. lechleri</i> 1000 mg/Kg	38,1 $\pm$ 0,5	30,2 $\pm$ 0,2	ab

Cada valor representa $\bar{x} \pm$ SEM de 8 ratas albinas.
 LID: Longitud del intestino delgado expresado en cm.
 LRCA: Longitud de recorrido de carbón activado en el intestino delgado expresado en cm.
 ab: diferencias significativas de la evaluación, donde: $p < 0,001$.

Evaluación de la Coordinación Motora

Los tiempos de retroceso registrados en los animales tratados con látex liofilizado de *Croton lechleri* a dosis de 100 mg/Kg y 1000 mg/Kg no mostraron diferencias significativas en comparación con el grupo control negativo tratado con solución salina al 9% ($p > 0,05$). En contraste, el control positivo, Diazepam a 1 mg/Kg, provocó un aumento significativo en el tiempo de retroceso, con un efecto más pronunciado a las dos horas post-tratamiento ($p < 0,001$). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en los tiempos de retroceso entre la primera y segunda hora de evaluación en el grupo tratado con Diazepam, lo que indica una disminución notable de la coordinación motora en los ratones albinos (Gráfico 1).

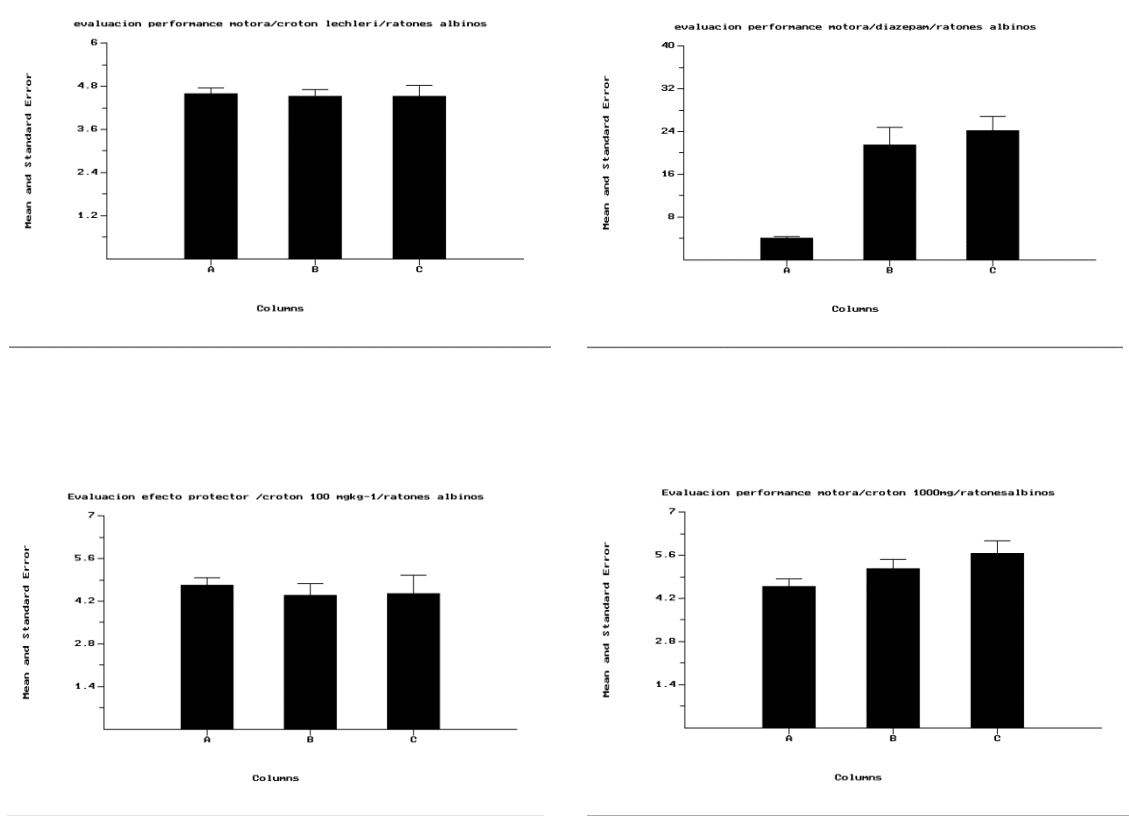


Gráfico 1. Evaluación de la coordinación motora en los diferentes grupos experimentales. Este gráfico muestra los tiempos de retroceso en los grupos de ratones tratados con solución salina al 9%, Diazepam (1 mg/Kg), látex liofilizado de *Croton lechleri* (100 mg/Kg), y látex liofilizado de *Croton lechleri* (1000 mg/Kg). Los resultados se presentan en tres momentos: A) tiempo basal (pre-tratamiento), B) tiempo de retroceso una hora post-tratamiento, y C) tiempo de retroceso dos horas post-tratamiento. Los valores se expresan como media $\pm$ desviación estándar para cada grupo.

DISCUSIÓN

Evaluación del Tránsito Intestinal

El efecto del látex liofilizado de *C. lechleri* sobre el tránsito intestinal fue evidente, con una reducción significativa en el recorrido del carbón activado, particularmente a la dosis de 100 mg/Kg. Estos resultados son coherentes con estudios anteriores que han demostrado las propiedades antidiarreicas y analgésicas de *C. lechleri*, atribuidas principalmente a su contenido de proantocianidinas. Se ha propuesto que estas sustancias pueden actuar a nivel de los nervios aferentes sensoriales, lo cual explicaría la disminución del tránsito intestinal en el presente estudio. Un bioensayo que evaluó la secreción de cloruro en segmentos de íleon aislados de cobaya, inducida por tres agonistas (capsaicina, estimulación de campo eléctrico [EFS] y sustancia P agonista de la neurocinina-1 [NK-1 Sar-Met-SP]), demostró que tras el pretratamiento con sangre de grado en una dilución de 1:1000, las respuestas secretoras a la capsaicina se redujeron en un 70%, mientras que las respuestas a EFS y NK-1 Sar-Met-SP no fueron afectadas(12,13).

Otros estudios indicaron que la sangre de grado reduce el peso y la frecuencia de las heces en casos de diarrea asociada al SIDA(14,15). Asimismo, se ha demostrado que Crofelemer, un extracto derivado del latex rojo de *C. lechleri*(16), actúa en la luz intestinal, debido a su tamaño y polaridad, como un inhibidor dual del canal de cloruro activado por calcio y del regulador transmembrana de la fibrosis quística, 2 de los 3 canales que controlan el eflujo de cloruro gastrointestinal. Crofelemer tiene relativamente pocos efectos secundarios y presenta un enfoque dirigido a la prevención de la diarrea inducida por quimioterapia en pacientes que reciben terapia basada en pertuzumab(17). Por otro lado, el efecto de Crofelemer sobre enfermedades diarreicas asociadas principalmente a un componente secretor, como el cólera, la diarrea del viajero y la diarrea infecciosa aguda, mejora la consistencia de las heces y la duración de los síntomas(18).

La ausencia de diferencias significativas entre los grupos tratados con *C. lechleri* y Atropina sugiere que el mecanismo de acción del látex liofilizado de *C. lechleri* a pesar de involucrar vías diferentes a las de la Atropina (que actúa como antagonista no selectivo de los receptores muscarínicos)(19), tiene un impacto positivo sobre el tránsito intestinal. Es interesante notar que, aunque el grupo tratado con 1000 mg/Kg de látex mostró una reducción del tránsito intestinal, esta fue menor en comparación con la dosis de 100 mg/Kg. Este hallazgo podría indicar un efecto bifásico del látex de *C. lechleri*, lo que sugiere que dosis más altas podrían no ser proporcionalmente más efectivas. Esto posiciona al látex de *C. lechleri* como un agente

antidiarreico natural, especialmente en situaciones donde se desee evitar los efectos secundarios asociados a fármacos sintéticos como la Atropina.

Evaluación de la Coordinación Motora

Los resultados obtenidos en el test de Chimney muestran que la administración de látex liofilizado de *C. lechleri* no alteró significativamente la coordinación motora de los ratones albinos, en comparación con el grupo control negativo (solución salina). Este hallazgo es consistente con estudios previos que sugieren que los componentes bioactivos del látex de *C. lechleri* tienen un perfil de seguridad relativamente alto, sin efectos significativos a dosis terapéuticas. Investigaciones previas han demostrado que ciertos compuestos como taninos condensados, ácidos fenóles, polifenoles y flavonoides presentes en *C. lechleri* poseen actividades antioxidantes sobre la producción de especies reactivas de oxígeno(20–22).

En contraste, el Diazepam, utilizado como control positivo, mostró una disminución significativa en la coordinación motora, lo cual es esperado debido a su acción depresora sobre el sistema nervioso central a través de la modulación de los receptores GABA-A(23). La ausencia de efectos sobre la coordinación motora tras la administración del latex liofilizado de *C. lechleri* sugiere que este extracto podría tener un uso seguro en aplicaciones que no impliquen efectos sedantes o de coordinación motora.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos subrayan el potencial terapéutico del látex liofilizado de *C. lechleri* como un agente natural para el manejo de trastornos gastrointestinales, particularmente aquellos asociados con una hiperactividad del tracto intestinal. Además, la falta de efectos sobre la coordinación motora sugiere que este látex puede administrarse sin comprometer la capacidad locomotora, lo cual es un beneficio en comparación con algunos tratamientos farmacológicos que tienden a afectar el sistema nervioso central. Futuros estudios deberían enfocarse en dilucidar otros compuestos bioactivos, además de las proantocianidinas presentes en el látex liofilizado de *C. lechleri*, que contribuyen a sus efectos sobre el tránsito intestinal. Asimismo, la exploración de diferentes dosis y vías de administración podría proporcionar una mejor comprensión de su farmacocinética y farmacodinámica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Srivastava P, Yadav RS. Efficacy of natural compounds in neurodegenerative disorders. *Adv Neurobiol.* 2016;12:107–23.
2. Puri V, Kanojia N, Sharma A, Huanbutta K, Dheer D, Sangnim T. Natural product-based pharmacological studies for neurological disorders. *Front Pharmacol.* 2022;13(November):1–30.
3. Ghosh S, Playford RJ. Bioactive natural compounds for the treatment of gastrointestinal disorders. *Clin Sci.* 2003;104(6):547–56.
4. Brierley SM, Kelber O. Use of natural products in gastrointestinal therapies. *Curr Opin*

- Pharmacol [Internet]. 2011;11(6):604–11. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2011.09.007>
5. Pieters L, de Bruyne T, Claeys M, Vlietinck A, Calomme M, vanden Berghe D. Isolation of a dihydrobenzofuran lignan from south american dragon's blood (*Croton* spp.) as an inhibitor of cell proliferation. *J Nat Prod*. 1993;56(6):899–906.
 6. Ubillas R, Jolad SD, Bruening RC, Kernan MR, King SR, Sesin DF, et al. SP-303, an antiviral oligomeric proanthocyanidin from the latex of *Croton lechleri* (Sangre de Drago). *Phytomedicine*. 1994;1(2):77–106.
 7. Lopes MILE, Saffi J, Echeverrigaray S, Henriques JAP, Salvador M. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. *J Ethnopharmacol*. 2004;95(2–3):437–45.
 8. Aranda-Ventura J, Villacrés J, Mego R. Efecto hipoglicemiante de los extractos de *Tabebuia obscura* (tahuari oscuro) sobre ratas con diabetes mellitus experimental TT - Hypoglycemic effect of *tabebuia obscura*'s extract (tahuari oscuro) in a rat model of diabetes mellitus. *Rev peru med integr* [Internet]. 2016;1(1):19–24. Available from:
[http://rpmi.pe/ojs/index.php/RPMI/article/view/004/4%0Ahttp://fi-](http://rpmi.pe/ojs/index.php/RPMI/article/view/004/4%0Ahttp://fi-admin.bvsalud.org/document/view/5c7se)
[admin.bvsalud.org/document/view/5c7se](http://fi-admin.bvsalud.org/document/view/5c7se)
 9. Pol O, Puig MM. Reversal of tolerance to the antitransit effects of morphine during acute intestinal inflammation in mice. *Br J Pharmacol*. 1997;122(6):1216–22.
 10. Pytko K, Zmudzka E, Lustyk K, Rapacz A, Olczyk A, Galuszka A, et al. The antidepressant- and anxiolytic-like activities of new xanthone derivative with piperazine moiety in behavioral tests in mice. *Indian J Pharmacol*. 2016;48(3):286–91.
 11. OECD. Guidance document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation [Internet]. 2000. p. 39. Available from: <https://www.oecd-ilibrary.org/content/publication/9789264078376-en>
 12. Miller MJS, MacNaughton WK, Zhang XJ, Thompson JH, Charbonnet RM, Bobrowski P, et al. Treatment of gastric ulcers and diarrhea with the Amazonian herbal medicine sangre de grado. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 2000;279(1 42-1):192–200.
 13. Miller MJS, Vergnolle N, McKnight W, Musah RA, Davison CA, Trentacosti AM, et al. Inhibition of neurogenic inflammation by the Amazonian herbal medicine sangre de grado. *J Invest Dermatol*. 2001;117(3):725–30.
 14. Holodniy M, Koch J, Mistal M, Schmidt JM, Khandwala A, Pennington JE, et al. 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 Gastroenterol*. 1999;94(11):3267–73.
 15. Macarthur R, Hawkins T, Brown S, Lamarca A, Clay P, Barrett A, et al. Efficacy and safety of crofelemer for noninfectious diarrhea in HIV-seropositive individuals (ADVENT Trial): A randomized, double-blind, placebo-controlled, two-stage study. *HIV Clin Trials*. 2013;14(6):261–73.
 16. Lindner KS. Blood of the Dragon: The Sustainable Harvest and Replanting of the *Croton*

- lechleri Tree. Herbalgram. 2009;56–65.
17. Gao JJ, Tan M, Pohlmann PR, Swain SM. HALT-D: A Phase II Evaluation of Crofelemer for the Prevention and Prophylaxis of Diarrhea in Patients With Breast Cancer on Pertuzumab-Based Regimens. *Clin Breast Cancer*. 2017;17(1):76–8.
 18. Cottreau J, Tucker A, Crutchley R, Garey KW. Crofelemer for the treatment of secretory diarrhea. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;6(1):17–23.
 19. Ali-Melkkila T, Kanto J, Iisalo E. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* Pharmacokinetics and related pharmacodynamics of anticholinergic drugs. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1993;37:63–105.
 20. Risco E, Ghia F, Vila R, Iglesias J, Álvarez E, Cañigüeral S. Immunomodulatory Activity and Chemical Characterisation of Sangre de Drago (Dragon's Blood) from *Croton lechleri*. *Planta Med*. 2003;69(9):785–94.
 21. Desmarchelier C, Schaus FW, Coussio J, Cicca G. Effects of Sangre de Drago from *Croton lechleri* Muell.-Arg. on the production of active oxygen radicals. *J Ethnopharmacol*. 1997;58(2):103–8.
 22. Bors W, Michel C. Antioxidant capacity of flavanols and gallate esters: Pulse radiolysis studies. *Free Radic Biol Med*. 1999;27(11–12):1413–26.
 23. Calcaterra NE, Barrow JC. Classics in chemical neuroscience: Diazepam (valium). *ACS Chem Neurosci*. 2014;5(4):253–60.