

EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA (CL₅₀) FRENTE A *Artemia franciscana* Y LA ACTIVIDAD HEMOLITICA DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS, EN DICLOROMETANO Y METANÓLICO PARCIAL DE *Justicia secunda* (Vahl.)

RESUMEN

Justicia secunda es una planta de la familia *Acanthaceae* que es utilizada en América Central por la medicina tradicional con distintos fines terapéuticos. En este estudio se evaluó la concentración letal media actividad hemolítica de los extractos obtenidos de esta planta. El extracto metanólico parcial presentó baja toxicidad (CL₅₀ >1000 µg/mL) y menor actividad hemolítica (CE₅₀ > 1000 µg/mL), comparado con los demás extractos. Esto sugiere que este extracto puede ser utilizado con fines farmacológicos.

PALABRAS CLAVES: *Justicia secunda*, concentración letal media, actividad hemolítica.

ABSTRACT

Justicia secunda is a plant of the family *Acanthaceae* that is used in Centro America by the traditional medicine with different therapeutic uses. In this study was evaluated the median lethal concentration of extracts obtained of this plant and the hemolytic activity. The partial methanolic extract exhibited a few toxicity (CL₅₀ >1000 µg/mL) and smaller hemolytic activity (CE₅₀> 1000 µg/mL), comparative with the other extracts. That suggests that according to these results this extract can be used in pharmacologic utilities.

KEYWORDS: *Justicia secunda*, median lethal concentration, hemolytic activity.

JOSÉ CANTILLO

Estudiante de Química Farmacéutica
Universidad de Cartagena
josefcantillo@hotmail.com

JORGE GÜETTE

Químico Farmaceutico
Universidad de Cartagena
jorgerguettef@yahoo.com

ROSA BALDIRIS,

Químico Farmaceutico Ms.C
Universidad de Cartagena
rbaldiris@yahoo.es

BEATRIZ JARAMILLO

Química, Ph.D.
Universidad de Cartagena
beatrizjaramilloc@yahoo.com

JESÚS OLIVERO

Químico Farmaceutico, Ph.D.
Universidad de Cartagena
jesusolivero@yahoo.com

1. INTRODUCCIÓN

Justicia secunda (Vahl.) es una planta de la familia *Acanthaceae* distribuida ampliamente en América Central y usada en medicina tradicional con diversos fines, como el tratamiento de cálculos renales. En Colombia es usada para trastornos glicémicos. Además es utilizada en países como Trinidad para aliviar las molestias de los sarpullidos ocasionados por picaduras de insectos [1]. También posee pigmentos rojizos y azules que se liberan en medios acuosos y alcohólicos, los cuales pueden ser usados en productos farmacéuticos con fines estéticos. Hasta el momento no han sido realizado estudios toxicológicos ni farmacológicos amplios de esta planta. Solo se reporta actividad antimicrobiana, presentando resultados positivos del extracto metanólico frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans*, mostrando concentraciones mínimas inhibitorias de 0.6 µg/mL para cada uno de estos [2], y se reporta actividad citotóxica frente a *Artemia salina* del extracto acuoso (CL₅₀ = 37.93 µg/mL) [3].

El objetivo de este estudio fue obtener diferentes extractos de *Justicia secunda* y evaluar diferentes propiedades como son la concentración letal media (CL₅₀) de estos frente a *Artemia franciscana* y su actividad hemolítica.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Preparación de los extractos

Se utilizaron 100 gramos de las hojas, ramas y tallos de *Justicia secunda* secos y molidos para preparar los extractos acuoso y metanólico en proporciones 1:8 y 1:6 respectivamente. Inicialmente la muestra fue mezclada con metanol y almacenada durante 8 días, luego fue filtrado el extracto y concentrado al vacío. Se realizaron particiones líquido-líquido del extracto metanólico total, con éter de petróleo-agua (90:10) y diclorometano en proporciones iguales extracto-solvente, respectivamente.

Los extractos acuosos fueron extraídos en caliente y en frío con agua destilada. El primero fue calentado hasta ebullición durante 5 minutos; y el segundo fue almacenado durante 8 días, luego fueron filtrados. Las fracciones obtenidas y los extractos totales fueron liofilizados y empleados para evaluar la actividad hemolítica *in vitro* y el efecto toxicológico de estos frente a *Artemia franciscana*.

2.2. Determinación de la concentración letal media (CL₅₀)

Los huevos de *Artemia franciscana* se hicieron eclosionar en agua de mar durante 24 horas. Luego los

nauplios obtenidos fueron expuestos a distintas concentraciones de los diferentes extractos de la planta [4] (determinadas previamente por ensayos preliminares).

Los nauplios muertos fueron contados a las 24 y 48 horas de exposición a los diferentes extractos y fueron calculados los porcentajes de mortalidad, la CL_{50} se evaluó mediante el análisis probit [5], con intervalos de confianza al 95%. El extracto en diclorometano fue disuelto utilizando dimetilformamida (DMF) como vehículo, mientras que para los demás se utilizó dimetilsulfóxido (DMSO). Por cada extracto se hicieron cuatro ensayos, cada uno por triplicado.

2.3. Determinación de la actividad hemolítica

Para el ensayo de hemólisis, las muestras fueron mezcladas con PBS hasta obtener las distintas concentraciones a evaluar. Una suspensión de eritrocitos previamente obtenida de muestras de sangre de donantes voluntarios, fue mezclada con EDTA y lavada cuatro veces con PBS. Los eritrocitos aislados fueron tratados con las diferentes concentraciones de los extractos.

La absorbancia del sobrenadante fue medida a 540 nm. Fueron usados controles positivos con SDS al 0.1% y agua destilada [6]. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las CL_{50} de los extractos de *Justicia secunda* frente a *Artemia franciscana* luego de 24 y 48 horas de exposición aparecen en la Tabla 1. Los extractos acuoso y en diclorometano presentaron una toxicidad similar; mientras que el extracto metanólico mostró menor toxicidad, con una CL_{50} bastante alta.

Además los extractos acuosos y metanólico parcial mostraron tener poca actividad hemolítica a las concentraciones evaluadas. Sin embargo el extracto en diclorometano presentó una alta actividad hemolítica comparada con los demás extractos, con una CE_{50} de 248.31 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 1).

Los resultados obtenidos muestran al extracto metanólico parcial como un blanco para posteriores estudios farmacológicos con los cuales se puedan aprovechar las propiedades terapéuticas que se le adjudican a *Justicia secunda*. La anterior afirmación se sustenta por los valores obtenidos en los ensayos de toxicidad aguda donde se muestra un valor bajo de éste comparado con los demás extractos, lo cual se suma a la casi nula actividad hemolítica que presenta.

EXTRACTO	Tiempo de Exposición (h)	CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	I. C. (95%)	CE_{50}
EN DICLOROMETANO	24	42.23	52.66 – 33.87	248.31
	48	0.89	1.66 – 0.47	
METANÓLICO	24	> 1000	-	> 1000
	48	> 1000	-	
ACUOSO	24	< 200	-	> 1000
	48	< 200	-	
ACUOSO + Δ	24	130.6	145.68 – 117.09	> 1000

Tabla 1. CE_{50} , CL_{50} e intervalos de confianza de los extractos de *Justicia secunda* frente a *A. franciscana*.

3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las CL_{50} -48 h de los extractos acuoso, metanólico parcial y en diclorometano de *Justicia secunda* osciló entre 0.89 y 110.45 $\mu\text{g/mL}$. La CE_{50} de los extractos acuoso y metanólico parcial de *Justicia secunda* se encuentran por encima de 1000 $\mu\text{g/mL}$. La CE_{50} del extracto en diclorometano de *Justicia secunda* fue de 248.31 $\mu\text{g/mL}$. Solo el extracto metanólico fue el más apropiado para ser utilizado terapéuticamente, o con fines estéticos en productos farmacéuticos, de acuerdo con los resultados obtenidos.

4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Wong W: Some folk medicinal plants from Trinidad. *Economic Botany*, 30:103-142. 1976.
- [2] Herrera-Mata, H., Rosas-Romero, A., Crescente, O.: Biological Activity of "Sanguinaria" (*Justicia secunda*) Extracts. *Taylor & Francis*. 40:206-212. 2002.
- [3] Rojas, J., Ochoa, V., Ocampo, S., y Muñoz, J.: Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. *BMC Complement Altern Med*. 6:2. 2006.
- [4] Krishnaraju, A., Rao, T., Sundararaju, D., Vanisree, M., Tsay, H., y Subbaraju, G.: Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay. *Int. J. Appl. Sci. Eng.* 3, 2: 125-134. 2005.
- [5] Finney, D. (1971). 3rd ed. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK. London and New York. pp.76-80.
- [6] Pérez, U., Murillo, G., Tur, E., Vinardell, MP., Garcia, S., y Pascual, JR.: Evaluación de la irritación ocular mediante un ensayo de hemólisis y desnaturalización de la hemoglobina *in Vitro*. *Rev. Toxicol.* 20:193-198. 2003.