

## UTILIZACIÓN DE UN MÉTODO *IN VITRO* PARA EVALUAR LA TOXICIDAD DE CHAYA, UNA PLANTA NUTRITIVA UTILIZADA EN MEDICINA TRADICIONAL PARA LA DISMINUCIÓN DEL COLESTEROL

Miranda Velásquez L.G.\* , Núñez González M.A., Rodríguez Arzave J.A.

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Química. Ave. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L., C.P. 66450 . \* lmiranda\_velazquez@hotmail.com

### ABSTRACT

La “chaya” (*Cnidoscolus chayamansa* y *Cnidoscolus aconitifolius*) pertenece a la familia de las Euphorbiaceae, es conocida como árbol de espinaca y ha sido cultivada desde la época prehispánica, se usaba como hasta hoy como planta comestible, medicinal y ornamental por más de 10 grupos Mayas y también por otros grupos Mexicanos y Mesoamericanos. Normalmente se encuentra cultivada en huertos familiares o jardines, la hoja algunas veces el pecíolo y los brotes son cosechadas y cocidas para varios tipos de guisados siendo una fuente importante de proteínas, beta caroteno, vitaminas, ácido ascórbico, calcio y hierro o son utilizadas con fines medicinales destacando su propiedad como hipocolesterolémico. El propósito del presente trabajo fue la evaluación preliminar de la toxicidad de tres extractos obtenidos de las hojas de *C. chayamansa* en un modelo *in vitro*, utilizando *Artemia salina*.

### ABSTRACT

The “chaya” (*Cnidoscolus chayamansa* and *Cnidoscolus aconitifolius*) belongs to the family Euphorbiaceae, is known as the tree of spinach and has been cultivated since prehispanic times, as today was used as an edible plant, medicinal and ornamental for more than 10 Maya groups and also Mexican and Mesoamerican groups. Is usually grown in home gardens or gardens and sometimes leaf, petioles and buds are harvested and cooked for various types of stew, is an important source of protein,  $\beta$ -carotene, vitamins, ascorbic acid, calcium and iron or used for medicinal purposes. The aim of this study was the preliminary assessment of the toxicity of three extracts from leaves of *C. chayamansa*, in an *in vitro* model, using *Artemia salina*.

**Palabras clave:** *Artemia salina*, toxicidad, chaya

**Área:** Nutrición y nutraceuticos

## INTRODUCCIÓN

El árbol de espinaca, llamado “chaya” en el sur de Texas, es popular en México y América Central y ha sido introducido recientemente en los Estados Unidos para su uso potencial como una verdura y /o como planta medicinal por la población hispana (Ross-Ibarra, 2002). La chaya es un arbusto de crecimiento rápido y atractivo de 3 a 5 metros de altura que pertenece a la familia de las euforbiáceas. Hay dos especies comunes comestibles: *Cnidoscolus chayamansa* se encuentra en su mayoría en la península de Yucatán hasta Honduras y Cuba, *Cnidoscolus aconitifolius* se encuentra principalmente en el sur de México y Costa Rica, botánicamente ambas son similares morfológicamente, excepto en la forma de la hoja. Los brotes jóvenes de chaya y las hojas tiernas se cocinan y se comen como espinaca, comprenden un importante alimento básico y la principal fuente dietética de vegetales de hoja verde para los pueblos indígenas de la península de Yucatán en México y el pueblo de Kekchi de Alta Verapaz en Guatemala.

Se ha demostrado que las partes comestibles de la planta pueden proporcionar elementos nutricionales importantes para las poblaciones que no pueden pagar alimentos costosos ricos en estos nutrientes (Kuti *et.al.*, 1999). Como medicina, proporciona cuantiosos beneficios al organismo humano, entre ellos está mejorar la circulación sanguínea, ayudar a la digestión, a la visión, desinflamar venas, bajar niveles de colesterol, antidiabético, ayudar a reducir el peso, prevenir la tos, aumentar el calcio de los huesos, descongestionar, prevenir anemia, mejorar la memoria entre otras (Kuti *et.al.*,1996. Kuti *et.al.*,2004).

En la península de Yucatán es fácil encontrarla, pues se vende en casi todos los mercados y supermercados, se consume de muchas formas; como su hoja es blanda se puede añadir a las sopas, pastas, salsas, ensaladas, huevos, panes, no tiene un sabor fuerte así que solo es un condimento más. Para obtener mejores resultados hay que cocinarla a fuego lento o tomarla en forma de té. Una desventaja es la presencia de un factor antinutricional; glucósidos cianogénicos en las hojas, sin embargo el cocinarla, que es esencial, inactiva este compuesto tóxico y este tratamiento tiene poco efecto sobre las propiedades nutricionales de la planta (Kuti *et.al.*,1996).

Mediante un sondeo preliminar *in vitro* se puede obtener información útil de la actividad biológica de plantas para seleccionar aquellas con propiedades potencialmente útiles en el desarrollo de nuevos fármacos. El método que utiliza *Artemia salina* desarrollado por Vanhaecke *et.al.* es propuesto como un bioensayo preliminar, simple y de bajo costo para la investigación de productos naturales (Vanhaecke, *et.al.*, 1981). Posteriormente se acuñó una modificación al método el cual se desarrolla en una microplaca de tal manera que se pueden ensayar varios extractos al mismo tiempo con lo cual el costo y tiempo se reducen aún más (Solis *et. al.*,1992). El procedimiento determina los valores de DL<sub>50</sub> en µg/mL de compuestos y extractos activos en este crustáceo y es una herramienta para medir la toxicidad de los mismos (Bastos *et. al.*, 2009).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Material biológico:**

Para la realización del presente estudio se colectaron las hojas de chaya en la ciudad de Ciénega de Flores, N.L., durante el mes de Junio de 2013, se depositó una muestra en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas, UANL para su clasificación y obtención del número de herbario. El material colectado se lavó, secó a temperatura ambiente y se molió. Para la obtención de los extractos se colocaron 30 gramos de la planta molida en respectivos matraces con los solventes orgánicos (etanol y metanol) se sellaron con tapón de caucho y se sometieron a agitación constante durante 5 días a temperatura ambiente, los extractos obtenidos se evaporaron a sequedad en un rotavapor a presión reducida y se guardaron en refrigeración hasta al análisis (Domínguez, 1973). Adicionalmente se obtuvo un extracto acuoso mediante infusión, colocando 30 gramos de la planta en un litro de agua hirviendo, se dejó hasta que alcanzara la temperatura ambiente, se filtró y el filtrado se liofilizó. Se guardó en congelación hasta su uso (González, 1998). Los tres extractos obtenidos fueron pesados para obtener el porcentaje de rendimiento.

### **Identificación de metabolitos:**

Se realizaron pruebas químicas los extractos obtenidos para determinar la presencia de los siguientes metabolitos secundarios: esteroides, triterpenos, sesquiterpenlactonas, flavonoides, alcaloides y cumarinas. Asimismo se les realizaron pruebas químicas para la identificación de insaturaciones y oxhidrilos fenólicos.

### **Ensayo de letalidad sobre *Artemia salina*:**

Se preparó una disolución acuosa de sal de mar a una concentración de 40 g/L con 1 g/L de levadura de cerveza. 100 mL de esta solución se colocaron en un recipiente especial dividido en dos partes (Figura 1), una de las cuales se encuentra cubierta de tal manera que no recibe luz ahí se colocaron 100 mg de huevecillos de *A. salina*. Posteriormente se colocó una lámpara en el compartimiento expuesto a la luz para atraer a las larvas más fuertes. A las 24 h las larvas que emigraron hacia la luz se colocaron en un recipiente con disolución nueva para ser incubadas nuevamente por 24 h. Posteriormente se succionaron con una micropipeta 100  $\mu$ l del medio salino con larvas (5-10 larvas por pozo) y se depositaron en los pozos de una microplaca a los cuales se les adicionó 100  $\mu$ l del extracto. Para cada extracto se prepararon concentraciones de 1000, 500 y 100  $\mu$ g/ml. Adicionalmente se corrieron un control negativo (solo medio salino) y un control positivo (100% de mortandad) con dicromato de potasio a 600  $\mu$ g/ml. Las larvas sobrevivientes se contaron a las 24 horas y se calculó la DL<sub>50</sub>.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Rendimiento de los procesos de extracción:**

Los rendimientos de los procesos de extracción se calcularon pesando el total de la muestra molida (antes de entrar al proceso de extracción) y pesando la porción del

extracto seco, para luego calcular el porcentaje de rendimiento (Tabla I). Estos resultados nos muestran que el extracto acuoso fue del que más gramos se obtuvieron, siendo esto importante ya que una de las formas en que la chaya se puede consumir es como infusión (te de chaya).

Tabla I. Rendimiento de los tres extractos de hoja de *C. chayamansa*.

Tipo de extracto	Rendimiento (%)
Acuoso	36.2
Etanólico	8.43
Metanólico	8.33

### Identificación de grupos químicos y metabolitos secundarios:

Los resultados obtenidos al realizar las pruebas químicas a cada uno de los extractos obtenidos se presentan en la tabla II donde podemos observar que los metabolitos secundarios relevantes presentes fueron; alcaloides en el extracto acuoso y etanólico y oxhidrilos fenólicos los dos extractos orgánicos.

Tabla II.- Identificación de grupos químicos en los extractos de *C. chayamansa*.

Grupo Funcional	Extracto acuoso	Extracto etanólico	Extracto metanólico
Esteroles y triterpenos	-	-	-
Alcaloides	+	+	-
Carbohidratos	-	+	+
Flavonoides	-	-	-
Sesquiterpenlactonas	-	-	-
Oxidrilos fenólicos	-	+	+
Cumarinas	-	-	-

### Determinación de la toxicidad mediante el Ensayo de Letalidad en *A. salina*.

Esta determinación mostró una  $DL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$  para los tres extractos ensayados a las tres dosis antes mencionadas, de tal manera que siguiendo los criterios de toxicidad establecidos por Meyer *et al.*, donde se establece que aquellos extractos cuya toxicidad esté por arriba de  $1000 \mu\text{g/mL}$  no presentan toxicidad, nos indica que los extractos probados en este estudio no son tóxicos.

### CONCLUSIONES

Para que una planta sea utilizada con fines medicinales es imprescindible el estudio de la toxicidad, existen diversos métodos para hacer esta evaluación sin embargo

muchos de ellos son largos, tediosos y costosos, de ahí que el método que se describe en este trabajo sea importante ya que es rápido, podemos evaluar varios extractos al mismo tiempo y de bajo costo. *C. chayamansa* es utilizada como alimento por la población del sur de México, sus propiedades nutritivas la hacen ser una buena fuente de compuestos de relevancia nutricional de tal manera que es importante el estudio de la toxicidad para descartar algún problema a la salud, el paso siguiente que se recomienda es el estudio de citotoxicidad en cultivos de células normales a fin de corroborar su inocuidad.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bastos, ML., Lima, MR., Conserva, LM., Andrade, VS., Rocha, EM., Lemos. RP. (2009). Studies on the antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bigoniaceae) extracts and their main constituents. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 8:16
- Domínguez, X.A. (1973) Métodos de Investigación Fitoquímica. LIMUSA, México pp. 33
- González MM. (1998). Plantas Medicinales del Noreste de México. IMSS. Monterrey México. pp.5-6.
- Kuti, JO., Torres, ES. (1996). Potential nutritional and health benefits of tree spinach. In: Janick J, editor, Progress in new crops. Arlington, Va.: ASHS Press. p 417–36.
- Kuti, JO., Kuti, HO. (1999). Proximate composition and mineral content of two edible species of *Cnidocolus* (tree spinach). *Plant Food Hum Nutr* 53:275–83.
- Kuti, J., Konuru, HB. (2004). Antioxidant capacity and phenolic content in leaf extracts of tree spinach (*Cnidocolus spp.*). *J Agric Food Chem* 52:117–21.
- Meyer, N., Ferrigni, NR., Putnam, JE. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med* 45:31-32
- Ross-Ibarra, J., Molina-Cruz, A. (2002). The ethnobotany of chaya (*Cnidocolus aconitifolius* ssp. *Aconitifolius* Breckon): a nutritious maya vegetable. *Econ Bot* 56:350–65.
- Solis, PN., Wright, CW., Anderson, MM., Gupta, MP., Phillipson, D. (1992). A microwell cytotoxicity using *Artemia salina* (Brine shrimp). *Planta Med* 59:250-252
- Vanhaecke, P., Persoone, G., Claus, C., Sortgeloos, P. (1981). Proposal for a short-term toxicity test with *Artemia nauplii*. *Ecotoxicol Environ Saf* 5:382-387