

Actividad hemolítica de 22 extractos de plantas del Caribe colombiano

Hemolytic activity of 22 plant extracts from the Colombian Caribbean

Francis Padilla Betancourt¹, Camila Rodríguez Vargas¹, Dilia Mejía Rodríguez², Aracelys Rodríguez Palmera², Gabriel Medina², Isaac de La Rosa Cogollo¹, Érika Rodríguez-Cavallo^{1*} y Darío Méndez-Cuadro^{1*}.

¹. Grupo de Investigación Química Analítica y Biomedicina, Programa de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Cartagena. fpadillab@unicartagena.edu.co

². Centro Tutorial San Juan Nepomuceno, Universidad de Cartagena

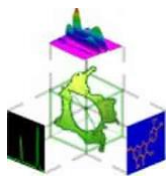
Presentación Poster 6

ABSTRACT

Medicinal plants and herbs from the Colombian Caribbean have historically been used as primary sources for the treatment and prevention of various diseases due to their pharmacological properties ^[1]. However, the toxicological safety of plant extracts has not always received adequate attention. A fundamental aspect for determining the safety of medicinal plant use is the evaluation of their hemolytic activity, which consists of analyzing the ability of these extracts to damage or rupture human erythrocyte membranes ^[2,3]. This is essential to protect health, prevent risks such as hemolytic anemia and kidney damage, and comply with national and international regulatory standards. In this sense, the present study focuses on evaluating the toxicological potential of 22 plant extracts used for medicinal purposes in the municipality of San Juan de Nepomuceno, Bolívar.

The plants were chosen with the help of an ethnobotanical survey applied in the population above. Aerial organs and roots were collected and processed fresh in 50 mL of acidified solvent (MeOH/water acidified with HCl, 40:60% v/v), blended for 5 minutes, and then centrifuged at 4°C for 10 minutes at 7000 rpm. 3.2 mL of the obtained methanolic extracts were neutralized and dried in a vacuum centrifugal concentrator at 1250 rpm. The dry extracts were weighed and reconstituted in DMSO. The different extracts were diluted to 1000 and 100 ppm with 0.9% w/v saline solution.

In parallel, a B+ blood sample was obtained from a healthy donor, which was washed with saline solution and lymphopep to prepare a culture of normal red blood cells (RBCs) with a hematocrit of 4% in saline solution ^[4,5].



REVISTA PRODUCTOS NATURALES

ISSN 1916-2413



Vol. 6 Núm. 1 (2025): I Congreso Colombiano de Productos Naturales

Disponible en línea en

<https://www.nozomiscience.org/index.php/rpn/issue/view/587>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v6i1pp6>



In a 96-well microplate, 100 μL of red blood cells were seeded in triplicate with 100 μL of each dilution of the extracts. Likewise, a hydrolysis curve was prepared with distilled water as a hemolytic agent. The microplates were incubated at 37°C for 48 hours ^[3,6].

After the time elapsed, the absorbance of the supernatants was read, and the concentration of released hemoglobin was determined at 540 nm, with a hemoglobin absorptivity coefficient value of $1.4 \times 10^{-1} \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. The hemolytic capacity of the extracts was determined by comparison with the results obtained in the hydrolysis curve and expressed in terms of percentage. Of the 22 extracts evaluated, those obtained from the leaves of *Chamaecostus cuspidatus*, *Cordyline fruticosa*, and *Erythroxylum coca* produced hemolysis percentages of 62.49%, 13.61%, and 13.33%, respectively, and were considered cytotoxic due to producing a hemolytic effect greater than 10%.

The results obtained in this work allow the identification of plant extracts with cytotoxic potential and others that show low or no hemolytic activity. The viability of these extracts suggests a possible application in biological assays in human blood, such as the search for antimalarial compounds.

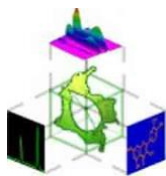
Key words:

Plant, Extracts, Hemolysis, Cytotoxicity, Antimalarial, Erythrocytes.

RESUMEN

Las plantas y hierbas medicinales del Caribe colombiano han sido empleadas históricamente como fuentes primarias para el tratamiento y prevención de diversas enfermedades debido a sus propiedades farmacológicas ^[1]. No obstante, la seguridad toxicológica de los extractos vegetales no siempre ha recibido la atención adecuada. Un aspecto fundamental para determinar la seguridad en el uso de plantas medicinales es la evaluación de su actividad hemolítica, que consiste en analizar la capacidad de estos extractos para dañar o romper las membranas de los eritrocitos humanos ^[2,3]. Es fundamental para proteger la salud, prevenir riesgos como la anemia hemolítica y el daño renal, y cumplir con los estándares regulatorios nacionales e internacionales. En ese sentido, el presente estudio se centra en la evaluación del potencial toxicológico de 22 extractos de plantas empleados con fines medicinales en el municipio de San Juan de Nepomuceno, Bolívar.

Las plantas fueron escogidas con ayuda de una encuesta etnobotánica aplicada en la mencionada población. Órganos aéreos y raíces fueron recolectados y procesados en fresco en 50 mL de solvente acidulado (MeOH/ agua acidulada con HCl, 40:60%v/v), se licuaron por 5 min y luego fueron centrifugados a 4 °C por 10 min a 7000



REVISTA PRODUCTOS NATURALES

ISSN 1916-2413



Vol. 6 Núm. 1 (2025): I Congreso Colombiano de Productos Naturales

Disponible en línea en

<https://www.nozomiscience.org/index.php/rpn/issue/view/587>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v6i1pp6>



rpm. 3,2 mL de los extractos metanólicos obtenidos se neutralizaron y se llevaron a sequedad en un concentrador centrífugo de vacío a 1250 rpm. Los extractos secos, fueron pesados y reconstituidos en DMSO. Con ayuda de solución salina al 0.9%p/v se diluyeron los distintos extractos a 1000 y 100 ppm.

Paralelamente se obtuvo una muestra de sangre tipo B+ de un donante sano, la cual se lavó con solución salina y lymphopep para preparar un cultivo de glóbulos rojos normales (GRN) con un hematocrito del 4% en solución salina ^[4,5].

En una microplaca de 96 pozos se sembraron por triplicado 100 µL de glóbulos rojos con 100 µL de cada dilución de los extractos. Asimismo, se elaboró una curva de hidrólisis con agua destilada como agente hemolítico. Las microplacas se incubaron a 37 °C por 48 h ^[3,6].

Una vez transcurrido el tiempo, se leyó la absorbancia de los sobrenadantes y se determinó la concentración de hemoglobina liberada a 540 nm, con valor del coeficiente de absortividad de la hemoglobina: $1,4 \times 10^{-1} \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. La capacidad hemolítica de los extractos se determinó por comparación con los resultados obtenidos en la curva de hidrólisis y se expresó en términos de porcentaje.

De los 22 extractos evaluados, aquellos obtenidos de las hojas de *Chamaecostus cuspidatus*, *Cordyline fruticosa* y *Erythroxylum coca* produjeron un porcentaje de hemólisis del 62,49%, 13,61% y 13,33%, respectivamente, por lo que fueron considerados citotóxicos al producir un efecto hemolítico superior al 10%, a las concentraciones ensayadas.

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten identificar extractos vegetales con potencial citotóxico y otras que presentan una actividad hemolítica baja o nula. La viabilidad de estos extractos sugiere una posible aplicación en ensayos biológicos en sangre humana, como la búsqueda de compuestos antimaláricos.

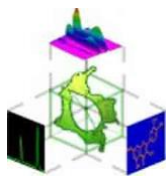
Palabras clave:

Planta, Extractos, Hemólisis, Citotoxicidad, Eritrocitos.

Agradecimientos/Acknowledgements

A la Universidad de Cartagena por el apoyo mediante los proyectos Acta 096-2021 y 078-2023.

To the University of Cartagena for its support through projects Acta 096-2021 and 078-2023.



REVISTA PRODUCTOS NATURALES

ISSN 1916-2413



Vol. 6 Núm. 1 (2025): I Congreso Colombiano de Productos Naturales

Disponible en línea en

<https://www.nozomiscience.org/index.php/rpn/issue/view/587>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v6i1pp6>



Referencias/ References

- [1]. Vergara, S. (2018). Evaluación in vitro de la actividad antimalárica y citotóxica de extractos de plantas provenientes de la costa Caribe colombiana
- [2]. Kogan, F., & Kogan, F. (2020). Malaria burden. *Remote Sensing for Malaria: Monitoring and Predicting Malaria from Operational Satellites*, 15-41.
- [3]. Moll, K., Kaneko, A., Scher, A. & Wahigren, M. (2013). Methods in malaria research. Sixth Edition. EVIMalaR Glasgow, UK.
- [4]. Kaou, A. M., Mahiou-Leddet, V., Hutter, S., Aïnouddine, S., Hassani, S., Yahaya, I., Azas, N., & Ollivier, E. (2007). Antimalarial activity of crude extracts from nine African medicinal plants. *Journal Of Ethnopharmacology*, 116(1), 74-83. [\[DOI\]](#)
- [5]. Mustofa, S. E., & Wahyuono, S. (2007). In vitro and in vivo antiplasmodial activity and cytotoxicity of extracts of *Phyllanthus niruri* L. herbs traditionally used to treat malaria in Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 38(4), 609-615.
- [6]. Opadokun, T. & Rohrbach, P. (2021). Extracellular vesicles in malaria: an agglomeration of two decades of research. *Malaria Journal*. 20(442).