

Evaluación de la actividad citotóxica y fitotóxica del extracto etanólico total de *Spathodea campanulata* obtenido por extracción asistida por microondas

Evaluation of the cytotoxic and phytotoxic activity of the total ethanolic extract of *Spathodea campanulata* obtained by microwave-assisted extraction

Juan David RUIZ MÚNERA; Diana Sofía SÁNCHEZ ORDOÑEZ; Tatiana Andrea SUÁREZ AGREDO; Jennifer Vanessa GONZÁLEZ HURTADO; Juan Carlos ORTIZ LÓPEZ; Fernando José HERNÁNDEZ BLANCO *

Grupo de Investigación en Química de Compuestos Bioactivos (QCB), Departamento de Química, Universidad del Cauca, Calle 5 N° 4-70, Popayán, Colombia. * fjhernandez@unicauca.edu.co

Presentación Poster 43

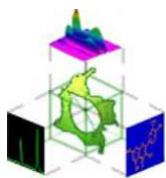
ABSTRACT

A preliminary study of the species known as the African tulip tree (*Spathodea campanulata*), which is characterized by a notable insecticidal effect in its flower ^[1], identified volatile compounds such as ammonium carbamate in pistils and propan-2-amine in stamens and petals using HS/CG-MS. A qualitative phytochemical analysis of the total ethanolic extract (TEE) found families of alkaloids, coumarins, saponins, and flavonoids, to which this insecticidal capacity is attributed. This study continues the research, this time focusing on evaluating the cytotoxic and phytotoxic activity of the TEE obtained by microwave-assisted extraction (MAE).

Biological activity tests are suitable tools for diagnosing toxic effects in organisms under controlled conditions. The extract was subjected to toxicity tests using *Allium cepa*, *Artemia franciscana*, and *Chlorella vulgaris*, evaluating both inhibitory and stimulatory effects through indicators such as mortality, by calculating the LC₅₀.

To evaluate phytotoxicity in *Chlorella vulgaris*, microalgae were cultured in Bristol medium until reaching a cell density of 1x10⁶ cells/mL, equivalent to an absorbance of 1.000 measured by UV spectrometer at 684.5 nm. Subsequently, 0.5 mL of extract at concentrations of 1000, 750, 500, and 250 ppm was added to 4.5 mL of culture, with a control without contaminant ^[2]. The response was evaluated by the reduction of algal growth measured as absorbance compared to the control. The results showed a dose-dependent effect, with an LC₅₀ of 973.5 ± 0.03 ppm, indicating significant phytotoxic activity.

The *Allium cepa* bioassay was conducted to evaluate root growth under controlled conditions. The test consisted of exposing the root part to the extract at concentrations of 1000, 750, 500, and 250 ppm, along with a control. The plant material was prepared by selecting for size and shape, removing the dry epidermis and dead root



remnants without damaging the root ring. The study was conducted for 72 hours, determining the inhibition of average root growth. The statistical analysis of root growth showed an LC_{50} of 763.9 ± 0.4 ppm.

Finally, the cytotoxic activity in *Artemia franciscana* was evaluated by weighing 50 mg of eggs, which after a cleaning stage were subjected to hatching in saline solution. The hatching was carried out in a laminar flow hood, with permanent light and intermittent oxygen flow periods. For the test, a 12-well plate was used, where each well contained 5 mL of the TEE mother solution diluted in the hatching solution to obtain concentrations of 1000, 750, 500, and 250 ppm. After 48 hours, 10 nauplii were added to each well and exposed for 24 hours to the test substance. Finally, an LC_{50} of 554 ± 1.9 ppm was determined.

Spathodea campanulata demonstrates biological activity, with proven toxic effects in model organisms. These findings support its potential application as a biopesticide.

Keywords:

Spathodea campanulata, *Chlorella vulgaris*, *Allium cepa*, *Artemia franciscana*, Total Ethanolic Extract, Toxicity

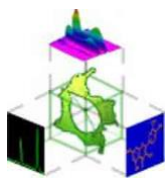
RESUMEN

Un estudio preliminar de la especie conocida como tulipán africano (*Spathodea campanulata*), que se caracteriza por un notable efecto insecticida en su flor ^[1], mediante HS/CG-MS se identificó compuestos volátiles como el carbamato de amonio en pistilos y propan-2-amina en estambres y pétalos. A partir del extracto etanólico total (EET) se realizó un análisis fitoquímico cualitativo encontrando familias de alcaloides, cumarinas, saponinas y flavonoides, a quienes se atribuye esta capacidad insecticida. El presente estudio continúa con la investigación, esta vez al centrarse en evaluar la actividad citotóxica y fitotóxica del EET obtenido mediante extracción asistida por microondas (MAE).

Las pruebas de actividad biológica constituyen herramientas adecuadas para diagnosticar efectos tóxicos en organismos bajo condiciones controladas. El extracto fue sometido a pruebas de toxicidad utilizando *Allium cepa*, *Artemia franciscana* y *Chlorella vulgaris*, evaluando tanto efectos de inhibición como de estimulación mediante indicadores como mortalidad, a través del cálculo de CI_{50} .

Para evaluar la fitotoxicidad en *Chlorella vulgaris*, se cultivaron microalgas en medio Bristol hasta alcanzar una densidad celular de 1×10^6 células/mL equivalente a una absorbancia de 1.000 medida por espectrometro de UV a 684,5 nm. Posteriormente, se agregó 0,5 mL de extracto de concentración de 1000, 750, 500 y 250 ppm a 4,5 mL de cultivo, con un control sin contaminante ^[2]. La respuesta se evaluó mediante la reducción del crecimiento algal medido como absorbancia en comparación con el control. Los resultados mostraron un efecto dosis-dependiente, con un CI_{50} de $973,5 \pm 0,03$ ppm, indicando una actividad fitotóxica significativa.

El bioensayo de *Allium cepa* se realizó sobre la evaluación en el crecimiento radicular bajo condiciones controladas. La prueba consistió en exponer la parte radicular al extracto en concentraciones de 1000, 750, 500 y 250 ppm, junto con un control. Se preparó el material vegetal mediante selección por tamaño y forma, eliminando



la epidermis seca y restos de raíces muertas sin dañar el anillo radicular. El estudio se realizó durante 72 horas, determinando la inhibición en el crecimiento promedio de la raíz. El análisis estadístico del crecimiento radicular arrojó un CI₅₀ de $763.9 \pm 0,4$ ppm.

Finalmente, la actividad citotóxica en *Artemia franciscana* se evaluó pesando 50 mg de huevos, que tras una etapa de limpieza fueron sometidos a eclosión en solución salina. La eclosión se llevó a cabo en una campana de flujo laminar, con luz permanente y períodos intermitentes de flujo de oxígeno. Para la prueba, se utilizó una placa de 12 pozos, donde cada uno contenía 5 mL de la solución madre del EET diluida en la solución de eclosión para obtener concentraciones de 1000, 750, 500 y 250 ppm. Tras 48 horas, se añadieron 10 nauplios a cada pozo y se los expuso por 24 horas a la sustancia de prueba [2]. Finalmente, se determinó un CL₅₀ de $554 \pm 1,9$ ppm.

Spathodea campanulata demuestra actividad biológica, con efectos tóxicos comprobados en organismos modelo. Estos hallazgos respaldan su potencial aplicación como biopesticida.

Palabras clave:

Spathodea campanulata, *Chorella vulgaris*, *Allium cepa*, *Artemia franciscana*, Extracto Etanólico Total, Toxicidad

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la universidad del Cauca, al departamento de química y al grupo de investigación de química de compuestos Bioactivos (QCB).

Referencias

- [1] SUTTON, G. F., *et al.* (2017). Genetic Matching of Invasive Populations of the African Tulip Tree, *Spathodea Campanulata* Beauv. (Bignoniaceae), to Their Native Distribution: Maximising the Likelihood of Selecting Host-Compatible Biological Control Agents. *Biological Control* **114**: 167-175. [DOI]
- [2] CORRALES-MOYA, J., *et al.* (2023). A Potential Consequence for Urban Birds' Fitness: Exposed Anthropogenic Nest Materials Reduce Nest Survival in the Clay-Colored Thrush. *Environmental Pollution* **326**: 121456. [DOI]