

PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE EXTRACTOS ACUOSOS DE ÓRGANOS DE CUVIER, PIEL Y MÚSCULO DE *Brandothuria impatiens* (FORSKAL, 1776) (ECHINODERMATA: HOLOTHUROIDEA)

BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE AQUEOUS EXTRACTS OF SKIN, MUSCLES, AND CUVIER ORGANS OF BRANDOTHURIA IMPATIENS (FORSKAL, 1776 (ECHINODERMATA: HOLOTHUROIDEA)

GLADYS HERNÁNDEZ Y MILAGROS FARIÑAS

Universidad de Oriente. Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis.

RESUMEN

Se probaron las propiedades biológicas de los extractos acuosos de los órganos de Cuvier y de la piel y músculo de la especie holoturoidea *Brandothuria impatiens*. El ejemplar fue disecado separando los órganos de Cuvier y el conjunto de piel y músculo del mismo, los cuales fueron separadamente homogeneizados y centrifugados, constituyendo los sobrenadantes los extractos acuosos. A cada extracto se le probó, actividad hemaglutinante y hemolítica, actividad antibacteriana y antimicótica, se detectaron compuestos pertenecientes a diferentes familias químicas y se realizaron ensayos para comprobar el efecto tóxico sobre *Artemia salina*. A los extractos acuosos activos le fueron precipitadas las proteínas. Todos los extractos exhibieron actividad hemolítica frente a los glóbulos rojos humanos probados, mientras que el precipitado de proteínas no mantuvo dicha actividad. Los extractos poseen alcaloides, taninos, polifenoles y terpenoides. La presencia de saponinas fue evidenciada sólo en el extracto acuoso de piel y músculo. Los extractos en estudio no mostraron actividad hemaglutinante, no inhibieron el crecimiento *in vitro* de los microorganismos ni mostraron efecto tóxico sobre *Artemia salina*. Estos resultados permiten inferir que la actividad hemolítica exhibida por el extracto acuoso de piel y músculo de *B. impatiens* se debe a la presencia de compuestos pertenecientes a la familia química de las saponinas, mientras que la actividad lítica provocada por el extracto de órganos de Cuvier se deba a la presencia de compuestos no detectados en este estudio, considerando que las saponinas y las hemolisinas no fueron evidenciadas en dicho extracto.

PALABRAS CLAVES: hemólisis, saponinas, órganos de Cuvier, *Brandothuria impatiens*.

ABSTRACT

This paper reports on the biological properties of aqueous extracts prepared from the skin, muscle, and Cuvier organs belonging to *Brandothuria impatiens*. The specimen was dissected; its Cuvierian tubules, skin and muscles were separated and then centrifuged, the aqueous extract cohering into the supernatant. Each aqueous extract was tested for hemagglutinating, hemolytic, antibacterial, and antifungal activities. Compounds belonging to different chemical families were detected in them, and trials were undertaken to test these compounds' toxic effects on *Artemia salina*. The aqueous extracts of *B. impatiens* revealed a hemolytic response against the human red blood cells tested, whereas the proteins that had previously been precipitated from the extracts did not. The extracts had alkaloids, tannins, polyphenols, and terpenoids. Saponins were present only in the aqueous extracts of skin and muscle. The samples under study showed no hemagglutinating activity nor inhibited the *in vitro* growth of the microorganisms tested, nor showed any toxic effect on *Artemia salina*. These results suggest that the hemolytic activity exhibited by the aqueous extracts of skin and muscle of *B. impatiens* is owed to the presence of compounds belonging to the chemical family of the saponins, whereas the lytic activity elicited by the Cuvierian tubules extract is mediated by compounds not detected in this study, as saponins and hemolysins were not detected in the latter extract.

Key words: Hemolysis, saponins, Cuvierian tubules, *Brandothuria impatiens*

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos inmemoriales, el hombre ha explorado la naturaleza en búsqueda de compuestos químicos útiles. Tal búsqueda, puede llamarse prospección química, la cual ha resultado exitosa, particularmente en lo que se refiere al descubrimiento de sustancias aplicables a la medicina, de allí que muchas de las más importantes drogas con efecto terapéutico provienen de la naturaleza

o son sintetizadas por el hombre imitando productos naturales (Eisner y Niemeyer, 1996).

Aproximadamente el 47% de los medicamentos obtenidos son de origen vegetal; no obstante, no ha sido sino hasta esta última década cuando se incrementó el interés por los estudios de los organismos marinos como fuente de sustancias biológicamente activas (Morales *et*

al. 2000).

Los organismos del filo equinodermos, clase holoturoideos, se caracterizan por tener un cuerpo alargado del eje oral-basal y cuerpo blando por poseer un número reducido de osículos en su estructura corporal. Algunos de estos organismos reptan sobre el fondo del mar, otros se refugian en rocas y otros son excavadores. La piel de los holoturoideos es de consistencia correa, con osículos diminutos embebidos en ella, aunque unas pocas especies tienen osículos grandes que constituyen una armadura dérmica. Ciertas especies de holoturias tienen órganos de Cuvier o Túbulos de Cuvier en la región posterior del árbol respiratorio que, como mecanismos de defensa, pueden expulsarse en dirección al enemigo. Estos órganos se caracterizan por ser largos, pegajosos y en ocasiones tóxicos (Hickman *et al.* 1999).

Brandothuria impatiens tiene el cuerpo alargado característico de los holoturoideos, es de color marrón claro con pequeñas manchas más oscuras. Sus órganos respiratorios son largos; siendo el derecho más pequeño que el izquierdo. Tiene órganos de Cuvier muy desarrollados. Vive refugiado bajo rocas o corales y es uno de los holoturoideos con más amplia distribución. Existen en las Antillas desde las Bermudas hasta Trinidad, las Islas Hawai, Golfo de California, Costa Pacífica mexicana, Islas Galápagos, Región Panámica y en aguas someras del Mar Caribe (Martínez y Herminson, 1975).

Los equinodermos constituyen uno de los grupos de organismos marinos mayormente estudiados como fuente de compuestos bioactivos, los cuales han sido utilizados empíricamente desde épocas pasadas (Encarnación *et al.* 1991). Más recientemente, se han descubierto, a partir de ellos, cerca de cuarenta nuevos productos naturales, entre estos hidroxiantraquinonas con alta actividad antioxidante Naidenko y Koltsova, (1998), esteroides, polihidróxidos, sulfatos y glicósidos, que actúan inhibiendo la acción de ciertas enzimas y como estimulantes de la inmunidad (Kicha *et al.* 1999).

Específicamente de holoturias o pepinos de mar se han obtenido saponinas capaces de inhibir el crecimiento de células cancerosas, de actuar directamente sobre las células de la sangre y del sistema nervioso central de muchos animales vertebrados (Buitrón y Solís, 1996). Por otro lado, Marcano y Hasegawa (2002), describen a las saponinas como compuestos activos capaces de actuar como estimulante del sistema nervioso central, como antipiréticos, sedantes, expectorantes, antitúxicos, previenen úlceras provocadas por el “stress”,

aceleran la movilidad intestinal y muestran actividad antiinflamatoria.

Además, extractos obtenidos de holoturias han exhibido actividad antimicótica y hemolítica contra glóbulos rojos humanos de diferentes grupos sanguíneos del sistema ABO(H) (Fariñas y Liñero, 1997). Poseen ácidos mucopolisacáridos, los cuales han sido utilizados en el tratamiento de muchas enfermedades (Guo *et al.* 1998). También se les han extraído glicosaminoglicanos como fuente prometedora para la terapia antitrombótica Li *et al.* (2000), y recientemente se han aislado varios glicosfingolípidos con actividad neurotóxica sobre la línea celular PC-12 de ratas (Yamada, 2002).

Diferentes son las especies holoturoideas de las que se han obtenido compuestos con marcada actividad biológica. En el fluido celómico de *Stichopus japonicus* y de *Cucumaria echinata* se han extraído lectinas, que exhibieron actividad hemaglutinante hacia eritrocitos de conejo, pollo y caballo y hemolítica sobre glóbulos rojos de conejos y de humanos (Müller, 1996). De *Fossothuria cubana*, *Ludwigothuria mexicana*, *Ludwigothuria grisea*, *Stichopus badionotus* y *Trichythyronidium occidentale* se ha comprobado actividad antimicótica y hemolítica, atribuida a la presencia de saponinas o hemolisinas (Fariñas y Liñero, 1997). Villasín y Pomory (2000), presumen que posiblemente *Parastichopus parvimensis* posea en la pared de su cuerpo sustancias capaces de producir *in vitro* la inhibición del crecimiento bacteriano.

Considerando que las holoturias han sido reportadas por diversos autores como fuente de metabolitos secundarios, se creyó importante probar algunas actividades biológicas de los extractos acuosos de órganos de Cuvier, piel y músculo de *Brandothuria impatiens*. Para ello, se determinaron las actividades hemaglutinantes y hemolítica, actividad antibacteriana y antimicótica, presencia de familias químicas, (saponinas, alcaloides, taninos, polifenoles y terpenoides) y se detectó el efecto tóxico sobre el branquiópodo *Artemia salina* de los extractos acuosos de órganos de Cuvier, piel y músculo de esta especie holoturoidea, con el fin de que en un futuro podrían contribuir a la elaboración de productos con aplicaciones clínicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta

La holoturia *Brandothuria impatiens*, fue colectada manualmente, con ayuda de buceo autónomo, debajo de

rocas, aproximadamente a 6 metros de profundidad en el sector la Barranca, Bahía de Mochima, Estado Sucre.

Una vez colectada, se colocó en una cava con agua del sitio de colecta por un tiempo prudencial, superior a cuatro horas, tiempo que se estimó suficiente para permitir la excreta del contenido del tracto digestivo. Luego, se lavó con agua de mar para eliminar las adherencias o partículas extrañas y se colocó en una bolsa plástica con hielo seco para su transporte hasta el Laboratorio de Bioactivos Marinos del Instituto Oceanográfico de Venezuela, de la Universidad de Oriente para su identificación hasta la categoría especie, utilizando las características macroscópicas y microscópicas descritas por (Martínez y Herminson 1975).

Macroscópicamente, *B. impatiens* se caracteriza por poseer cuerpo manchado, subcilíndrico con extremo anterior alargado formando un delgado cuello y extremo posterior ancho, tiene órganos de Cuvier muy desarrollados y vive entre rocas y corales. Microscópicamente, posee espículas de torres grandes, discos cuadrados de cuatro huecos centrales y de ocho huecos marginales; botones con tres pares de huecos largos, que la distingue de otras especies (Martínez y Herminson, 1975).

Preparación del extracto acuoso

El ejemplar fue separado en sus partes anatómicas órganos de Cuvier y, en conjunto, piel y músculo. De cada parte anatómica, se pesaron 10 gramos y se homogeneizaron en frío con 100 ml de buffer fosfato salino (PBS) de concentración 0,01mol l⁻¹ y pH 7,4 (SIGMA). El homogeneizado se centrifugó a 3500 rpm por 10 minutos, en una centrífuga (Clay-Adams). El sobrenadante obtenido constituyó el extracto acuoso utilizado en los bioensayos pertinentes.

Actividad Hemaglutinante y Hemolítica

La actividad hemaglutinante y hemolítica se probó mediante el uso de la técnica cualitativa descrita por Landsteiner (1947); citado por (Fariñas y Liñero, 1997). La cual consiste en hacer reaccionar el extracto acuoso con una suspensión al 5% de glóbulos rojos humanos de diferentes grupos sanguíneos del sistema ABO(H).

En tres tubos de ensayo de 10 x 75 mm se añadieron 200 μ l del extracto acuoso y 200 μ l de la suspensión de glóbulos rojos al 5% de los grupos sanguíneos respectivos. Los tubos se centrifugaron en una serofuga a 3500 rpm durante 15 segundos. Con movimientos suaves se

desprendieron las células del fondo del tubo y se observó en una lámpara magnificadora la aglutinación o hemólisis. Los resultados se anotaron de acuerdo a la simbología normalmente utilizada (cruces) cuando se produce la aglutinación: 4+ botón único con fondo transparente, 3+ botón con pequeños grumos y fondo transparente, 2+ pequeños grumos con fondo transparente y 1+ pequeños grumos con fondo turbio.

La hemólisis se determinó con base a las transformaciones físicas de cada suspensión. Cuando ocurre la hemólisis, la solución sanguínea, de viscosidad relativamente elevada y de color rojo claro, cambiará a una solución menos viscosa y de color rojo intenso. Los resultados se reportan de acuerdo a la simbología utilizada: (+) hubo observación de la actividad, (-) ausencia de la actividad.

Precipitación de Proteínas

A los extractos que resultaron activos le fueron precipitadas las proteínas, siguiendo la técnica descrita por Bollag y Eldestein (1992), la cual consiste en mezclar 1000 ml del extracto acuoso con 568 g de sulfato de amonio durante 24 horas a 4°C con agitación constante. Una vez transcurrido el tiempo, la suspensión fue centrifugada a 3500 rpm por 15 minutos en una centrífuga Clay-Adams. El sobrenadante fue descartado y el precipitado resuspendido en PBS para realizar los bioensayos pertinentes.

Actividad Antibacteriana

La actividad antibacteriana de los extractos acuosos se determinó a través del método de antibiograma de difusión en agar descrito por Bauer *et al.* (1966), sobre cepas bacterianas certificadas, suministradas por el postgrado Biología Aplicada, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente; *Escherichia coli* (CVCM 39), *Pseudomonas aeruginosa* (CVCM 625), *Salmonella enterica* (CVCM 497), *Staphylococcus aureus* (CVCM 48), *Bacillus subtilis* (CVCM 438) y *Enterococcus faecalis* (CVCM 924). Para ello, se prepararon suspensiones bacterianas con una densidad de población ajustada aproximadamente a 10⁸ unidades formadoras de colonias (UFC)/ml, comparando su turbidez con un patrón comercial MacFarlan 0,5. Luego, en placas de Petri servidas con agar Müller Hinton (DIFCO), fueron sembradas utilizando un hisopo de algodón estéril. Discos de papel filtro WHATMAN N° 3, de 10 mm de diámetro, se impregnaron con 50 μ l de extracto acuoso. Estos discos se colocaron sobre las placas sembradas y preincubadas a 4°C, durante 6 horas,

para permitir la difusión del extracto. Posteriormente, se incubaron a 37°C, durante 24 horas, para permitir el crecimiento bacteriano.

Los extractos que contenían principios antibacterianos formarían un halo de inhibición de crecimiento de la bacteria alrededor del disco y el diámetro de estos halos serían medidos utilizando un vernier.

Actividad Antimicótica

La actividad antimicótica de los extractos acuosos se determinó siguiendo la metodología descrita por Goren *et al.* (1991); citado por Henríquez, (1995), sobre cepas de hongos, suministradas por el laboratorio de Micología, Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente; *Penicillium sp.*, *Candida sp.*, *Mucor sp.*, *Aspergillus sp.*, *Rhizopus sp.* y *Trichophyton mentagrophytes*. Estas cepas fueron incubadas, durante una semana, a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se le añadieron 10 ml de solución salina fisiológica estéril, se agitó y se filtró para obtener una suspensión de conidios libre de hifas. De cada suspensión, se realizó una dilución de 1/100 y se ajustó a una concentración de 10^6 - 10^8 UFC/ml contando los conidios en una cámara de Neubauer. En placas de Petri servidas con agar papa dextrosa, fueron sembradas 100 μ l de la suspensión y esparcida con una asa de Driglaski. Discos de papel de filtro WHATMAN N° 3, de 10 mm de diámetro, fueron impregnados con 50 μ l del extracto acuoso y colocados sobre las placas sembradas. Las placas se incubaron durante 48 horas a temperatura ambiente para permitir el crecimiento del hongo. Los extractos con principios antifúngicos formarían un halo de inhibición alrededor del disco, cuyo diámetro sería medido utilizando un vernier.

Estudio Químico

La determinación de familias químicas, se realizó aplicando, a cada extracto acuoso, la técnica cualitativa descrita por Marcano y Hasegawa (2002), para detectar la presencia de saponinas, alcaloides, taninos, polifenoles y terpenoides.

Actividad Tóxica

La actividad tóxica de los extractos acuosos, se probó mediante la utilización de la técnica descrita por Meyer *et al.* (1982); citado por Morales *et al.* (2000), la cual consiste en exponer nauplios de *Artemia salina* a concentraciones seriadas de los extractos acuosos con posible efecto tóxico. Para ello, se preparó una solución madre de 10000 μ g/

ml (5 mg de cada muestra a probar en 0,5 ml de PBS) a partir de la cual se prepararon, por triplicado, diluciones decrecientes de 1000; 100; 10; 1,0; 0,1 y 0,01 μ g/ml en viales contenedores de 4,5 ml de agua de mar bifiltrada. Estas soluciones se acompañaron de dos soluciones controles, una preparada con agua de mar bifiltrada y otra preparada con PBS y agua de mar bifiltrada.

A cada vial, se le agregaron 10 nauplios de *A. salina* que se obtuvieron de los quistes cultivados durante 24 horas, en envases plásticos invertidos contenedores de agua de mar y mantenidos a temperatura ambiente $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y en aireación e iluminación continua y permanente.

La mortalidad de los organismos se determinó mediante observación y conteo de nauplios muertos en un microscopio estereoscópico. Los datos obtenidos se procesaron con ayuda del paquete estadístico Stephan (1977), para el cálculo de la concentración letal media o CL_{50} , la cual representó la concentración del extracto acuoso capaz de matar el 50% de los organismos utilizados en el ensayo.

RESULTADOS

Los extractos acuosos de órganos de Cuvier, piel y músculo de *Brandothuria impatiens*, no mostraron actividad hemaglutinante, antibacteriana, antimicótica ni efecto tóxico sobre el branquiópodo *Artemia salina*.

Todos los extractos acuosos probados *B. impatiens* exhibieron actividad hemolítica sobre los glóbulos rojos humanos del sistema ABO(H) (tabla 1).

Tabla 1. Actividad hemolítica (AHL) de los extractos acuosos y del precipitado de proteínas de órganos de Cuvier, piel y músculo de *Brandothuria impatiens* sobre glóbulos rojos humanos de diferentes grupos sanguíneos.

Parte anatómica	Extracto	GRUPOS SANGUÍNEOS			
		A	B	AB	O
Órganos de Cuvier	Acuoso	+	+	+	+
	Precipitado de proteínas	-	-	-	-
Piel y músculo	Acuoso	+	+	+	+
	Precipitado de proteínas	-	-	-	-

Asimismo, fueron detectados en los extractos acuosos ensayados la presencia de alcaloides, taninos, polifenoles, y terpenoides. Las saponinas fueron evidenciadas solamente

en el extracto acuoso de piel y músculo (Tabla 2).

Tabla 2. Pruebas químicas de los extractos acuosos de órganos de Cuvier, piel y músculo de *Brandothuria impatiens*.

Familias químicas	Órganos de Cuvier	Piel y músculo
Saponinas	-	+
Alcaloides	+	+
Taninos	+	+
Polifenoles	+	+
Terpenoides	+	+

DISCUSIÓN

Actividad Hemolítica

En los invertebrados marinos la actividad hemolítica puede ser atribuida a dos compuestos las saponinas y las hemolisinas; las saponinas tienen la propiedad de producir lisis como consecuencia de la capacidad que poseen para alterar la permeabilidad de las membranas celulares y producir la ruptura de los glóbulos rojos (Marcano y Hasegawa, 2002). En cambio, las hemolisinas producen lisis por la capacidad que éstas poseen para formar pequeñas lesiones de la membrana celular de los eritrocitos causando su destrucción (De Jarnette, 1997).

Los extractos acuosos de órganos de Cuvier, piel y músculo de *Brandothuria impatiens* mostraron una fuerte actividad hemolítica; sin embargo, ninguno de los extractos exhibió la presencia de hemolisinas, y el análisis químico detectó la presencia de saponinas sólo en el extracto de piel y músculo. Estos resultados permiten inferir que el compuesto capaz de provocar la lisis de los glóbulos rojos no es de naturaleza proteica y que las saponinas podrían estar involucradas en la actividad hemolítica del extracto acuoso de piel y músculo.

La actividad hemolítica exhibida por *B. impatiens* coincide con la actividad lítica reportada para otras especies de holoturias. Kalinin *et al.* (1996), detectaron actividad lítica por parte de los extractos obtenidos de varias holoturias pertenecientes al orden Dendrochirotida. Fariñas y Liñero (1997), observaron actividad hemolítica por parte de los extractos acuosos de las holoturias *Fossothuria cubana*, *Ludwigothuria mexicana*, *Ludwigothuria grisea*, *Stichopus badiotus* y *Trichytonidium occidentale*. Asimismo, Hatakeyama *et al.* (1999), obtuvieron actividad lítica sobre glóbulos rojos humanos y de conejos a partir de la holoturia *Cucumaria echinata*.

Las saponinas han sido señaladas como sustancias de defensa presentes tanto en la piel como en los órganos internos de algunas especies holoturoideas Buitrón y Solís, (1996) y la mayoría de las actividades que provocan estas sustancias, son consecuencia de su interacción con el esterol presente en las membranas, provocando interferencias en la integridad de las mismas, lo cual podría conducir a la lisis celular (Stonik *et al.* 1999).

Además, las saponinas se pueden convertir en potentes venenos para peces, por su estructura surfactante “detergentes”, de manera que se generan espumas resistentes por agitación en solución acuosa, tienen acción antibacteriana, acción estimulante del sistema nervioso central, acciones antipirética, sedante, expectorante y antiinflamatoria; por otra parte, promueven la síntesis de ARN y de las proteínas (Marcano y Hasegawa, 2002).

De ser las saponinas las responsables de la actividad lítica del extracto acuoso de piel y músculo de la holoturia estudiada, se estaría en presencia de compuestos activos de gran importancia y, por ende, *B. impatiens* sería fuente de compuestos líticos de interés.

Es posible suponer que la actividad hemolítica provocada por el extracto acuoso de piel y músculo se deba a la presencia de saponinas, mientras que la actividad hemolítica exhibida por el extracto acuoso de órganos de Cuvier, se deba a la presencia de otro compuesto lítico no evaluado en este estudio, considerando que en dicho extracto no se evidenció la presencia de saponinas ni de hemolisinas.

Familias Químicas

El análisis químico reveló la presencia de alcaloides, taninos, polifenoles y terpenoides en todos los extractos evaluados, mientras que las saponinas fueron evidenciadas solamente en el extracto acuoso de piel y músculo.

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los obtenidos por diversos autores, quienes han reportado la presencia de compuestos de algunas familias químicas en holoturias. Batrakov *et al.* (1980), aislaron saponinas del conjunto de piel y músculo de *Cucumaria japonica*, Kuznetsova *et al.* (1982), detectaron la presencia de saponinas en *Bohadschia* sp., Bandaranayake y De-Roche (1999), aislaron alcaloides de *Holothuria atra*, Avilov *et al.* (2000), purificaron un triterpeno glicósido (saponinas) de *Pentamera calcigera* y Chludil *et al.* (2002), obtuvieron dos saponinas de *Hemoiedema spectabilis*.

Las saponinas son las sustancias mayormente aisladas de holoturias y están involucradas en el mecanismo de defensa de dichos organismos, son sintetizadas a nivel de los túbulos de Cuvier y expulsadas al exterior junto a estos órganos (Stonik *et al.* 1999). Martínez y Herminson (1975), señalan que *B. impatiens* tiene la propiedad de expulsar sus túbulos de Cuvier cuando es estimulada en cualquier parte de su cuerpo.

Cabe señalar que *B. impatiens* expulsó, inmediatamente a su captura, los órganos de Cuvier. Esta situación permite inferir que la ausencia de este compuesto en el extracto acuoso de los órganos de Cuvier, podría ser atribuido a que el organismo, en el momento de la expulsión de los órganos también pudo haber eliminado la posible saponina presente en ellos.

Las pruebas aplicadas también evidenciaron la presencia de terpenos, taninos y polifenoles en los extractos de órganos de Cuvier, piel y músculo de la especie en estudio; sin embargo, la bibliografía consultada no reporta información acerca de la presencia de dichos metabolitos en extractos acuosos de organismos holoturoideos.

Muchos de los compuestos pertenecientes a los grupos de familias químicas, como saponinas y alcaloides, tienen propiedades anticancerígenas, antivirales, fotoprotectoras, antioxidantes, cicatrizantes, antimicrobianas, e inhibidoras de proteasas Santana *et al.* (2002), lo cual permite inferir que los extractos acuosos de *B. impatiens* se comportan como fuentes de compuestos de familias químicas de interés en el área clínica.

CONCLUSIONES

Los extractos acuosos de *B. impatiens* poseen compuestos hemolíticos capaces de lisar los glóbulos rojos humanos de los diferentes grupos sanguíneos del sistema ABO(H).

B. impatiens posee compuestos pertenecientes a las familias químicas saponinas, alcaloides, taninos, polifenoles y terpenoides.

Los extractos acuosos evaluados de *B. impatiens* no poseen compuestos capaces de provocar la aglutinación de los glóbulos rojos humanos, la inhibición *in vitro* del crecimiento bacteriano ni micótico, ni de exhibir efecto tóxico sobre el branquiópodo *Artemia salina*.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente por haber parcialmente financiado este estudio a través del proyecto CI- 5-1005-0963-00.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVILOV S.A., ANTONOV A.S., DROZDOVA O.A., KALININ V.I., KALINOVSKY A.I., STONIK V.A., RIGUERA R., LENIS L.A. & JIMÉNEZ C. 2000. Triterpeno glycosides from the far Eastern sea cucumber *Pentamera calcigera* 1. monosulfated glycosides and cytotoxicity of their unsulfated derivatives. *J. Nat. Prod.*, 63(1): 65-71
- BANDARANAYAKE W.M & DES-ROCHE A. 1999. Role of secondary metabolites and pigments in the epidermal tissues, ripe ovaries, viscera, gut contents and diet of the sea cucumber *Holothuria atra*. *Mar. Biol.*, 133(1): 163-169.
- BATRAKOV S. C., GIRSHOVICH E.S & DROZHZHINA N.S. 1980. Triterpene glycosides with antifungal activity isolated from the sea cucumber *Cucumaria japonica*. *Antibiotiki.*, 25(6): 408-411.
- BAUER A., KIRBI W., SHERIS I. & TORK M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized disk method. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 45(4): 493-496.
- BOLLAG D. M. & ELDESTEN S. J. 1992. *Proteins Methods*. Wiley-Liss. New York. United States. 230 pp.
- BUITRÓN B. Y SOLIS F. 1996. La biodiversidad en los equinodermos fósiles y recientes de México. *Rev. Soc. Mex. His. Nat.* XLIV: 209-231.
- CHLUDIL H. D., MUNIAIN C.C., SELDES A.M. & MAIER M.S. 2002. Cytotoxic and antifungal triterpene glycosides from the Patagonian sea cucumber *Hemoiedema spectabilis*. *J. Nat. Prod.*, 65(6): 860-865.
- DE JARNETTE J.B. 1997. Isolation and characterization of a hemolytic factor from the serum of the brown bullhead catfish (*Ameiurus nebulosus*). Dissertation. Abstracts International Part B: Science and Engineering, 58(10): 4597 pp.
- EISNER T. Y NIEMEYER H. 1996. Fármacos naturales. *Rev. Cien. Hoy*, 6(33): 1-5.

- ENCARNACIÓN R., CHRISTOPHERSEN C. & LORSEN CH. 1991. Tradicional medicine – a potencial resource exploitation of natural products. The H.C. Ørsted Institute. Copenhagen, Dinamarca. 41 pp.
- FARIÑAS M. Y LIÑERO I. 1997. Producción de lisis y hemaglutinación por extractos acuosos de invertebrados marinos. *Saber*, 9(2): 56-61.
- GUO CH., NI Z. & XU Z. 1998. Advances in the extraction and active research of glycosaminoglycan from echinodermata. *Mar. Sci. Bull.*, 17(5): 84-87.
- HATAKEYAMA T., SATO T., TAIRA E., KUWAHORA H., NIIDOME T. & AOYOGI H. 1999. Characterization of the interaction of hemolytic lectin CEL III from the marine invertebrate, *Cucumaria echinata*, with artificial lipid membranes: involvement of neutral sphingoglycolipids in the pore forming process. *J. Biochem.*, 125(2): 277-284.
- HICKMAN C., LARRY C. Y ALLAN P. 1999. Principios integrales de zoología. Editorial Mcgraw Hill Interamericana. Madrid, España. 921 pp
- HENRÍQUEZ, W. 1995. Compuestos con actividad biológica de *Chromolaena odorata* (L) king et Robinson. Trabajo de Pregrado. Departamento de Química, Universidad de Oriente, Cumaná. 167 pp.
- KALININ V.I., PROKOFIEVA N.G., LIKHATSKAYA G.N., SCHENTSOVA E.B., AGAFONOVA I.G. AVILOV S.A. & DROZDOVA O.A. 1996. Hemolytic activities of triterpene glycosides from the holoturian order Dendrochirotida: some trends in the evolution of this group of toxins. *Toxicon*, 34(4): 475-483
- KICHA A. A., KALINOVSK A. I., IVANCHINA N. V. & STONIK, V. A. 1999. New steroid glycosides from the deep-waters starfish *mediaster murrayi*. *J. Nat. Prod.*, 62(2): 279-282.
- LI Z., WANG H., LI J., ZHANG G. & GAO C. 2000. basic and clinical study on the antithrombotic mechanism of glycosaminoglycan extracted from sea cucumber. *chin. med. j.*, 113(8):706-711.
- MARCANO D. Y HASEGAWA M. 2002. Fitoquímica Orgánica. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Editorial Torino. 588 pp.
- MARTÍNEZ A. Y HERMINSON A. 1975. Contribución al conocimiento de los holoturoideos (Holothuroidea: Echinodermata) de la región oriental de Venezuela. *Bol. Inst. Oceanog. Univ. Oriente*, 14(2): 187-197
- MORALES T., CUBERO J., LANZ Z., GÓMEZ Y. Y SEGNINI DE B M. 2000. Actividad antimicrobiana de extractos orgánicos aislados de *Aplysina fistularis* (Demospongiae: Aplysinidae). *Rev. Biol. Trop.*, 48(1): 199-206.
- MÜLLER K. 1996. Primitive C type lectins, an overview. en: *Lectins Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry* (eds. E. Van Criessche, P. Rougé, S. Beeckmans & T. C. Bog-Hansen). Textop, Francia. 129-160.
- NAIDENKO T. & KOLTSOVA E. A. 1998. The use of antioxidant echinocrome-a in cryopreservation of sea urchin embryos and larvae. *Russ. J. Mar. Biol.*, 24(3): 203-206.
- RUPPERT E. Y BARNES R. 1996. Zoología de Invertebrados. 6ª edición. Editorial Mcgraw-Hill Interamericana, México. 1114 pp.
- SANTANA J., MARIN C., MARTÍNEZ F., PÉREZ R., MONTALVO M., ÁVILA A. Y CORDONIÚ E. 2002. Biodistribución y farmacocinética de taninos de *Pinus caribaea* morelet y *Casuarina equisetifolia* en ratones. *Rev. Cub. Farm.*, 36(2): 112-120.
- STEPHAN C. E. 1977. Methods for calculating an LC₅₀. en: *Aquatic Toxicology and Hazard Evaluations. Astm-Stp6234*. (ed. F.L. Mayer & J.L. Hamelink). American Society for Testing Materials: 65-84.
- STONIK V. A., KALININ V. I. & AVILOV S. A. 1999. Toxins from sea cucumbers (Holothuroidea): chemical structures, properties, taxonomic distribution, biosynthesis and evolution. *J. Nat. Tox.*, 8(2): 235-248.
- VILLASÍN C. & POMORY M. 2000. Antibacterial activity of extracts from the body wall of *Parastichopus parvimensis* (Echinodermata: Holothuroidea). *Fish Shellfish Immunol.*, 10(5): 465-467.
- YAMADA K. 2002. Chemo-Pharmaceutical studies on the glycosphingolipid constituents from echinoderm, sea cucumbers, as the medicinal materials. *Yakugaku Zasshi.*, 122(12): 1133-1143.