

Estudio preclínico normo-glucemiante de los extractos de las hojas de Insulina (*Justicia secunda Vahl*) en ratones

Preclinical normoglycemic study of Insulin (*Justicia secunda Vahl*) leaf extracts

Ana Alarcón Mite¹, Margarita Cajas Palacios², Alexandra Quesada Delgado³, Liliana Cortez Suárez⁴

RESUMEN

El uso de las plantas medicinales para tratar enfermedades se lleva a cabo desde hace varios años es por ello que en el presente estudio pre-clínico se realizó la evaluación del efecto normo-glucemiante de los extractos de las hojas de la planta *Justicia secunda Vahl* Induciendo hiperglicemia en ratones con solución de glucosa al 25%. Los ratones fueron divididos en siete grupos: grupo control normal (A), el grupo glucosa solamente (B), grupo metformina de 500 mg (C), los dos grupos (D y E) extracto etanólico en dosis de "40 µL – 80 µL" y los dos grupos (F y G) extracto acuoso en dosis de "40 µL – 80 µL". Los resultados mostraron que los extractos etanólico y acuoso en dosis de 40 µL disminuyeron los niveles de glucosa a 182,6 mg/dl y 173 mg/dl respectivamente. Un comportamiento parecido experimento el extracto etanólico en dosis de 80 µL disminuyo los niveles de glucosa a 145,3 mg/dl. Por otro lado, el extracto acuoso a la misma dosis no presentó disminución alguna.

Palabras clave: Insulina, *Justicia secunda Vahl*, hiperglicemia, Metformina, efecto normo-glicemiante.

ABSTRACT

The use of medicinal plants to treat illnesses it takes place since few years ago that's why in the current pre-clinic research get realized the evaluation of the Normoglycemia effect from leaves extracts of the (*Justice secunda Vahl*) plant introducing hiperglicemine into mice with glucosa to 25%. The mices were divided in 7 groups: normal control group (A), only the glucose group (B), group metmorfina de 500mg (C), both groups (D and E) ethanolic extract in doses of 40 – 80 and the two groups (F and G) watery extract in doses of 40 – 80. The results shows that ethanolic and watery extracts in doses of 40 decrease the level of glucose to 182.6 mg/dl and 173 mg/dl respectively. At the same way, ethanolic extract in dose of 80 decreased the levels of glucose to 145.3 mg/dl. On the other side, the acuose extract at the same dose didn't present any decrease.

Keywords: Insuline, *Justicia secunda Vahl*, hiperglucose, metformina, effect normo- glicemiant.

Received: Noviembre 20/11/2023

Accepted: Noviembre 20/11/2023

Magister en Farmacia Clínica y Hospitalaria; Química y Farmacéutica; , Docente de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil, Ecuador. Correo electrónico: ana.alarconm@ug.edu.ec , Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-1326-8407> .

Magister en Salud Pública; Licenciada en Nutrición y Dietética, Docente de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil, Ecuador. Correo electrónico: margarita.cajas@ug.edu.ec Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-0339-686X>

Doctora en química y farmacia. Magister en manejo de recursos naturales de la Universidad Agraria del Ecuador. Investigadora, , Docente de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil, Ecuador. Correo electrónico: alexandra.quesada@ug.edu.ec Código Orcid: 0000-0002-3467-6581

Magister en Salud Pública; Diploma Superior en Docencia Universitaria; Doctora en Educación; Bioquímico Farmacéutico; Doctor en Bioquímica y Farmacia; , Docente de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guayaquil, Ecuador, Correo electrónico: liliana.cortezs@ug.edu.ec @ug.edu.ec, Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-4030-7184>



Esta obra está bajo una licencia de creative commons: atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0. Los autores mantienen los derechos sobre los artículos y por tanto son libres de compartir, copiar, distribuir, ejecutar y comunicar públicamente la obra

Introducción

Diabetes mellitus (DM) es un grupo de trastornos metabólicos caracterizados por la hiperglucemia debido a defectos en la secreción o acción de la insulina (1). Entre los procesos fisiopatogénicos involucrados en su aparición están: la destrucción autoinmunitaria de las células β del páncreas generando déficit absoluto de insulina o la resistencia a la misma que provoca que las células β de los islotes pancreáticos no respondan eficientemente (2), ambas conocidas como diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2 respectivamente.

En la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) la destrucción de las células β suele deberse a un mecanismo autoinmune, aunque en un reducido número de casos no existe evidencia de autoinmunidad; por otro lado, en la DM1 idiopática, se observa un fuerte componente hereditario (3,4).

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) por lo general es más común en adultos, la cual supone el 85-95% de los casos de DM, se caracteriza por resistencia a la insulina combinada con el déficit progresivo de producción de esta, siendo diagnosticada solo cuando las complicaciones ya se han desarrollado (3,5,6). La elección del tratamiento debe ser centrada en el paciente, teniendo en cuenta los aspectos fisiopatológicos y los efectos secundarios de los fármacos, así como las comorbilidades y preferencias del paciente en los que las modificaciones de los estilos de vida por sí solos son insuficientes para conseguir el control glucémico (5,7,8).

La diabetes está aumentando de manera progresiva en todas partes. La OMS informa que el 10% de la población mundial, es decir, más de 347 millones de personas sufren esta enfermedad, y que más del 80% de las muertes por diabetes se reconocen en países con ingresos bajos y medios (OMS, 2014). A finales de 2013, la diabetes había causado 5,1 millones de muertes y un coste de 548.000 millones de USD en gasto sanitario. La mayoría de estos casos podrían evitarse, pero sin un enfoque multisectorial de toda la sociedad, la diabetes en todas sus formas impone costes humanos, sociales y económicos inaceptablemente altos en países de todos los niveles de ingresos (9).

En 2014 a escala mundial se calculó que 422 millones de adultos tenían diabetes, en comparación con 108 millones en 1980. La prevalencia mundial de la diabetes (normalizada por edades) ha ascendido a casi el doble (4,7% al 8,5%) en la población adulta (10). Considerando que la diabetes es una alteración crónica que se genera cuando el páncreas no produce insulina o no la utiliza correctamente, cada año más personas viven con esta condición, que desencadena complicaciones a lo largo de la vida (11). La diabetes representó en el 2015 el 14,5% de todas las causas de mortalidad en personas entre 20 y 79 años en el mundo, siendo mayor que el número combinado de muertes por enfermedades contagiosas (12).

En el Ecuador la diabetes mellitus es una enfermedad que consta como una de las principales causas de patología, que al no ser tratada a tiempo traerá graves consecuencias a la salud (13). En el país, más mujeres que hombres perdieron la vida a causa de la diabetes se reporta que en 2016 hubo 2.628 mujeres frente a los 2.278 hombres que murieron por la enfermedad (14).

Por otra parte, en nuestro país diversas plantas son empleadas en la medicina ancestral para tratar diferentes patologías, entre ellas, la planta Justicia secunda Vahl, que es utilizada con fines terapéuticos, en algunos productos farmacéuticos y alimenticios (15,16,17,18), la cual también es conocida popularmente como

insulina, usada para aliviar la sintomatología de la diabetes (19,20,21). La planta Justicia secunda Vahl es utilizada con fines terapéuticos en medicina ancestral, donde diversos estudios preliminares le atribuyen propiedades medicinales para tratar enfermedades como: miomas, enfermedades de la próstata, hipertensión arterial, sepsis, litiasis renal; además de ser usado para normalizar el ácido úrico en sangre y en trastornos glicémicos (22,23,24,25).

En consecuencia, la problemática abordada en el presente estudio es responder a la interrogante sobre: ¿Cómo influyen los extractos etanólicos y acuosos de las hojas de Justicia secunda Vahl en la normalización de los valores de hiperglucemia aguda en ratones?

Por tal motivo, esta investigación tiene por objetivo determinar el efecto normo-glucemiante de los extractos de hojas de Insulina (Justicia secunda Vahl) en ratones. Para ello, se procedió a: a) Inducir hiperglucemia aguda en ratones; b) evaluar valores de glicemia en ratones tratados con los extractos de las hojas de (Justicia secunda Vahl) comparado con el efecto de la metformina; y, c) analizar estadísticamente la actividad normo-glucemiante que presentan los ratones tratados.

De esta forma, el estudio permitió evaluar la acción terapéutica de los extractos etanólicos y/o acuosos de las hojas de la planta Justicia Secunda Vahl, analizando si posee efecto normoregulador sobre los niveles de glucosa, siendo una opción de medicamento natural y económico para el tratamiento de esta alteración en la salud.

Por tanto, la meta de este proyecto es apoyar los conocimientos ancestrales de nuestros nativos mediante el estudio in vivo de las hojas de Justicia secunda Vahl, conocida comúnmente como insulina.

Materiales y métodos

Diseño

El estudio emplea el método descriptivo mediante la observación directa. El tipo de investigación es experimental; por otra parte, es de tipo correlacional ya que se asocia los valores de glucosa en sangre de los modelos experimentales (ratones) con la dosis de los extractos

Procedimiento

El proceso de realización del estudio consistió en la recolección de las hojas de Justicia secunda vahl; posteriormente, se prepararon los extractos, dejando secar las hojas limpias en la estufa METTLER TOLEDO a 60° C por 2 días. Con las hojas secas, éstas se pulverizaron en un molino IKA MF 10 Basic hasta obtener el polvo. El siguiente paso es la preparación de los extractos. Para el extracto acuoso se maceró por 48 horas, 40 g del polvo y 250 ml de agua destilada, la misma que fue filtrada y conservada a una temperatura de 4°C. Para el extracto etanólico se maceró por 48 horas 40 g de las hojas pulverizadas en 150 ml de etanol al 96%, el extracto se filtró y se conservó en refrigeración.

Finalmente, la preparación del medicamento consistió en la trituración de tabletas de metformina de 500 mg y suspendidas en solución salina para facilitar la administración de 10 mg/kg relacionado al peso de cada ratón para cumplir con el ensayo de experimentación.

Materiales

Material biológico:

Comprende 35 ratones que cumplen los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterio de inclusión: Ratones que presenten valores de glucosa en sangre <125 mg/dl.

Criterio de exclusión: Ratones que presenten valores de glucosa en sangre >110 mg/dl.

Reactivos y equipos:

Extracto acuoso de las hojas de Justicia secunda Vahl

Extracto etanólico de las hojas de Justicia secunda Vahl

Jeringas para insulina

Glucómetro Accu-Check Performa Nano Active Active

Tiras reactivas Accu-Check Performa Nano Active Active, otros

Análisis de datos o análisis estadístico

El análisis de datos se efectuó mediante una Evaluación de la Actividad Normo-glucemiante, Medición de Glucosa Basal y Medición de glicemia final.

La administración de los tratamientos se realizó de la siguiente manera: el grupo control normal recibió por vía oral 40 µL, solución salina. Los grupos de extractos tanto acuosos como etanólicos recibieron por vía oral con ayuda de una sonda (40 - 80 µL) de los extractos. El control positivo recibió por vía oral 10 mg/Kg de Metformina en solución salina.

Los resultados que se obtuvieron durante la administración de los diferentes extractos fueron analizados estadísticamente haciendo uso del Test de Student.

Hipótesis

Los extractos obtenidos a partir de las hojas Justicia secunda Vahl regulan los niveles de glucosa en ratones.

Resultados

Los resultados de la Administración de los Extractos de Justicia Secunda Vahl se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Promedio de glicemias (mg/dL) en ayunas

Grupos de Experimentación	Valor de Glicemia Basal (mg/dl)
C-Normal	125,70
C-Metformina	118,80
C-(Glucosa)	108,20
Extracto Etanólico 40 µL	99,75
Extracto Etanólico 80 µL	107,40
Extracto Acuoso 40 µL	120,40
Extracto Acuoso 80 µL	102,00

Fuente: Autores

En la tabla 1 se presentan los valores de la glucosa basal observada en los grupos de los animales de experimentación. El promedio general entre grupos fue (111.75 mg/dl ± 9.91).

Tabla 2. Análisis de datos agrupados de glicemia a los 15 minutos

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las Variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre Grupos	99322,800	5	19864,560	3,523	0,0214
Dentro de los Grupos	101492,533	18	5638,474		
Total	200815,333	23			

Fuente: Autores

Tabla 3. Análisis de datos agrupados de glicemia a los 60 minutos

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Origen de las Variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre Grupos	61515,333	5	12303,066	2,533	0,0663
Dentro de los Grupos	87396,000	18	4855,333		
Total	148911,333	23			

Fuente: Autores

Tabla 4. Factor de significancia de datos individuales por grupos de glicemia a los 15 minutos

Grupos	Control Glucosa	Control Metformina	Ext. Etanólico 40 µL	Ext. Etanólico 80 µL	Ext. Acuoso 40 µL	Ext. Acuoso 80 µL
Control Glucosa	0.0383	0.2612	0.0368	0.0190	0.2333
Control Metformina	0.0383	0.4222	0.0868	0.1809	0.2640
Ext. Etanólico 40 µL	0.2612	0.4222	0.3340	0.4924	0.1318
Ext. Etanólico 80 µL	0.0368	0.0868	0.3340	0.1425	0.0664
Ext. Acuoso 40 µL	0.0190	0.1809	0.4924	0.1425	0.0356
Ext. Acuoso 80 µL	0.2333	0.2640	0.1318	0.0664	0.0356

Fuente: Autores

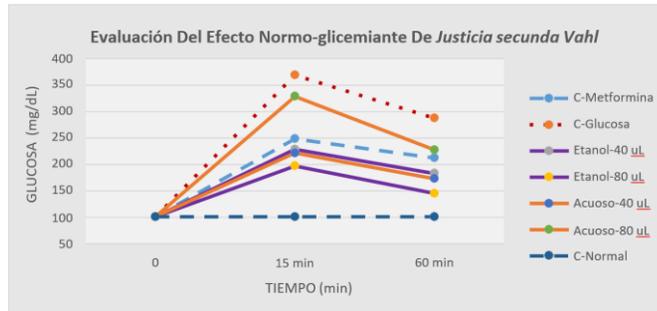
Tabla 5. Factor de significancia de datos individuales por grupos de glicemia a los 60 minutos

Grupos	Control Glucosa	Control Metformina	Ext. Etanólico 40 µL	Ext. Etanólico 80 µL	Ext. Acuoso 40 µL	Ext. Acuoso 80 µL
Control Glucosa	0.1782	0.3013	0.0492	0.0370	0.1755
Control Metformina	0.1782	0.2278	0.0939	0.1041	0.3363
Ext. Etanólico 40 µL	0.3013	0.2278	0.1849	0.4071	0.0829
Ext. Etanólico 80 µL	0.0492	0.0939	0.1849	0.0609	0.0541
Ext. Acuoso 40 µL	0.0370	0.1041	0.4071	0.0609	0.0829

Ext. Acuoso 80 μ L	0.1755	0.3363	0.0829	0.0541	0.0829
---------------------------	--------	--------	--------	--------	--------	-------

Fuente: Autores

Gráfico 1. Curvas de glicemia en grupos de animales control y animales tratados con extractos etanólicos y/o acuosos de Justicia secunda Vahl a los 0, 15 y 60 minutos de tratamiento.



Fuente: Autores

La hiperglicemia fue inducida por administración de una solución de glucosa al 25%. Tanto el grupo de control positivo con metformina como los grupos que recibieron tratamiento con extractos etanólicos o acuosos presentaron reducción en los valores de glicemia a los 15 y a los 60 min después de administración.

Al haber transcurrido 60 minutos del tratamiento en los ratones de experimentación los niveles de glucosa en los grupos extractos etanólicos con dosis de 40 μ L y 80 μ L disminuyeron mostrando un comportamiento similar al grupo control (+) tratado con metformina (215,5 mg/dL). No se observó descenso significativo en los niveles de glicemia en el grupo tratado con el extracto acuoso en dosis de 80 μ L a los 60 minutos (227,4 mg/dL, Gráficos 1 y 3).

Gráfico 2. Curvas de glicemia en grupos de animales control y animales tratados con 40 μ L de extractos etanólicos y/o acuosos de Justicia secunda Vahl en tiempos de 0, 15 y 60 minutos de tratamiento.



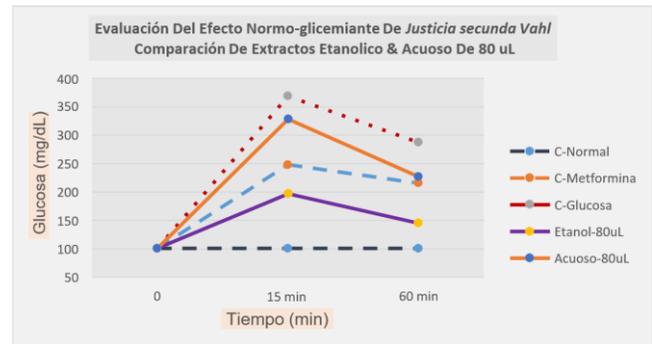
Fuente: Autores

En dosis de 40 μ L y a los 15 min, en el grupo tratado con el extracto etanólico se observó disminución substancial de la glicemia (228.6 mg/dl) comparado con el grupo control negativo (368.8 mg/dl, glucosa solamente). A los 60 min, en el grupo tratado se observó glicemia de 182.6 mg/dl comparado con 287.4 mg/dl del grupo control de glucosa solamente (Gráfico 2). A pesar de la tendencia observada, las diferencias entre los grupos no alcanzaron significancia estadística ($p=0,2612$ y $p=0,3013$ respectivamente, tablas 4 y 5).

De igual manera, en dosis de 40 μ L a los 15 minutos, el grupo tratado con el extracto acuoso se observó disminución substancial de la glicemia (221,6 mg/dl) en comparación con el grupo control negativo (368.8 mg/dl, glucosa solamente). A los 60 minutos en el

grupo tratado se observó glicemia de 173 mg/dl mostrando diferencia significativa en comparación con el grupo que recibió glucosa solamente (287.4 mg/dl). El análisis estadístico detectó significancia para ambas comparaciones ($p=0,0190$ y $p=0,0370$ respectivamente, Tabla 4 y 5)

Gráfico 3. Curvas de glicemia en grupos de animales control y animales tratados con 80 μ L de extractos etanólicos y/o acuosos de Justicia secunda Vahl en tiempos de 0, 15 y 60 minutos de tratamiento.



Fuente: Autores

En dosis de 80 μ L y a los 15 min, en el grupo tratado con el extracto etanólico se observó disminución substancial de la glicemia (197 mg/dl) comparado con el grupo control negativo (368.8 mg/dl, glucosa solamente). A los 60 min, en el grupo tratado se observó glicemia de 145,3 mg/dl comparado con 287.4 mg/dl del grupo control de glucosa solamente, mostrando diferencia entre ambos grupos. En ambos casos las diferencias, alcanzaron significancia estadística ($p=0,0368$ y $p=0,0492$ respectivamente, tablas 4 y 5).

En comparación similar, en dosis de 80 μ L a los 15 minutos en el grupo tratado con el extracto acuoso no se observó disminución substancial de la glicemia (328,4 mg/dl) en comparación con el grupo control negativo (368.8 mg/dl, glucosa solamente). Sin embargo, a los 60 minutos en el grupo tratado se observó glicemia de 227,4 mg/dl mostrando descenso en los niveles de glucosa en comparación con el grupo que recibió glucosa solamente (287.4 mg/dl). En análisis estadístico estas diferencias no fueron significantes ($p=0,2333$ y $p=0,1755$ respectivamente, tablas 4 y 5).

Discusión

La hiperglicemia fue inducida por administración de una solución de glucosa al 25%. (Tomado del análisis de las tablas de resultados)

Tanto el grupo de control positivo con metformina como los grupos que recibieron tratamiento con extractos etanólicos o acuosos presentaron reducción en los valores de glicemia a los 15 y a los 60 min después de administración. (Tomado del análisis de las tablas de resultados)

Según los resultados obtenidos en este estudio en el tratamiento con el extracto etanólico en ambas dosis (40 y 80 μ L) de las hojas de Justicia secunda Vahl se observó actividad normo-glicemiente en un modelo de hiperglicemia aguda en ratones. Por otro lado, la administración del extracto acuoso en dosis de 40 μ L presentó efecto normo-glicemiente en los tiempos de 15 y 60 minutos. Sin embargo, el extracto acuoso en dosis de 80 μ L no mostró actividad. Por lo tanto, se puede deducir que el ex-

tracto etanólico aparentemente fue más activo comparado con el extracto acuoso.

En la determinación de sólidos totales de los extractos de las hojas de planta Justicia secunda Vahl se concluye que los resultados se encuentran dentro de la norma establecidas para el contenido de sólidos totales en una muestra líquida.

En las características fisicoquímicas observamos que el extracto etanólico presentó olor agradable, aunque con el pH y densidad baja; el extracto acuoso desprendió olor agradable y pH cercano a la neutralidad.

Estudios anteriores reportaron actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana y antinociceptiva en extractos de Justicia secunda Vahl. Pero al momento no se han hallado investigaciones preliminares como normo-glucemiante. Por lo tanto, este es el primer estudio en investigar actividad normo-glucemiante.

Referencias

1. (ADA) AAdD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2018; 5(3): p. 65-70.
2. Pérez-Díaz I. Diabetes mellitus. *PERMANYER*. 2016; 3(3): p. 50-5.
3. ADA. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2019. *Diabetes Care*. 2019; 4(3): p. 13-28.
4. Rojas J, Bermudez V, Palmar J, Martínez MS, Olivar LC, Nava M, et al. Pancreatic Beta Cell Death: Novel Potential Mechanisms in Diabetes Therapy. *Journal of Diabetes Research*. 2018; 4(2): p. 1-19.
5. Zhao Y, Xu G, Wu W, & Yi X. Type 2 Diabetes Mellitus-Disease, Diagnosis and Treatment. *Journal of Diabetes and Metabolism*. 2015; 6(5): p. 532-533.
6. Aguirre F, Brown A, Cho NH. Atlas de la Diabetes de la FID. Federación Internacional de Diabetes. 2018; 12(2): p. 13-14.
7. Chaudhury A, Duvooc C, Reddy V, Kraleti S, Chada A, Ravilla R, et al. Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management. *Frontiers in Endocrinology*. 2017; 3(2): p. 1-12.
8. Alhadramy MS. Diabetes and oral therapies: A review of oral therapies for diabetes mellitus. *Journal of Taibah University Medical Sciences*. 2016; 6(2): p. 317-329.
9. FID. Creciente Número de Personas con Diabetes. Federación Internacional de Diabetes. 2013; 10(2): p. 10-12.
10. OMS. Insuficiencia a las enfermedades no transmisibles. Organización Mundial de la Salud. 2015; 2(8): p. 20-23.
11. Kharroubi AT, Darwish HM. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World Journal Diabetes*. 2015 junio; 5(1): p. 850-867.
12. FID. Control Terapeutico en Diabetes Gestacional. Federación Internacional de Diabetes. 2018; 9(3): p. 25-26.
13. Rojas R OG. Management complications of type 2 diabetes: Diabetes mellitus tipo 2 (GPC). 2017; 7(8): p. 16-17.
14. INEC. Instituto Nacional de Estadística y Censos. [Online].; 2017 [cited 2023. Available from: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/diabetes-segunda-causa-de-muerte-despues-de-las-enfermedades-isquemicas-del-corazon/#comment-166364>.
15. Mpiana P, Ngbolua K, Bokota M, Kasonga T, Atibu E, Tshibangu D, et al. In vitro effects of anthocyanin extracts from Justicia secunda Vahl on the solubility of haemoglobin S and membrane stability of sickle erythrocytes. *Journal of Blood Transfusion*. 2010; 10(6): p. 2-5.
16. Rojas J, Ochoa V, Ocampo S, 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 Complementary and Alternative Medicine*. 2006; 14(3): p. 2-4.
17. Corrêa G, Alcântara A. Chemical constituents and biological activities of species of Justicia. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2012; 22(1): p. 220-238.
18. Gómez Huelgas R, GPF, Rodríguez Manas L, Formiga F, Puig Domingo M, Mediavilla Bravo JJ, Ena J. Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en el paciente anciano. *Revista Clínica*. 2017; 3(4): p. 74-88.
19. Theiler B, Istvanits S, Zeh M, Marcourt L, Urban E, Espinoza Caisa L, et al. HPTLC Bioautography Guided Isolation of α -Glucosidase Inhibiting Compounds from Justicia secunda Vahl (Acanthaceae). *Phytochemical analysis*. 2017 Marzo; 28(2): p. 87-92.
20. Onoja S, Ezeja M, Onwukwe B. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of methanolic extract of Justicia secunda Vahl leaf. *Alexandria Journal of Medicine*. 2017 Agosto; 53(3): p. 207-213.
21. Gomez-Verjan JC, Reyes-Chilpa R, Aguilar MI. Chemistry and Pharmacology of Selected Asian and American Medicinal Species of Justicia. *Bioactive Phytochemicals: Perspectives for Modern Medicine*. 2012 Septiembre; 3(1): p. 415-417.
22. García J LY. Notas sobre la presencia de Justicia secunda (Acanthaceae) en Cuba. *Revista Infocencia*. 2013 julio; 5(7): p. 5-8.
23. Cantillo J, GJ, BR, JB, & OJ. Evaluación de la toxicidad aguda (CL50) frente a Artemia franciscana y la actividad hemolítica de los extractos acuosos, en diclorometano y metanólico parcial de Justicia secunda (Vahl). *Scientia et Technica*. 2007 abril; 8(5): p. 257-258.
24. Ghasemzadeh A, Ghasemzadeh N. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011 diciembre; 3(4): p. 2-4.
25. Smeds AI, Eklund PC, Willför SM. Content, composition, and stereochemical Characterisations of lignans in berries. *Food Chemistry*. 2012 octubre; 14(4): p. 10-12.