

## TOXICIDAD AGUDA ORAL DEL EXTRACTO METANÓLICO DE HOJAS DE *Dracontium spruceanum* L

ACUTE TOXOCITY BY ORAL INTAKE OF METHANOLIC EXTRACT OF *Dracontium spruceanum* L LEAVES

Liz Pérez<sup>1</sup>, Alfonso Apesteguía<sup>2</sup>

### RESUMEN

El presente estudio busca determinar la toxicidad aguda oral del extracto metanólico de las hojas de *Dracontium spruceanum* L por vía oral en ratones de la especie *Mus musculus* albino hembras, de acuerdo con los procedimientos de la guía toxicológica establecida por la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OECD – 453). Para ello, se probó el extracto en una única dosis de 2000 mg/kg de peso corporal y se observó por 14 días que ningún animal murió, por lo que se aumentó la dosis a 5000 mg/kg en dosis única y se monitoreó por 14 días más, con el mismo resultado. Durante el estudio, se observó el comportamiento de los animales para luego relacionar algunos signos con las observaciones histopatológicas que se realizarán posteriormente; finalmente, se concluye que a dosis menores de 5000 mg/kg el extracto metanólico de hojas de *Dracontium spruceanum* L resulta no letal para la especie *Mus musculus* albino.

**Palabras clave:** toxicidad aguda oral, *Dracontium spruceanum*, extracto metanólico

### ABSTRACT

The present study aimed to determine the acute toxicity produced by oral intake of methanolic extract of *Dracontium spruceanum* L leaves by female albino *Mus musculus* mice according to the procedures of the toxicological guide of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD - 453). A single oral dose of 2000 mg / kg body weight of extract was administered, with no deaths being observed at 14 days. Another single oral dose of 5000 mg / kg was administered achieving the same result at 14 days. The behavior of the mice as well as the histopathological observations were registered. It was concluded that doses less than 5000 mg / kg of methanolic extract of *Dracontium spruceanum* L leaves is not lethal in albino *Mus musculus* mice.

<sup>1</sup> MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA, UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. LIMA, PERÚ.

<sup>2</sup> CENTRO DE INFORMACIÓN Y CONTROL TOXICOLÓGICO (CICOTOX), UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS. LIMA, PERÚ.

**Keywords:** acute oral toxicity, *Dracontium spruceanum*, methanolic extract

## INTRODUCCIÓN

El *Dracontium spruceanum* L, planta conocida por el nombre común de sacha jergón, es un recurso vegetal originario de la selva amazónica y usado tradicionalmente con fines terapéuticos contra el veneno de serpientes (1). También es usado popularmente para tratar el cáncer. En este último caso, se ha probado el extracto con diferentes solventes del cormo y las hojas *in vitro* sobre células cancerosas de diversos tipos, con resultados prometedores. Queda aún pendiente profundizar los estudios toxicológicos, que deberían avanzar a la par. En cuanto a los ensayos toxicológicos, es necesario poner énfasis en la importancia de realizarlos tanto *in vitro* como *in vivo*, para tener mayor data antes de realizar recomendaciones sobre el uso de alguna planta en general a nivel popular. Cabe destacar también que estos estudios de toxicidad ayudan a ajustar las dosis recomendadas de los extractos vegetales, en conjunto con los datos sobre las dosis provenientes de estudios de efectividad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se desarrolló un estudio experimental y observacional para el ensayo de toxicidad aguda oral, según la OECD 423 Guideline for the Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity Class Method.

### RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Las hojas de *Dracontium spruceanum* fueron colectadas en la ciudad de Lamas, en el departamento de San Martín.

### ELABORACIÓN DEL EXTRACTO

Las hojas fueron lavadas y secadas a 40 °C, molidas y tamizadas para luego macerarlas por 5 días con metanol. Se maceró la planta molida al 20 % con el solvente y se sonicó diariamente por 60 minutos a 30 °C.

Luego se filtró con un tocuyo y, seguidamente, con papel Whatman n.º 1. El filtrado fue concentrado en un rotavapor (35 °C, 24 rpm y 200 mbar) y el solvente recuperado se utilizó para repetir la extracción tres veces más. Los concentrados fueron reunidos y llevados a sequedad en estufa a 30 °C.

### PREPARACIÓN DE LOS ANIMALES

Se preparó los animales para realizar el ensayo de toxicidad aguda oral, en el que se administró por vía oral diferentes dosis de extracto metanólico de las hojas de *Dracontium spruceanum* y se dispuso de 9 ratones hembra albinos, cuyo peso osciló entre 21 y 30 g.

Los animales fueron acondicionados en el bioterio C de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en las mismas condiciones de iluminación y temperatura. Se los separó en jaulas, según la cantidad y los grupos establecidos para los ensayos; se les pintó con diferentes colores la cola para identificarlos por grupos y 24 horas antes fueron sometidos a ayuno.

Los ratones fueron mantenidos en un ambiente con temperatura controlada 22 °C (+ 3 °C) y con una humedad relativa del 30%-70%. La iluminación fue artificial, con la secuencia de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

## PREPARACIÓN DEL VOLUMEN A ADMINISTRAR

Se preparó la concentración del extracto metanólico de 200 mg/mL. Las dosis que se emplearon para el presente ensayo fueron 300 mg/kg, 2000 mg/kg y 5000 mg/kg. Para el cálculo del volumen que se administró a los animales, se procedió a pesarlos y, de acuerdo con el peso de cada ratón, se calculó la dosis que fue administrada por vía oral usando sondas orogástricas.

Los extractos metanólicos desecados se disolvieron en agua destilada con Tween al 1%.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

Para determinar la toxicidad aguda y la dosis letal media (DL50) del extracto metanólico de las hojas de *Dracontium spruceanum* en ratones hembra albinos, se utilizaron 12 especímenes, los cuales fueron distribuidos en 4 grupos, cada uno conformado por 3 individuos, 1 grupo de control y 3 grupos de experimentación, a los cuales se les administró dosis de 300 mg/kg, 2000 mg/kg y 5000 mg/kg, según el volumen calculado.

En el día séptimo, se procedió a pesar a todos los animales.

Al terminar el periodo de observación, se procedió a pesar a los animales por grupo, para luego someterlos a una necropsia. Los diferentes órganos fueron almacenados en un recipiente y con formol al 10% para su conservación.

Se tomaron órganos como hígado y riñones, que fueron enviados al laboratorio histopatológico para su respectivo análisis.

## RESULTADOS

Se observó signos de irritabilidad como *grooming* (acicalamiento facial) con las dosis de 2000 y 3000 mg/kg, los cuales no se presentaron en el caso de la dosis más baja (300 mg/kg), lo que muestra una diferencia respecto de las dosis más altas. Por otro lado, en la dosis máxima propuesta, de 2000 mg/kg, no se evidenció letalidad, por lo que se consideró aumentarla a 5000 mg/kg, lo que tampoco evidenció letalidad, y se pudo reportar una dosis letal media mayor a 5000 mg/kg.

## DISCUSIÓN

En los resultados se puede observar que las hojas de *Dracontium spruceanum* no evidencian toxicidad con las dosis estudiadas (dosis máxima de 5000 mg de extracto metanólico por kilogramo de peso corporal en ratones).

Estos resultados son complementarios y están acordes con otros estudios de toxicidad *in vivo* e *in vitro* realizados previamente. Por ejemplo, en pruebas iniciales de toxicidad sobre *Artemia salina*, se evidenció que, a una concentración máxima de 1000 µg/mL de extracto etanólico de hojas de *Dracontium* se genera una letalidad del 26%, por lo que se le clasificó como “no tóxico” (2).

FALTA  
título tabla

TABLA 1.

Extracto	Dosis	300 mg/kg	2000 mg/kg	5000 mg/kg
<i>Dracontium spruceanum</i> (hojas)		0,26 mL	0,58 mL	0,66 mL
		0,26 mL	0,57 mL	0,67 mL
		0,26 mL	0,58 mL	0,60 mL

Después de la administración, los ratones estuvieron bajo observación continua durante cuatro horas, para determinar la existencia de síntomas clínicos que permitieran evaluar la toxicidad aguda.

La experimentación se prolongó durante 14 días. Durante ese periodo, se les racionó la comida y se tomó el volumen de agua a diario.

TABLA 2. SIGNOS OBSERVADOS DURANTE EL ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA ORAL DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *DRACONTIUM SPRUCEANUM*

GRUPO	NÚMERO DE ANIMALES	MUERTOS	VIVOS	OBSERVACIONES
300 mg/kg	3	0	3	Comportamiento igual al del grupo control, no se evidenciaron signos de toxicidad
2000 mg/kg	3	0	3	Acicalamiento a los 20 minutos, pero 1 hora después se recuperó el comportamiento normal.
5000 mg/kg	3	0	3	Acicalamiento, taquicardia, agresividad a los 10 minutos de administración, signos que desaparecieron a las 3 horas. En los días posteriores hubo ausencia de signos.
control	3	0	3	No se evidenció ningún signo de toxicidad.

Con esta misma concentración de 1000  $\mu\text{g/mL}$  se evidenció un efecto citoprotector en lesiones gástricas causadas por etanol en ratas, al administrar 8 mL/kg de peso (3), y a una dosis cercana, de 900  $\mu\text{g/mL}$  de extracto metanólico de hojas, se probó también mediante la técnica *in vitro* MTT sobre una línea celular MDCK (epitelio de riñón canino Madin-Darby), sin mostrar efectos tóxicos tampoco (4). Cabe mencionar que, en un estudio con el extracto metanólico de hojas sobre la línea celular de cáncer gástrico AGS, se evidenció citotoxicidad sobre estas células con dosis de 1000  $\mu\text{g/mL}$  y se calculó una DL50 de 47,3  $\mu\text{g/mL}$  después de 48 horas probado con la técnica colorimétrica de resazurina. Además, se comprobó el efecto antiinflamatorio a la misma concentración de extracto por la técnica del grado de protección de la membrana eritrocitaria (5).

Respecto de los resultados de la toxicidad aguda oral, se reporta otro estudio del bulbo de *Dracontium* en ratones, con una dosis máxima de 500  $\mu\text{g/ratón}$ , en dosis única, y no se reportó letalidad durante las siguientes 72 horas (1). Estos resultados coinciden con los obtenidos en este estudio, en el que la dosis máxima fue de 5000 mg/kg de peso corporal. Si se considera que el peso promedio de los ratones fue de 30 gramos, se estima que cada uno, a dosis máxima, recibió un aproximado de 150 mg, es decir, 150 000  $\mu\text{g}$  de extracto por ratón. Sin

embargo, una diferencia fue que en el presente estudio se probó con el extracto metanólico de las hojas y en el estudio donde se usó la dosis de 500  $\mu\text{g/ratón}$  se empleó el extracto acuoso del bulbo de *Dracontium*. Cabe destacar que en este estudio se usaron dosis muy superiores y aun así se reportó la no letalidad en los ratones.

Con relación a los signos que mostraron los ratones durante el presente estudio, se pudo evidenciar, a la dosis máxima, una corta taquicardia, la cual podría deberse a componentes como el sitosterol y el estigmasterol, los cuales están presentes en esta planta (6), los cuales, junto con las oxilipinas, han demostrado tener efectos hipotensores considerables (7) y se conoce que existe relación de la taquicardia como mecanismo de compensación a la hipotensión (8). También se puede considerar que este signo, junto con la agresividad que mostraron los ratones, podría deberse un estrés posmanipulación.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó gracias al apoyo financiero del Fondecyt-Concytec Contrato 13-2017 con la Universidad Científica del Sur, y gracias al apoyo del Dr. José Amiel Pérez, responsable del proyecto, así mismo al Cicotox, que me permitió desarrollar los experimentos en sus instalaciones.

## V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lovera A, Bonilla C, Hidalgo J. Efecto neutralizador del extracto acuoso de *Dracontium lorentense* (JERGÓN SACHA) sobre la actividad letal del veneno de *Bothrops atrox*. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2006; 23 (3): 177-81.
2. Sandoval A, Flores JV, Calla K, Alba R, Lloclla H, Sotero S, et al. Toxicity in *Artemia salina* by hydroalcoholic extracts of monocotyledonous and dicotyledonous varieties of medicinal plants from the Peruvian Amazon. Chemical Engineering Transactions. 2020; 79: 367-72.
3. Trejo Blácido JY. Efecto citoprotector del Jergón Sacha (*Dracontium lorentense*) en lesiones gástricas inducidas con etanol en ratas de laboratorio [Tesis de grado]. Huánuco: Universidad Nacional Hermilio Valdizán; 2018.
4. Manrique Holguín PC. Evaluación *in vitro* del efecto antimicrobiano y citotóxico del extracto metanólico *Dracontium lorentense* (jergón sachá) sobre cepas de *Candida albicans* (ATCC®10231TM), *Streptococcus mutans* (ATCC®25175TM) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC®10556TM) [Internet] [Tesis de grado]. Lima: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2017. Disponible en [https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/622864/Manrique\\_HP.pdf?sequence=5&isAllowed=y](https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/622864/Manrique_HP.pdf?sequence=5&isAllowed=y)
5. Miranda García VE. Evaluación de la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* del extracto metanólico de hojas de *Piper aduncum*, *Buddleja incana* y *Dracontium spruceanum* [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019.
6. Collantes Díaz IE, Gonçalves E, Yoshida M. Constituyentes químicos del túbero de *Dracontium spruceanum* (Schott) G.Zhu ex *Dracontium lorentense* Krause (Araceae). Revista de la Sociedad Química del Perú. 2011; 77 (2): 117-26.
7. Olaiya C, Esan A, Alabi T. Ameliorative effects of  $\beta$ -sitosterol on some biochemical indices of hypertension in wistar albino rats. Afr J Med Med Sci. 2014; 43 (Suppl 1): 157-66.
8. Victorino GP, Battistella FD, Wisner DH. Does tachycardia correlate with hypotension after trauma? J Am Coll Surg. 2003; 196 (5): 679-84.

RECIBIDO: 20/09/2020

ACEPTADO: 14/10/2020

CORRESPONDENCIA: evelyn773@gmail.com (LIZ PÉREZ)