

# Toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de la planta *Chuquiraga jussieui*, administrado vía oral en ratas

## Alex Dueñas Rivadeneira MSc.

Docente Agregado Tiempo Completo,  
Universidad Técnica de Manabí, Doctorante del  
Centro de Bioactivos Químicos, Universidad  
Central de las Villas República de Cuba  
aduenas@utm.edu.ec

### Otros Investigadores participantes:

## Dr.C. Remigio Cortés Rodríguez

Centro de Bioactivos Químicos  
Doctor en Ciencias.  
Profesor Auxiliar

## Dr. Osmany Marrero Chang

Centro de Bioactivos Químicos  
Máster en Toxicología Experimental  
Investigador Agregado

## Dr.C. Jorge A. Pérez Donato

Centro de Bioactivos Químicos  
Profesor Auxiliar  
Doctor en Ciencias

## Dr.C. Ervelio Eliseo Olazábal Manso

Centro de Bioactivos Químicos  
Doctor en Ciencias

## RESUMEN

Se evaluó la toxicidad por administración oral a dosis única de un extracto hidroalcohólico concentrado de la planta *Chuquiraga jussieui*. El estudio se realizó en ratas de la línea Sprague Dawley (Cenp:SD) y se aplicó el método de dosis fija a dosis límite OECD 423<sup>5</sup>. El extracto se administró por vía oral en dosis única de 2000 mg/kg en un volumen de 20 mL/kg de peso corporal. No se observaron signos de toxicidad durante los 14 días post administración en los animales en estudio. Hubo ganancia de peso en todos los animales del grupo. No se apreciaron lesiones anatomopatológicas macroscópicas en los animales tratados con la dosis del producto de ensayo. El extracto hidroalcohólico concentrado de la planta *Chuquiraga jussieui* se catalogó como No Clasificado según la metodología de la OMS y como Categoría 5 por la GHS, OECD, por lo que se considera de muy baja toxicidad vía oral.

**Palabras claves:** Metabolitos, tamizaje, dosis fija, modelos biológicos, DL 50.

## ABSTRACT

Toxicity was evaluated by single dose oral administration of an extract concentrated hydroalcoholic *Chuquiraga jussieui* plant. The study was conducted on rats Sprague Dawley (Cenp: SD) and applied the method of fixed dose dosage limit. The extract was administered orally at single dose of 2000 mg / kg in a volume of 20 mL / kg body weight. No signs of toxicity were observed for 14 days post-administration in animals in study. There weight gain in all animals tested. There were no gross pathological lesions in animals treated with the dose of the test. the extract concentrated hydroalcoholic extract of the plant was classified as *Chuquiraga jussieui* not classified according to WHO methodology and as a Category 5 in the GHS, OECD, so it is considered very low oral toxicity.

**Key words:** Metabolites, screening, dose fixed, biological models, LD 50.

Recibido: 17 de abril, 2013  
Aceptado: 23 de mayo, 2013

## INTRODUCCIÓN

**E**l ensayo de toxicidad por administración a dosis única brinda información acerca del potencial tóxico de sustancias que pueden tener interacción directa o indirecta con el hombre, por tanto son exigidas por las agencias regulatorias como parte de las evaluaciones de seguridad y, de estimación de riesgo para la salud de las sustancias químicas, medicamentos, plaguicidas, aditivos alimentarios y comestibles obtenidos por vías no convencionales<sup>6</sup>. Este ensayo tiene entre sus objetivos determinar los signos y síntomas tóxicos que se producen luego de la administración en dosis única a altas concentraciones del compuesto objeto de estudio, así como definir la concentración del mismo que provoca la muerte de los animales sometidos al estudio<sup>3</sup>.

Cada vez más en todo el planeta se utilizan productos de origen natural para reemplazar o complementar las terapias tradicionales occidentales que muchas veces son agresivas por sus efectos colaterales o indeseables. En la República del Ecuador existe una flora muy variada por los diversos ambientes presentes y las diferencias de altitud en el relieve terrestre. Una planta de uso tradicional por la población nativa del país y otros países de la región es la *Chuquiraga jussieui*, cuyos nombres comunes son: flor del caminante, flor de Los Andes, Chuquiragua, Chuquirahua. Especie botánica

de planta con flor de la familia de las Asteraceae. Es la "Flor Nacional de Ecuador". El género *Chuquiraga* consta de 20 especies distribuidas en Los Andes desde el suroeste de Colombia hasta el centro de Chile y en casi toda la Patagonia Argentina, donde se encuentra el mayor número de especies. En el Ecuador están representadas 2 especies, siempre sobre los 3000 m: *Chuquiraga arcuata* Harling y *Chuquiraga jussieui* J. Gmelin<sup>1</sup>.

Los usos más frecuentes reportados para dicha planta son: leña; diurético, febrífugo y tónico. Otros reportes la citan como uso medicinal para resfriados, gripe, tos, dolor de huesos<sup>2</sup>.

Considerando la composición química de los extractos de la planta, un grupo de investigadores de la Universidad Técnica de Manabí, Ecuador, y de la Universidad Central de Las Villas, Santa Clara, Cuba, pretende iniciar el desarrollo de extractos y preparados a partir de la planta con otro fin farmacológico, en este caso, como hipoglucemiante en el tratamiento de la diabetes. Los resultados de esta evaluación formarán parte de los estudios preclínicos de seguridad de nuevas formas de administración de este compuesto, contribuirán a conformar la documentación del expediente necesario para la solicitud de realización de ensayos clínicos y registro como nuevo producto, y permitirán establecer los márgenes de seguridad para su uso. La información que se derivará de este trabajo posibilitará la evaluación de riesgo para la salud humana, que implica la interacción con dicha sustancia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en el área experimental con animales de laboratorio del grupo de investigación de Toxicología Experimental del Centro de Bioactivos Químicos, que cuenta con los requerimientos necesarios que permiten el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Laboratorio en ensayos preclínicos con roedores.

### Modelo Biológico

Se utilizaron ratas consanguíneas heteroxénicas (SPF) de la línea C57BL/6J, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), por ser una especie adecuada técnica y económica. Las hembras debieron ser nulíparas y no preñadas.

### Cuidado y Mantenimiento

Al comenzar el experimento los animales tenían una edad entre 6-8 semanas y un peso corporal entre los 180 y 200g. Las ratas se mantuvieron a una temperatura de  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , con una humedad relativa entre un 50-60%, intensidad luminosa entre 200-250 Lux y ciclos de luz/oscuridad 12/12 horas.

Estas condiciones experimentales se garantizaron en el cubículo climatizado por aire acondicionado, deshumidificadores para el control de la humedad, registro de temperatura, de humedad por higrotermógrafo y termómetro, control automático para los ciclos luz/oscuridad y la intensidad luminosa que se ajusta por medio de un luxómetro. En la misma se

controla el nivel de amoníaco mediante la limpieza, recambio del encamado y cajas de alojamiento de los animales, así como por el funcionamiento de un sistema de extracción de aire forzado por equipos extractores.

Los animales se alojaron en cajas de policarbonato con fondo sólido (modelo T-3), a razón de 5 por caja para permitir el libre movimiento de los mismos. Se utilizó encamado de bagazo de caña, libre de material polvoriento y contaminantes microbiológicos por previa esterilización mediante autoclaveo.

Recibieron dieta comercial EMO 1001 (Alyco) para roedores, suministrado por el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) y agua fresca de la pila apta para el consumo humano. Tanto la dieta como el agua fueron esterilizadas y el acceso de los animales a los mismos fue *ad libitum* durante todo el estudio. Los cambios de cajas de alojamiento con encamado y pomos de agua de bebida se realizaron 3 veces por semana; se mantuvieron durante 10 días en adaptación bajo las mismas condiciones ambientales y de manejo que durante el ensayo definitivo.

Finalmente, se seleccionaron un total de 20 animales, se aleatorizaron y se confeccionaron dos grupos experimentales para evaluar la sustancia de estudio y un grupo control; los que se identificaron individualmente mediante tatuaje en las orejas, en correspondencia con un código numérico previamente establecido. Las cajas fueron

identificadas mediante tarjetas con la información necesaria.

### Sustancia Evaluada

El formulado evaluado fue un extracto hidroalcohólico concentrado por evaporación de la plata autóctona del Ecuador *Chuquiraga jussieui*, obtenida de regiones donde crece la planta en el Ecuador. Se determinaron los sólidos totales en el extracto para tener un criterio de las concentraciones a utilizar en el ensayo.

### Aspectos éticos y de validación del personal.

Todo investigador que emplee animales con fines experimentales debe tener presente que están dotados de sensibilidad y memoria, que son susceptibles al dolor y que la experimentación requiere ante todo del bienestar y protección para obtener resultados válidos. El personal que ejecutó el estudio fue calificado y entrenado en el manejo y cuidado de animales de laboratorio. Tuvieron especial cuidado en la aplicación de los procedimientos que disminuyen el stress, el distress y el deterioro del estado higiénico sanitario, de modo tal que durante la investigación se garantizó el bienestar de los animales, la no variabilidad en las respuestas además de la validez y confiabilidad de los datos que se generaron durante la misma. La eutanasia se ejecutó mediante métodos aceptados y se trató de provocar el mínimo de sufrimiento a los animales.

### Sacrificio o eutanasia

Al finalizar el estudio los animales fueron sacrificados mediante la administración

continua de éter dietílico en una campana cerrada hasta su fallecimiento.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Se utilizaron un total de 20 animales. Se emplearon 5 hembras para la administración oral del extracto y cuando se completó el estudio con este grupo, se utilizaron 5 machos para observar las diferencias entre sexos, y 10 animales de grupo control 5 machos y 5 hembras.

**Dosis o Concentración:** Se evaluó la dosis de 2000 mg/kg de peso corporal, que en este caso fue ajustada teniendo en cuenta la cantidad de sólidos totales determinada, para que fuera administrada en el mayor volumen permisible de aplicación para la especie y vía (20 ml/kg).

El extracto lo terminó de preparar el personal de ensayo, justo previo a la administración, se garantizó en cada caso, la dosis prevista para administrar a los animales y la adecuada homogeneidad del extracto.

**Tratamiento:** A los animales se les administró la sustancia de ensayo con ayuda de una cánula rígida de metal inoxidable de administración oral en dosis única y en un volumen de administración de 20 mL/kg de peso corporal. La administración se realizó a ciegas por el mismo personal. Durante la administración de cada animal se consideró que cualquier regurgitación del formulado o salida de sangre por la boca provocó el desecho del animal del experimento.

### Conducción del experimento

Previo al tratamiento se retiró el alimento (ayuno de 12 horas). Los animales fueron administrados del extracto de la planta y colocados nuevamente en las cajas para su observación continua durante las primeras 4 horas post-administración. Se realizó inspección clínica frecuente durante los 14 días posteriores al tratamiento (tabla 1 y 2). Los animales fueron pesados en el tiempo de la administración y a los 7 y 14 días posteriores (tabla 1 y 2). Al concluir el experimento (14 días) se realizó sacrificio terminal por eutanasia a los sobrevivientes siguiendo los principios y guías internacionalmente aceptados. Posteriormente se realizó necropsia a los mismos para el estudio anatomopatológico macroscópico de órganos y sistemas.

### Biometría suministrar

Variables a medir:

#### a) Informativas

- Registros diarios de temperatura y humedad ambiental del local

#### b) Control

- Manifestaciones clínicas
- Masa corporal (kg)

#### c) De respuesta

- Manifestaciones macroscópicas

## RESULTADOS DEL ESTUDIO

Los resultados del ensayo de toxicidad a dosis única por vía oral en ratas demostraron que los animales de ambos sexos que recibieron por vía oral el

máximo volumen de extracto hidroalcohólico fluido de la planta *Chuquiraga jussieui*, equivalente a 2000 mg/kg de peso corporal, no desarrollaron signos ni síntomas de toxicidad. La anterior aseveración se fundamenta en la ausencia de síntomas clínicos observada, la ganancia sostenida de masa corporal (Tabla 1) y la supervivencia de los animales en todos los casos. Estos aspectos resultan evidencias de la ausencia de toxicidad del extracto a la dosis ensayada.

En el análisis macroscópico de los órganos y sistemas, al finalizar el período de observación, no se encontraron lesiones o alteraciones de consideración o interés patológico en ningún órgano o sistema orgánico, de ninguno de los dos grupos de animales.

Tanto el seguimiento clínico, como los resultados obtenidos en los análisis de evolución de la ganancia del peso corporal y en el anatomopatológico macroscópico demuestran y corroboran la ausencia de indicadores de toxicidad del extracto estudiado, dichos

hallazgos se pueden considerar como primarios toda vez que no se encontraron resultados de estudios de toxicidad de preparados de la planta en las fuentes bibliográficas consultadas.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos al administrar, por vía oral, el extracto se incluye en la categoría de No Clasificado según la Organización Mundial de la Salud (OMS)(3) y Categoría 5 por la GHS, OECD(4), al no observarse signos evidentes de toxicidad en los animales en estudio a la dosis límite de 2000 mg/kg de masa corporal.

## CONCLUSIÓN

El estudio de toxicidad a dosis única por vía oral del extracto blando de la planta autóctona del Ecuador *Chuquiraga jussieui* no evidenció toxicidad aparente a la dosis de 2000 mg/kg y permite categorizarlo como No Clasificado o Categoría 5, para el ensayo de Dosis Fija, según las clasificaciones de la OMS y la GHS, OECD, respectivamente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**CHUQUIRAGA JUSS.** Recuperado el 20-1-2013 en: [http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=201&taxon\\_id=107036](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=107036). (1)

**Chuquiraga jussieui.** Recuperado el 20-1-2013 en: [http://www.urbipedia.org/index.php/Chuquiraga\\_jussieui](http://www.urbipedia.org/index.php/Chuquiraga_jussieui) (2)

**OMS. Curso de Autoinstrucción en Evaluación de Riesgos.** CEPIS/OPS/OMS. Recuperado el: <http://www.cepis.ops-oms.org/tutorial/humanos/anexo4.html> (3)

**OECD.** Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Hazards of Chemical Substances and Mixtures. OECD Series on Testing and Assessment, Number 33. Recuperado en: <http://www.oecd.org> (4)

**OECD 423 Guideline for testing of chemicals, Acute Oral Toxicity – Acute toxic class methods** disponible en: [http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECD\\_GL423.pdf](http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECD_GL423.pdf) (5)

**GUIDANCE DOCUMENT ON ACUTE ORAL TOXICITY TESTING, ENV/JM/MONO (2001)4** Unclassified disponible en: <http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono%282001%294&doclanguage=en#page=19&zoom=auto,0,671> (6)

ANEXOS: TABLAS

**Tabla 1:** Variación del peso de los animales administrados con extracto blando de *Chuquiraga jussieui* por vía oral.

Grupo dosis (mg/kg)	Sexo (No.)	Pesadas (g)				
		(día 0)	(día 7)	ΔP	(día 14)	ΔP
Grupo 2000	Macho (1)	214	258	44	282	24
	Macho (2)	215	258	43	279	21
	Macho (3)	189	219	30	245	26
	Macho (4)	210	253	43	271	18
	Macho (5)	202	230	28	251	21
	Hembra (1)	184	207	23	230	23
	Hembra (2)	182	200	18	224	24
	Hembra (3)	184	201	17	221	20
	Hembra (4)	178	195	17	212	17
	Hembra (5)	166	193	27	210	17

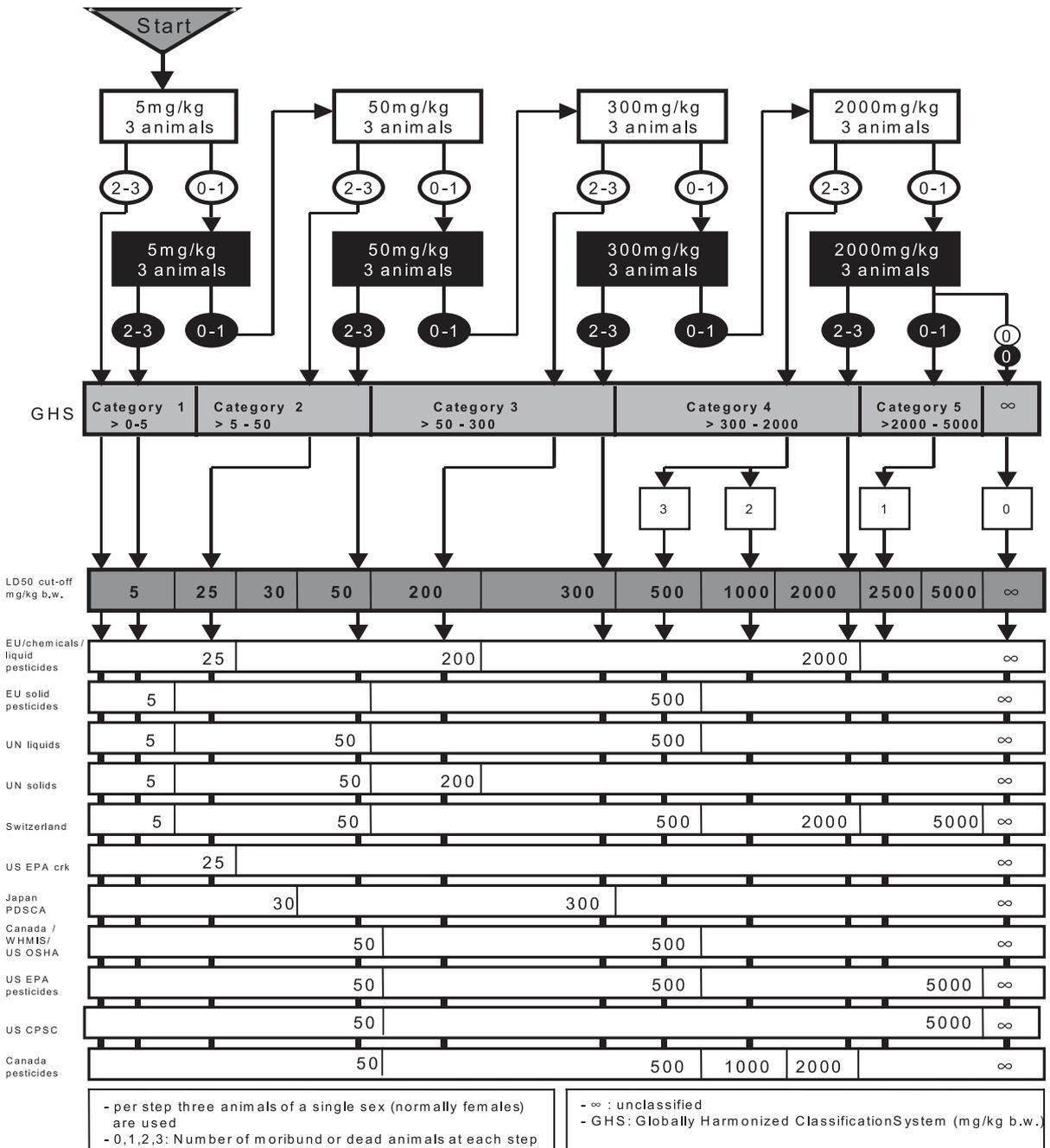
Fuente. DUEÑAS, A. 2013

**Tabla 2:** Variación del peso de los animales del grupo control.

Grupo dosis (mg/kg)	Sexo (No.)	Pesadas (g)				
		(día 0)	(día 7)	ΔP	(día 14)	ΔP
Control	Macho (1)	188	236	48	265	29
	Macho (2)	200	261	61	288	27
	Macho (3)	202	249	47	277	28
	Macho (4)	199	246	47	273	27
	Macho (5)	211	230	19	252	22
	Hembra (1)	183	217	34	240	23
	Hembra (2)	175	210	35	235	25
	Hembra (3)	172	208	36	230	22
	Hembra (4)	164	207	43	220	13
	Hembra (5)	173	211	38	232	21

Fuente. DUEÑAS, A. 2013

Tabla 3: Clasificación de Toxicidad a dosis límite 2000 mg/kg de masa corporal.



Fuente. OECD 2001