

Dosis letal media (dl50) del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. "cadillo" en *Mus musculus* albinos

Median lethal dose (ld50) ethanol extract *Cenchrus echinatus* L. (cadillo) in *Mus musculus* albinos

César B. Cisneros Hilario¹, Ingrid L. Loyola Lara¹, Freddy A. Miranda Aguilar¹

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad determinar la DL50 del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (Cadillo) en ratones albinos cepa Balb/C 57. El diseño es un estudio pre-clínico, el cual se desarrolló en la Escuela de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Medicina Humana. Universidad San Pedro, Chimbote, Perú. Para lo cual se utilizó 84 ratones albinos cepa Balb/C 57 y extracto etanólico de Cadillo. La muestra vegetal se recolectó en San José, Distrito de Santiago de Cao, Provincia de Ascope, Departamento de la Libertad. La determinación de la DL50 fue evaluada considerando 14 grupos de los cuales el primer grupo fue normal y recibió solución suero fisiológico 5 mL/kg (SSF), a los demás se les administró por vía oral y por única vez extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (Cadillo) en dosis de 10, 100, 500, 1 000, 5 000, 7 500, 10 000 12 500, 15 000, 17 500, 18 750, 19 375 y 20 000 mg/kg de peso corporal respectivamente, los grupos fueron observados durante 14 días para identificar algún cambio en el comportamiento, así como el incremento de peso y número de muertes. No se reportaron cambios en el comportamiento, ni aumento de peso de manera irregular y se logró determinar que el extracto etanólico de cadillo tienen una DL50 de 16,223 mg/kg, con intervalo de confianza de 95% (Límite inferior 14 792,76 mg/kg y superior de 17 791,17). Concluyendo que el extracto de cadillo no presenta toxicidad alguna bajo las condiciones experimentales de la investigación.

Palabras clave: dosis letal media (DL50), extracto etanólico, *Cenchrus echinatus* L.

ABSTRACT

The present study was to determine the LD50 of the ethanolic extract of *Cenchrus echinatus* L. (Cocklebur) in albino mice strain Balb / C 57. The design is a pre-clinical study, which was developed at the School of Pharmacy and Biochemistry, Faculty of Human Medicine. University of San Pedro, Chimbote, Peru. To which was used 84 albino mice strain Balb / C 57 and ethanol extract of cocklebur. The plant sample was collected in San José district of Santiago de Cao, Ascope Province, and Department of Freedom. The determination of the LD50 was evaluated considering 14 groups of which the first group was given normal saline solution 5 mL / kg (SSF), others were given orally and only once ethanolic extract of *Cenchrus echinatus* L. (cocklebur) at doses of 10, 100, 500, 1.000, 5 000, 7 500, 10 000 12 500, 15 000, 17 500, 18 750, 19 375 and 20 000 mg / kg body weight respectively, the groups were observed for 14 days to identify any changes in behavior as well as increased weight and number of deaths. No changes in behavior or weight gain erratically and it was determined that the ethanol extract of cocklebur have an LD50 of 16.223 mg / kg, with a confidence interval of 95% (lower limit 14 792,76 mg / kg and higher of 17 791,17). Concluding that the extract does not present any toxicity cocklebur under the experimental conditions of the investigation.

Keywords: median lethal dose (LD50), ethanolic extract, *Cenchrus echinatus* L.

INTRODUCCIÓN

Desde las primeras épocas el hombre ha usado los métodos naturales para curar sus molestias, métodos que cuando eran efectivos se transmitían de generación en generación y así han llegado a nuestros días. En 1998, los editores del New England Journal of Medicine declararon: "Es tiempo de que la comunidad científica detenga el libre andar de la medicina alternativa. Su planteamiento se fundamentó en las pocas publicaciones científicas en este campo.

¹ Facultad de Medicina Humana, braulioqf_7179@hotmail.com

Recibido el 11 de junio del 2012

Aceptado el 8 de agosto del 2012

A partir de esta opinión los practicantes e investigadores de este tipo de medicina comenzaron a defenderla realizando publicaciones de investigaciones clínicas que aún son insuficientes, pues muchos de los fitomedicamentos que se comercializan adolecen de todos los estudios preclínicos establecidos (Marcia, 2007).

Si bien es cierto que la extracción, el aislamiento e identificación de los constituyentes químicos de origen vegetal, se ha efectuado en años relativamente recientes, el propósito para el cual estas sustancias medicinales se emplean hoy es el mismo que le dieron nuestros antecesores en su momento histórico; salvo que ya se está en condiciones de aprovechar el acelerado desarrollo de la fitoquímica para sustentar científicamente las investigaciones en plantas (Pérez, 2007), para velar por la seguridad de los preparados medicinales se establecen regulaciones internacionales, que exigen amplias investigaciones fármaco-toxicológicas en animales de experimentación antes de iniciar su aplicación en seres humanos (Centro para el control de la calidad de los medicamentos, 1998).

La implementación de la fitoterapia en nuestra sociedad debe realizarse teniendo en cuenta determinadas pautas para llegar a producir los efectos deseados: la mejoría del síntoma sin efectos secundarios, la medicina vegetal o terapia con hierbas medicinales, comprende el uso de plantas o partes de plantas en su estado natural (sin procesamiento químico). Los remedios vegetales pueden incluir el uso de las hojas, raíces, cortezas, frutos, etcétera o también se puede utilizar la planta entera. Los productos naturales y en particular las plantas medicinales, siguen constituyendo una fuente importante de nuevas moléculas de gran complejidad y especificidad, esto es demostrado por el hecho de que gran parte del arsenal terapéutico internacional tiene su origen en ellas (Villaescusa, 2006).

Los estudios de toxicidad que se realizan para evaluar a una sustancia, comprenden la determinación de la Dosis Letal 50% (DL50) del producto (exclusiva para la especie animal en estudio); en ellos se trabaja con distintas proporciones de la DL50 durante un período determinado de vida útil de la especie que se trate, también conocida por sus siglas en inglés LD (Lethal Dose). La Dosis Letal media para la toxicidad aguda por ingestión es la dosis única obtenida estadísticamente de una sustancia de la que cabe esperar que, administrada por vía oral, cause la muerte de la mitad de un grupo de ratas albinas adultas jóvenes en el plazo de 14 días (Kennedy, 1986). El valor de la LD50 se expresa en términos de masa de la sustancia suministrada por peso de animal sometido al ensayo (mg/kg). (Jurado 1989).

Cenchrus echinatus L. “cadillo” etimológicamente, proviene del griego Kenchros, nombre de mijo; vulgarmente conocida como pega-pega o rata-rata (Soukup, 1970). Pertenece a la familia Gramineae. Presenta culmos cilíndricos, ascendentes desde una base geniculada, de 15 a 85 cm. de largo con pubescencia variable; láminas de glabras a pubescentes, de 4 a 26 cm. de largo y de 3,5 a 11 mm. de ancho. Es consumida por el ganado en pastoreo; el ser humano la usa en problemas digestivos, genitourinarios, infecciones, heridas, problemas en el embarazo, parto y puerperio, envenenamientos, dolores (Cabrera, 1998) y en Argentina, es utilizado para los procesos inflamatorios, cicatrizar úlceras y verrugas (Carrizo, 2009).

De acuerdo a lo anterior expuesto se propuso determinar la Dosis Letal media (DL50) del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (Cadillo), por lo tanto se postuló la hipótesis, que: La administración por vía oral del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (Cadillo), no causa toxicidad en ratones cuando se adminsitra vía oral a dosis única.

Además se plantearon los siguientes objetivos: Recolectar la planta, obtener el extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (Cadillo) y realizar el estudio fitoquímico cualitativo; Determinar la dosis letal media DL50 del extracto de *Cenchrus echinatus* L. (Cadillo) y observar los cambios de comportamiento y aumento de peso regular sobre en ratones albinos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras (plantas completas) de *Cenchrus echinatus* L. fueron recolectadas en el caserío de San José, Distrito de Santiago de Cao, Provincia de Ascope, Departamento de la Libertad, Perú, durante los meses de enero – marzo del 2011.

La identificación taxonómica fue realizada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La muestra vegetal (planta completa) fue estudiada y clasificada según el sistema de Cronquist (1988).

Para la preparación del extracto alcohólico, las plantas de *Cenchrus echinatus* L. fueron lavadas y sometidas a deshidratación, a 40°C en estufa con aire circulante, luego el material seco trituró en un molino de cuchillas eléctrico, hasta obtener un polvo fino, y se maceró con etanol de 96°C a temperatura ambiente. Luego de 7 días se filtró y dicho filtrado se deseca a 40°C en estufa hasta obtener un peso constante. El residuo seco, llamado extracto etanólico, el cual se conservó en frasco de color ámbar a 4°C, luego éste residuo sirve para realizar el estudio fitoquímico y ensayo farmacológico, previa reconstitución utilizando el agente tensioactivo polisorbato de sodio 80°C al 5%. (CYTED, 1995)

El estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (Cadillo) se realizó en los laboratorios la Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, al cual se le practicó, las reacciones de Gelatina, Tricloruro férrico, Dragendorff, Molisch, NaOH 10%, Vainillín sulfúrico, Liebermann, Shinoda y Ninhidrina; para determinar la presencia y cantidad de metabolitos secundarios presentes en el extracto (Lock de Ugaz, 1994).

Para la evaluación de la dosis letal media DL50 del extracto etanólico de Cadillo (*Cenchrus echinatus* L.) en ratones (Vega y Carrillo, 1997; Williams et al., 1985): se utilizaron 84 ratones albinos machos de 25 +/- 5g. de peso corporal que serán marcados y divididos de manera aleatoria en grupos de 6 ratones cada uno, el primer grupo fue normal y recibió solución suero fisiológico 5 mL/kg (SSF), a los demás se les administró por vía oral y por única vez extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (Cadillo) en dosis de 10, 100, 500, 1 000, 5 000, 7 500, 10 000 12 500, 15 000, 17 500, 18 750, 19 375 y 20 000 mg/kg de peso corporal, los ratones fueron observados constantemente durante las primeras 24 horas después de administrado el extracto a diferentes concentraciones y luego diariamente registrándose cualquier síntoma tóxico que pudiera presentarse en un periodo de 14 días; a la vez se anotó el aumento de peso regular y el número de muertes, lo cual sirvió para graficar el porcentaje de las muertes versus el logaritmo de las concentraciones para luego encontrar la dosis letal media.

Los animales serán observados constantemente durante las primeras 24 horas y luego diariamente durante un periodo de 14 días registrándose cualquier síntoma tóxico que pudiera presentarse, con el número de muertes en cada grupo se calculó la DL50 empleando el método estadístico de los Probits.

RESULTADOS

Tabla 1. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. “cadillo”

REACCIÓN	METABOLITO SECUNDARIO	CANTIDAD
Gelatina	Taninos	+++
Tricloruro férrico	Compuestos Fenólicos	+++
Dragendorff	Alcaloides	+++
Mayer	Alcaloides	+++
Hidróxido de sodio	Quinonas	++
Alfa naftol	Glicósidos	++
Liebermann	Esteroides y triterpenos	-
Shinoda	Flavonoides	+++
Ninhidrina	Aminoácidos libres	+++

Leyenda: (+++) = Abundante cantidad; (++)=Regular cantidad o positivo, (+)= Poca cantidad o trazas; (-) = Ausencia.

Tabla 2. Número de muertes de los ratones durante 14 días al administrar el extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. “cadillo” en dosis única por vía oral, (n=6)

GRUPOS	TRATAMIENTOS	Nº MUERTES
1	SSF 5 mL/kg	0
2	Cadillo 10 mg/kg	0
3	Cadillo 100 mg/kg	0
4	Cadillo 500 mg/kg	0
5	Cadillo 1 000 mg/kg	0
6	Cadillo 5 000 mg/kg	0
7	Cadillo 7 500 mg/kg	0
8	Cadillo 10 000 mg/kg	0
9	Cadillo 12 500 mg/kg	1
10	Cadillo 15 000 mg/kg	2
11	Cadillo 17 500 mg/kg	3
12	Cadillo 18 750 mg/kg	4
13	Cadillo 19 375 mg/kg	5
14	Cadillo 20 000 mg/kg	6

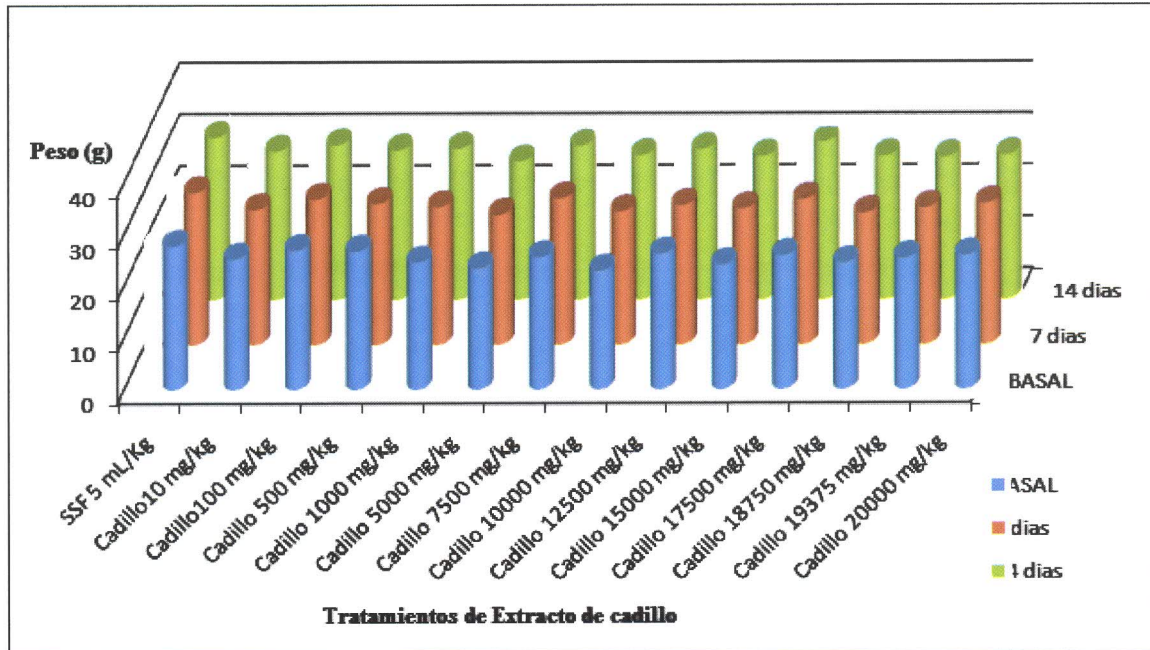


Figura 1. Pesos semanales promedio de los diferentes grupos que reciben extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. “cadillo” en dosis única por vía oral (n=6)

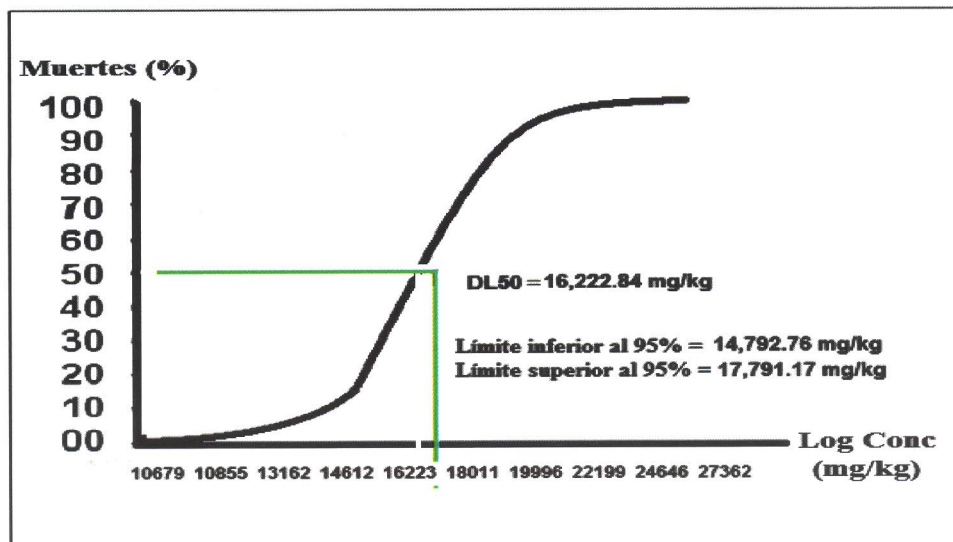


Figura 2. Dosis letal media (dl50) del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. “cadillo”

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Dentro de los componentes fitoquímicos del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus L* (Cadillo) se ha reportado la presencia de taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides y aminoácidos libres en mayor proporción (+++), pero en menor cantidad quinonas y glicósidos (++) (Tabla N° 01), lo cuales tendría implicancia sobre el grado de toxicidad del extracto.

La DL50 del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus L* (Cadillo) fue de 16 223 mg/kg, con un límite inferior de 14 792,76 mg/kg y límite superior de 17 791,17 mg/kg (Tabla N° 02, Gráfica N° 02).

Williams et al., 1985; y Loomis, 1982 clasifican la DL50 de sustancias químicas según el nivel de dosis en que se encuentran en una escala que comienza en extremadamente tóxico (1mg/kg o menos), altamente tóxico (1 a 50 mg/kg), moderadamente tóxico (50 a 500 mg/kg), ligeramente tóxico (500 a 5000 mg/kg), prácticamente atóxico (5000 a 15000 mg/kg) y relativamente inocuo (más de 15000 mg/kg). Según esta clasificación, la DL50 del extracto de *Cenchrus echinatus L* (Cadillo) está en el rango de relativamente inocuo.

Las variaciones observadas en el consumo de alimento no están relacionadas con una disminución del peso corporal, se pudiera pensar que están justificadas debido a que los animales al inicio del ensayo contaban con 4 semanas de edad, por lo tanto estaban en etapa de crecimiento y el consumo se elevó bruscamente, posteriormente el consumo se estabilizó y se observó un sostenimiento de los pesos (Gráfica N° 02), por otro lado este indicador a pesar de ser cuantificable depende mucho de la individualidad en la actividad de roer de cada animal y es a veces un tanto cualitativo ya que todo el alimento que el animal roe no lo ingiere, pues alguno se elimina en la bandeja y entonces se calcula un consumo no real, lo que se corroboró con la observación del comportamiento del peso corporal (Mosberg, 2000).

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *Cenchrus echinatus L* (Cadillo) posee una DL50 de 16 223 mg/kg, considerándose relativamente inocuo al no reportar cambios en el comportamiento espontáneo de los roedores, cuando es administrado por vía oral y por dosis única.

AGRADECIMIENTOS:

A la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, por el apoyo incondicional con los ambientes de laboratorio, insumos y equipos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cabrera T., Casas F, M. Rojas C, Viveros S. (1998). *Alimentos en la naturaleza*. Algunas plantas comestibles, silvestres arvenses y ruderales. SEMARNAP. México, D.F.
- Carrizo, E., Palacio, M., Roic, L.(2005) *Plantas de uso medicinal en la flora de los alrededores de la ciudad de Santiago del Estero*.(Argentina). Citado el 16 setiembre del 2009. Disponible en: <http://www.dominguezia.org.ar/volumen/articulos/18-3.pdf>

- Centro para el Control de la Calidad de los Medicamentos (1998). *Metodología de guía para realizar un protocolo de ensayo clínico con productos herbarios*. Rev. Cubana Plant. Med.; 3(2):83-8.
- CYTED. (1995). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. *Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región*. Manual de técnicas de investigación p. 220.
- Cronquist, A. (1988). *The evolution and classification of flowering plants*. New York: The New York Botanical Garden p.555.
- Jurado, C. (1989). Toxicología Veterinaria. (2ª ed.), Salvat, Barcelona.
- Kennedy GL, Ferenz RL, Burgess BA. (1986). *Estimation of acute oral toxicity in rates by determination of the approximate lethal dose rather than the LD50*. *J Appl Toxicol.*; 6(3):145-8.
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales*. 2º Edición. Lima: Fondo Editorial PUCP.
- Loomis., T.A.(1982). Fundamentos de Toxicología. Acribia, Zaragoza
- Marcia, A., Jerome, P., Kassirer, D. (2007). *Medicina alternativa. Los riesgos de remedios no probados, no regulados*. Consultado el 18 de agosto del 2008. *N Engl J Med*. 2005 Ago; 12(2): Disponible en: <http://www.homowebensis.com/archivos/editorial/>
- Mosberg AT, Hayes WA. (2000). Subchronic Toxicity Testing. In: Wallace Hayes A, editor. *Principles and methods of toxicology*. 2 ed. New York: Raven Press, p.221-37.
- Pérez M, Cid M, Méndez R, Rodríguez M, Arboláez M. (2007). *Proposal of guideline for clinical trial protocols with herbal drugs*. *J Biomed*, citado 1 Ene 2007, Disponible en: <http://biomed.uninet.edu/2007/n1/perez.html>
- Soukup S.J. *Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana* (1970). Lima; 70-72.
- Vega, R., Carrillo, C. (1997). *Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto de Ocimum gratissimum L. (orégano cimarrón)*. Rev. Cubana Plant. Med.; 2(2-3): 14-18.
- Villaescusa, C. (2006) La adormidera. Una fuente de alcaloides de extraordinario interés. *AFT*; 4(4):252-9
- Williams P, Burson J. (1985). *Industrial Toxicology Safety and Health Applications in the Work Place*. Ed Van Nostrand Rein Hold Company. N York.