



Toxicidad oral aguda de los extractos etanólicos de *Eucalyptus globulus*, *Morinda citrifolia*, *Peperomia glauca*, *Schinus molle* y *Zea mays* en ratones BALB/c 53

Chilón – Cornejo Vicente¹; Arroyo – Acevedo Jorge²; Barrera Rosy³; Chamba Dalila⁴; Dietz Robert⁵; Abal Henrys⁵

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 20/04/2018
Aprobado: 15/05/2018

Autor correspondal

Vicente Chilón Cornejo
chilonj@gmail.com

Financiamiento

Autofinanciado

Conflictos de interés

Ninguno

Agradecimientos

Al Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (Científica-CONCYTEC) del gobierno del Perú por el financiamiento (convenio de subvención 153-2015-FONDECYT).

Citar como

Chilón – Cornejo V; Arroyo – Acevedo J; Barrera R; Chamba D; Dietz R; Abal H. Toxicidad oral aguda de los extractos etanólicos de *Eucalyptus globulus*, *Morinda citrifolia*, *Peperomia glauca*, *Schinus molle* y *Zea mays* en ratones BALB/c 53. Rev Peru Med Integrativa. 2018;3(1):9-17.

Resumen

Objeto. Evaluar la toxicidad aguda de los extractos etanólicos del *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalipto), *Morinda citrifolia* L. (noni), *Peperomia glauca* (pino) (congona), *Schinus molle* L. (molle) y *Zea mays* L. (Maíz morado) en ratones Balb/c 53. **Materiales y métodos.** Se utilizaron 60 ratones machos divididos en seis grupos (eucalipto, noni, congona, molle, maíz morado y control). Los grupos tratados recibieron por vía oral una dosis única de 2000 mg/kg de los extractos etanólicos, y el grupo control recibió polisorbato 2 mL/kg al 3%. Se evaluó ganancia de peso, valores hematológicos (hematocrito, eritrocitos, hemograma, leucocitos, plaquetas), bioquímica sérica (urea, creatinina, ALT, proteínas totales, albumina, globulinas), histopatología hepática y renal. **Resultados.** Se observó signos de inquietud, excitación y aparente fotosensibilidad en el grupo eucalipto, por una hora. Se encontró leucopenia en grupos congona, molle, eucalipto y maíz morado; trombocitopenia en grupos eucalipto y molle, y elevación del ALT en los grupos congona y eucalipto, en comparación con los valores del grupo control. La ganancia de peso, los demás valores hematológicos, así como la bioquímica renal y hepática en los otros grupos no fueron significativos. **Conclusiones.** En las condiciones experimentales no se observó signos de toxicidad ni mortalidad en el ensayo; la LD₅₀ de los extractos etanólicos estaría sobre los 2000 mg/kg.

Palabras clave: Anacardiaceae; *Eucalyptus globulus*; Extractos Vegetales; *Morinda citrifolia*; *Peperomia*; Pruebas de Toxicidad; Ratones Consanguíneos BALB C; *Zea mays*. (Fuente: DeCS).

Acute oral toxicity of *Eucalyptus globulus*, *Morinda citrifolia*, *Peperomia glauca*, *Schinus molle* and *Zea mays* ethanolic extracts on BALB/c 53 mice

Abstract

This study was performed to evaluate the acute toxicity of ethanolic extracts of *Eucalyptus globulus* Labill. (Eucalypto), *Morinda citrifolia* L. (noni), *Peperomia glauca* (pino) (Congona), *Schinus molle* L. (molle) y *Zea mays* L. (maíz morado) in Balb/c mice. **Materials and methods.** Sixty male mice were divided into 6 groups (Eucalypto, Noni, Congona, Molle, Maíz morado and Control) of 10 each were used. The guide for the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD 423) was followed for the study. The treated group received for gavage a single dose at 2000 mg/kg and the control group received polysorbate at 2 mL/kg at 3%. Weight gain, hematological values (hematocrit, erythrocytes, hemogram, leukocytes, platelets), serum biochemistry (urea, creatinine, ALT, total proteins, albumin, globulins), hepatic and renal histopathology were performed. **Results.** No signs of mortality and morbidity were observed as a consequence of the administration of the extracts, except for the Eucalypto group, which presented restlessness, excitement and apparent photosensitivity for one hour. There was leukopenia in Congona, Molle, Eucalypto and Maíz morado groups; thrombocytopenia in groups Eucalypto and Molle; and elevations of ALT in Congona and Eucalypto groups in comparison with the values from control group. Weight gain and other hematological values, as well as renal and hepatic biochemistry in the other groups were not significant. **Conclusions.** Under experimental conditions no signs of toxicity or mortality were observed in the trial; the LD₅₀ of the ethanolic extracts would be above 2000 mg/kg.

Key words: Anacardiaceae; *Eucalyptus globulus*; Mice, Inbred BALB C; *Morinda citrifolia*; *Peperomia*; Plant Extracts; Toxicity tests; *Zea mays*. (Source: MeSH)

Laboratorio de Farmacología y Toxicología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Laboratorio de Farmacología Experimental, Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Facultad de Odontología, Universidad Andina Néstor Caceres Velásquez, Juliaca, Perú.

Departamento de química básica y aplicada, Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador.

Área de ciencias Químicas, Universidad Arzobispo Loayza, Lima, Perú

Introducción

Las plantas medicinales son fuente abundante de compuestos que han servido de base para la elaboración de diversos productos farmacéuticos, aunque en la actualidad esto ha disminuido debido al surgimiento del diseño de drogas de forma sintética ⁽¹⁾. Aun así, las plantas medicinales siguen siendo una fuente valiosa de moléculas bioactivas debido a su compleja composición y múltiples actividades que interactúan para ejercer una mejor acción terapéutica ⁽²⁾. Muchas de estas moléculas no han sido completamente identificadas, inclusive, no se conocen completamente sus actividades terapéuticas y/o tóxicas, por lo que los estudios sobre eficacia y seguridad se establecen como parte importante para su empleo con fines de comercialización, además de desarrollar una efectiva farmacovigilancia de este tipo de productos para establecer los lineamientos para su uso seguro ⁽³⁾.

El *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalipto) pertenece a la familia de las Myrtaceae que es un árbol cosmopolita con diversas propiedades. En medicina tradicional las hojas son usadas para tratar infecciones del tracto respiratorio alto, infecciones pulmonares, expectorante, descongestionante nasal, antiparasitario, antiasmático, también como desinfectante ⁽⁴⁾, y como aditivo alimenticio debido a su actividad antioxidante ⁽⁵⁾. Un estudio previo encontró en el extracto etanólico de las hojas de *E. globulus*, diversos flavonoides entre los que están el hiperosido en mayor cantidad, quercitrin, rutin, myricetin e isoquercitrin ⁽⁵⁾.

La *Morinda citrifolia* L. (noni) pertenece a la familia Rubiaceae y posee un amplio rango de propiedades en medicina tradicional, entre las que destacan su actividad antiséptica, antifúngica, antiulcerosa, antiinflamatoria, antioxidante, ansiolítica, antihipertensiva y antidiabética. Estudios previos sugieren la posibilidad de usarlo en terapias combinadas con el objetivo de inhibir el crecimiento de ciertos tumores por su acción antimutagénica, inmunoestimulante y regeneradora de tejidos ⁽⁶⁾. Asimismo, se han identificado compuestos tales como las antraquinonas (rubiadina, damnacanthal, alizarina), triterpenos, flavonoides, cumarinas, lignanos, fitoesteres, carotenoides, monoterpenos y ácidos grasos de cadena corta en otros extractos de esta especie vegetal ⁽⁷⁾.

La *Peperomia glauca* (congona) pertenece a la familia Piperaceae, distribuida en América, África, Asia y Australia. En medicina tradicional se usa para el tratamiento de abscesos, heridas, conjuntivitis, gastritis, artritis, como antiinflamatorio, analgésico y antibacteriano ⁽⁸⁾. Estudios científicos

previos realizados en plantas del género *Peperomia* han demostrado propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antiulcerosas y promotoras de la curación en lesiones óseas, relacionados a la presencia de flavonoides, fitoesteres, secolignanos, lignanos, arilpropanoides y peperomin ⁽⁹⁾.

El *Schinus molle* L. (molle) es un árbol perteneciente a la familia Anacardiaceae, nativo de las regiones andinas del Perú, aunque ahora está ampliamente distribuido en América Central y Sudamérica. Es utilizado en medicina tradicional en muchos países para el tratamiento de trastornos respiratorios, urinarios, digestivos, y como diurético, astringente y antidepresivo ⁽¹⁰⁾. Estudios experimentales reportan actividad antiviral, antitumoral, analgésica y antiinflamatoria. Se han identificado diversos componentes activos como los flavonoides, triterpenoides tetracíclicos, esteroides y saponinas ⁽¹¹⁾.

El maíz morado (*Zea mays* L.) es miembro de la familia Poaceae y nativo de la región andina de Perú y Bolivia ⁽¹²⁾. Esta especie es fuente importante de antocianinas, las cuales son un tipo de flavonoide presente en flores, hojas, mazorca y semillas. Las principales antocianinas identificadas han sido la cianidina-3-dimalonilglucosido, pelargonidina-3-glucosido y la peonidina-3-glucosido. Se han reportado en estudios experimentales varias actividades biológicas tales como capacidad antioxidante, antiinflamatoria, antimutagénica, antihipertensiva, antidiabética y anticancerígena ⁽¹³⁾.

A pesar de la numerosa evidencia experimental sobre los efectos biológicos de estas especies vegetales, no se ha encontrado evidencia que evalúe la toxicidad oral aguda de los extractos etanólicos derivados; lo que es un paso necesario para futura investigación clínica en seres humanos. Por ende, el presente estudio fue diseñado para evaluar la toxicidad oral aguda de los extractos etanólicos de *E. globulus* (eucalipto), *M. citrifolia* (noni), *P. glauca* (pino) (congona), *S. molle* (molle) y *Z. mays* (maíz morado) de manera experimental en ratones BALB/c.

Materiales y métodos

Recolección e identificación de especies vegetales

El material vegetal fue recolectado de diversas ciudades del Perú y la identificación botánica fue hecha en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM): *E. globulus*, distrito de Socos, departamento de Ayacucho a 3394 m de altitud (249-USM-2016); *M. citrifolia*, ciudad de Pucallpa, departamento de

Ucayali a 104 m de altitud (298-USM-2016); *P. glauca* (Pino), ciudad Huaraz, departamento de Ancash a 3052 m de altitud (209-USM-2017); *S. molle*, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho a 2761 m de altitud (201-USM-2017); *Z. mays*, distrito de Sayán, provincia de Huaura, Lima a 685 m de altitud (287-USM-2016). Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Farmacología Experimental de la Facultad de Medicina Humana de la UNMSM.

Elaboración de los extractos etanólicos

La elaboración de los extractos se realizó de manera similar para todas las especies vegetales usadas en el experimento. Las especies se llevaron a secado a temperatura menor de 40 °C, luego se pulverizaron y el polvo resultante se sometió a maceración en etanol al 96% con agitaciones diarias de 10 min en envases de color ámbar y protegidos de la luz solar directa. Después de 14 días, se filtraron y el producto obtenido fue sometido a una operación de secado de donde se obtuvo un residuo seco denominado extracto etanólico. En el caso de la *P. glauca* (pino), se utilizó la planta entera; con la *Z. mays* se utilizó la coronta; en *M. citrifolia* se usaron los frutos; en el caso del *E. globulus* y *S. molle* se emplearon las hojas ⁽¹⁴⁾.

Animales de experimentación

Se utilizaron 60 ratones albinos adultos BALB/c machos. Estos fueron divididos aleatoriamente en 6 grupos de 10 ratones cada uno y un grupo control. Los animales fueron obtenidos del bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). El experimento se llevó a cabo en el bioterio de la Facultad de Medicina Humana - UNMSM donde tuvieron un periodo de adaptación a las condiciones del laboratorio de 7 días antes de realizar el experimento. Se ubicaron a los ratones en jaulas a temperatura ambiental controlada de entre 20 - 23 °C, con ciclos de luz / oscuridad de 12 h cada uno, y alimentación y agua *ad libitum* ⁽¹⁵⁾.

Estudio de toxicidad aguda

Cada grupo experimental recibió una dosis única de los extractos etanólicos de *E. globulus*, *M. citrifolia*, *P. glauca*, *S. molle* y *Z. mays* correspondiente a 2000 mg/kg de peso corporal disuelto en polisorbato al 3% a través de una sonda orogástrica. Al grupo control se le administró polisorbato al 3%. La dosis máxima (dosis límite) se eligió sobre la base de las recomendaciones del protocolo OCDE 423 ⁽¹⁶⁾. Los extractos se administraron luego de un período de ayuno de 12 h. Después del tratamiento, los animales fueron observados para determinar cambios de comportamiento o cualquier signo

clínico de toxicidad durante las primeras 24 h, con especial atención en las primeras 6 h y luego una vez al día durante el período experimental de 14 días. Los pesos corporales se registraron al inicio y al final del experimento.

Parámetros bioquímicos y hematológicos

Luego de 14 días los animales fueron anestesiados con ketamina (70 mg/kg) y diazepam (10 mg/kg) vía intraperitoneal, y se colectó sangre por punción cardiaca. Se usaron frascos con EDTA para las pruebas hematológicas: hemoglobina, hematocrito, eritrocitos, leucocitos y plaquetas, que fueron determinadas usando el analizador hematológico Mythic 18 (Orphee-medical, Ginebra, Suiza), y frascos sin aditivos para pruebas serológicas: urea, creatinina, alanina-aminotransferasa (ALT), proteínas totales, albúmina y globulinas, que se evaluaron en el analizador de bioquímica Erba XL-180 (Erba, Mannheim, Alemania).

Histopatología

Se realizó la eutanasia con sobredosis de pentobarbital sódico (200 mg/kg) vía intraperitoneal ⁽¹⁷⁾ y se realizó el examen patológico macroscópico de los órganos internos, luego se retiraron los riñones y el hígado, los cuales fueron lavados con solución salina para ser fijados en formol al 10%. Los tejidos fueron embebidos en parafina y cortados en secciones de 5 µm de espesor. Las secciones fueron teñidas con hematoxilina / eosina y se observaron bajo microscopio óptico para estudiar cambios histológicos en tejidos hepáticos y renales ⁽¹⁸⁾.

Análisis estadístico

Los datos fueron expresados en medias y error estándar de la media. Los resultados de diferencia de peso antes y después de la intervención, y diferencias entre grupos fueron analizados por un ANOVA de medidas repetidas con comparación intragrupo e intergrupo. En el análisis de las diferencias entre los grupos de estudio y el control, en parámetros hematológicos y bioquímicos, se utilizó un ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Dunnett y, en el caso de no cumplir criterios de normalidad, se optó por la prueba de Kruskal-Wallis. Las diferencias entre los grupos se consideraron significativas cuando se encontró un $p < 0,05$. Se usó el *software* SPSS v.24 (IBM SPSS Statistics for Windows, 2016, Version 24.0. Armonk, NY: IBM Corp ®).

Consideraciones éticas

En el ensayo experimental se siguieron los principios éticos internacionales para la investigación en animales de

laboratorio de la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio de la academia nacional de ciencias (National Academy of Sciences - NAS) ⁽¹⁵⁾.

Resultados

La evaluación de la toxicidad oral aguda en ratones con los diferentes extractos a la dosis de 2000 mg/kg no mostró signos de morbilidad ni hubo casos de mortalidad en los 14 días de evaluación. El grupo de animales que recibió el extracto del *E. globulus* presentó inquietud y excitación por alrededor de una hora; adicionalmente, dos animales evitaron el contacto con la luz por alrededor de 3 h. En promedio, se encontró un aumento del peso corporal de los animales al día 14 del experimento en todos los grupos de experimentación, observándose la mayor ganancia en los animales tratados con extracto de *M. citrifolia* ($3,7 \pm 2,0$ g) y *P. glauca* ($2,2 \pm 1,9$ g) a diferencia de los otros grupos, que tuvieron sujetos con disminución de peso después de la intervención. El análisis estadístico mostró que, si bien hubo diferencias significativas ($p < 0,001$) en los grupos antes y después de la intervención, estas no están relacionadas con el pertenecer a uno u otro grupo ($p = 0,71$) (Figura 1).

Se observó una diferencia significativa en los valores de hematocrito, leucocitos y plaquetas entre los cinco grupos de estudio al realizar el ANOVA de una sola vía o prueba de Kruskal Wallis, según corresponda (Tabla 1).

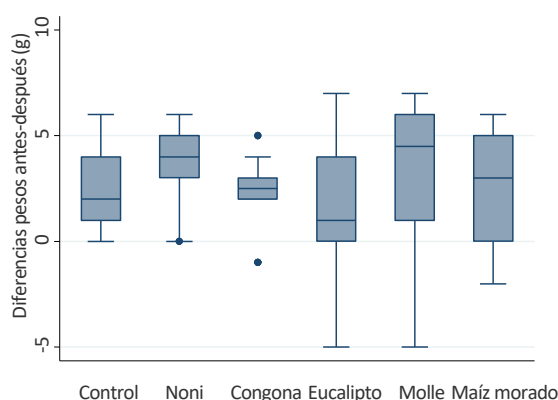


Figura 1. Variación del peso de animales de experimentación entre el día 0 y el día 14 de intervención con extractos etanólicos de cinco plantas.

Sin embargo, al realizar las pruebas *post hoc* solo se observó una disminución significativa ($p < 0,05$) en los valores de leucocitos de los grupos congona, eucalipto, molle y maíz morado, así como en los valores de plaquetas en los grupos eucalipto y molle, en comparación con el grupo control (Figura 2).

Por otro lado, hubo diferencias estadísticas ($p < 0,05$) al momento de realizar la comparación de los rangos de valores de ALT y proteínas totales en los grupos de estudio con ayuda de la prueba de Kruskal Wallis (Tabla 2).

Tabla 1. Parámetros hematológicos al día 14 de intervención con extractos etanólicos de cinco plantas

	Grupo de estudio						Valor p
	Control	Noni	Congona	Eucalipto	Molle	Maíz morado	
Hemoglobina (g/dL)	14,62 $\pm$ 0,09	14,60 $\pm$ 0,18	14,59 $\pm$ 0,17	14,74 $\pm$ 0,17	15,04 $\pm$ 0,07	14,87 $\pm$ 0,13	0,16
Hematocrito (%)	47,94 $\pm$ 0,61	49,72 $\pm$ 0,54	46,91 $\pm$ 0,68	48,22 $\pm$ 0,86	50,05 $\pm$ 0,43	48,95 $\pm$ 0,56	0,008
Eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	8,08 (0,63)	8,39 (0,50)	7,94 (0,78)	8,25 (0,54)	8,57 (0,41)	8,24 (0,27)	0,63 ^(*)
Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	7,78 (0,30)	7,65 (0,60)	7,13 (0,17)	7,15 (0,34)	7,20 (0,20)	7,11 (0,25)	<0,001 ^(*)
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	764,00 (2,70)	777,50 (4,30)	697,7 (3,22)	625,00 (5,40)	684,50 (6,90)	770,00 (4,70)	<0,001 ^(*)

Valores expresados en medias $\pm$ error estándar de la media (EEM); y en medianas (rango intercuartil) * Prueba de Kruskal-Wallis

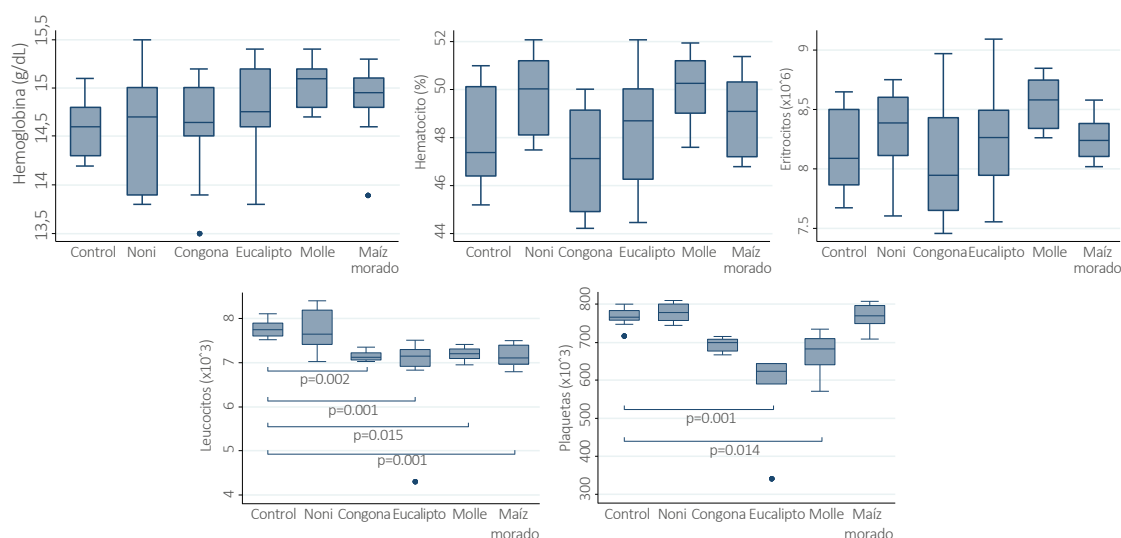


Figura 2. Parámetros hematológicos de grupos intervenidos con extractos de cinco plantas en comparación con el grupo control.

De forma similar a lo antes descrito, al momento de realizar las pruebas *post hoc* correspondientes, se encontró un aumento significativo de los valores de ALT en los grupos congona y eucalipto en comparación con el control (Figura 3).

Durante la necropsia de los ratones se observó leve palidez y ligero agrandamiento hepático. Estas lesiones se observaron en algunos animales tanto del grupo control como en los grupos tratados y, finalmente, no se consideraron como lesiones relacionadas al tratamiento. A la observación microscópica de tejido hepático y renal, no se hallaron alteraciones histopatológicas resaltantes ni en los grupos que recibieron extractos etanólicos a la dosis de 2000 mg/kg, ni en el grupo control (Figura 4).

Discusión

Las plantas medicinales se han utilizado con fines terapéuticos durante siglos debido a su disponibilidad y bajo costo. Actualmente, su consumo ha aumentado, utilizándose con fines preventivos, curativos e, incluso en forma complementaria a la medicación prescrita para el tratamiento de diversas enfermedades ⁽¹⁹⁾. La toxicidad de estas plantas a veces no se conoce, además, existe la errónea percepción de que no causan ningún tipo de daño, sin embargo, pruebas toxicológicas demuestran que muchas plantas utilizadas actualmente pueden ser altamente tóxicas cuando se ingieren, y pueden producir efectos adversos

Tabla 3. Parámetros bioquímicos al día 14 de intervención con extractos etanólicos de cinco plantas

	Grupo de estudio						Valor p
	Control	Noni	Congona	Eucalipto	Molle	Maíz morado	
Úrea (mg/dL)	46,13 ± 0,24	46,30 ± 0,66	46,74 ± 0,40	45,86 ± 0,42	45,63 ± 0,29	46,22 ± 0,39	0,54
Crea /dL	0,48 ± 0,008	0,45 ± 0,005	0,47 ± 0,009	0,47 ± 0,007	0,47 ± 0,007	0,46 ± 0,003	0,11
ALT (UI/L)	56,50 (5,00)	65,50 (7,00)	75,5 (9,00)	80,00 (11,00)	62,00 (5,00)	59,00 (2,00)	<0,001 ^(*)
Proteínas Totales (g/dL)	6,68 (0,64)	6,93 (0,55)	6,20 (0,20)	6,40 (0,26)	7,04 (1,39)	6,69 (0,41)	0,010 ^(*)
Albúmina (g/dL)	3,53 ± 0,09	3,59 ± 0,05	3,50 ± 0,04	3,43 ± 0,07	3,48 ± 0,10	3,57 ± 0,10	0,69
Globulina (g/dL)	3,09 (0,43)	3,29 (0,39)	2,68 (0,31)	3,01 (0,43)	2,99 (1,94)	3,17 (0,51)	0,06 ^(*)

Valores expresados en medias ± error estándar de la media (EEM); y en medianas (rango intercuartilar) * Prueba de Kruskal-Wallis

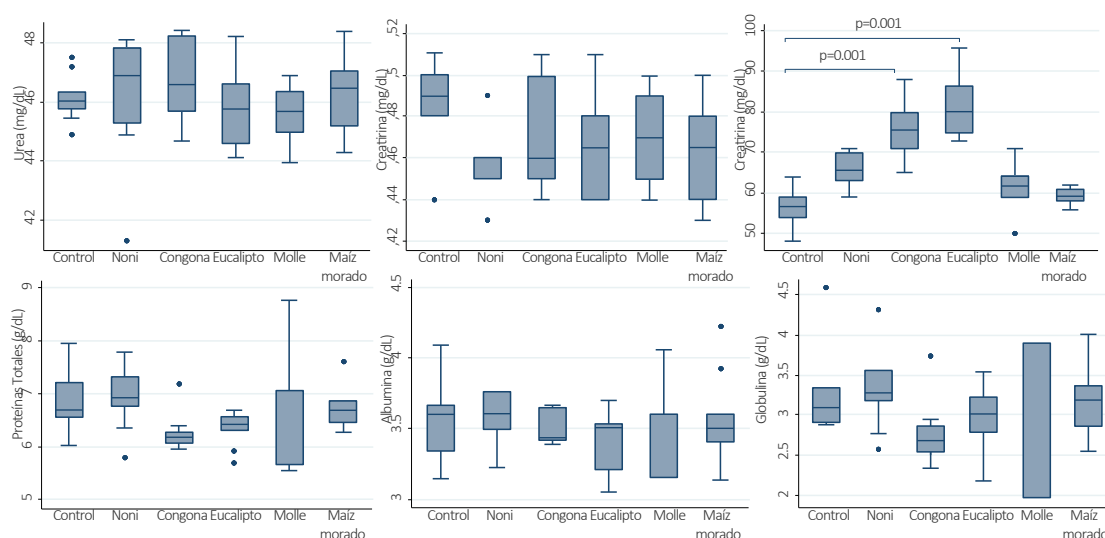


Figura 3. Parámetros bioquímicos de grupos intervenidos con extractos de cinco plantas en comparación con el grupo control.

e interacciones con otros fármacos o incluso llegar a ser letales a altas dosis ⁽²⁰⁾.

En la prueba de toxicidad oral aguda no se reportaron muertes ni signos de toxicidad con el extracto de *M. citrifolia*, como lo demuestran diversos estudios con los extractos preparados de sus frutos ⁽²¹⁾ a pesar de algunos casos reportados de toxicidad en humanos por consumo de jugo de noni ⁽²²⁾. En la variedad de *P. glauca* (pino) no se encontraron estudios previos de toxicidad aguda, pero los resultados encontrados se corresponden con investigaciones en otros miembros del género *Peperomia* que no demuestran signos de toxicidad o muertes en animales de experimentación ⁽²³⁾. Los grupos que recibieron los extractos etanólicos de *Schinus molle* y *Z. mays* tampoco mostraron muertes o cambios comportamentales, a pesar de estudios previos en el caso del molle, en donde los animales de experimentación mostraron signos de hiperactividad con el extracto etanólico de esta planta, producido probablemente por la alteración en la neurotransmisión dopaminérgica o en otros sistemas ⁽²⁴⁾.

En el caso del extracto del *E. globulus*, hubo cambios de comportamiento y algunos signos aparentes de toxicidad de tipo neurológico como excitabilidad, inquietud y aparente fotosensibilidad. Diversas investigaciones se enfocan principalmente en la actividad biológica de los aceites esenciales del *E. globulus* y son pocos los estudios sobre composición y actividades de los extractos alcohólicos de las hojas de esta planta ⁽⁵⁾. Se tienen reportes que indican una variedad de signos como extrema sensibilidad al ruido, convulsiones, estupor, falla respiratoria y muerte con la

administración de aceite esencial de eucalipto, que tiene altas cantidades de eucaliptol (1, 8-cineole), posible responsable de estos efectos ⁽²⁵⁾. Asimismo, un estudio demostró que la administración del aceite esencial inhibió la acción depresora del diazepam cuando fueron administrados conjuntamente, esto causado probablemente por el aumento de citocromos hepáticos envueltos en el metabolismo de esta droga ⁽²⁶⁾.

Los valores de leucocitos de los grupos congona, eucalipto, molle y maíz morado tuvieron una leve disminución en comparación con el grupo control, estadísticamente significativa, pero dentro de los valores de referencia, por lo que estos resultados no se consideraron relevantes. De forma similar, el conteo de plaquetas de todos los grupos estuvo por debajo de los valores de referencia ⁽²⁷⁾, sin embargo, solo se encontraron diferencias significativas, en comparación con el control, en los grupos eucalipto y molle. Esto se puede explicar por la alta dificultad de la punción cardíaca, que puede causar hemorragias con incremento del consumo de plaquetas o inadecuada toma de muestras y posterior agregación plaquetaria *in vitro*. Los compuestos administrados también pueden estimular el sistema inmune contra las plaquetas, provocando trombocitopenia inmunomediada, que es poco frecuente en estudios toxicológicos, o también activación directa de las plaquetas causando su rápida remoción de la circulación ⁽²⁸⁾.

Los valores de ALT de los grupos eucalipto y congona tuvieron elevaciones significativas con respecto al control, pero dentro del rango de los valores de referencia ⁽²⁷⁾. Como

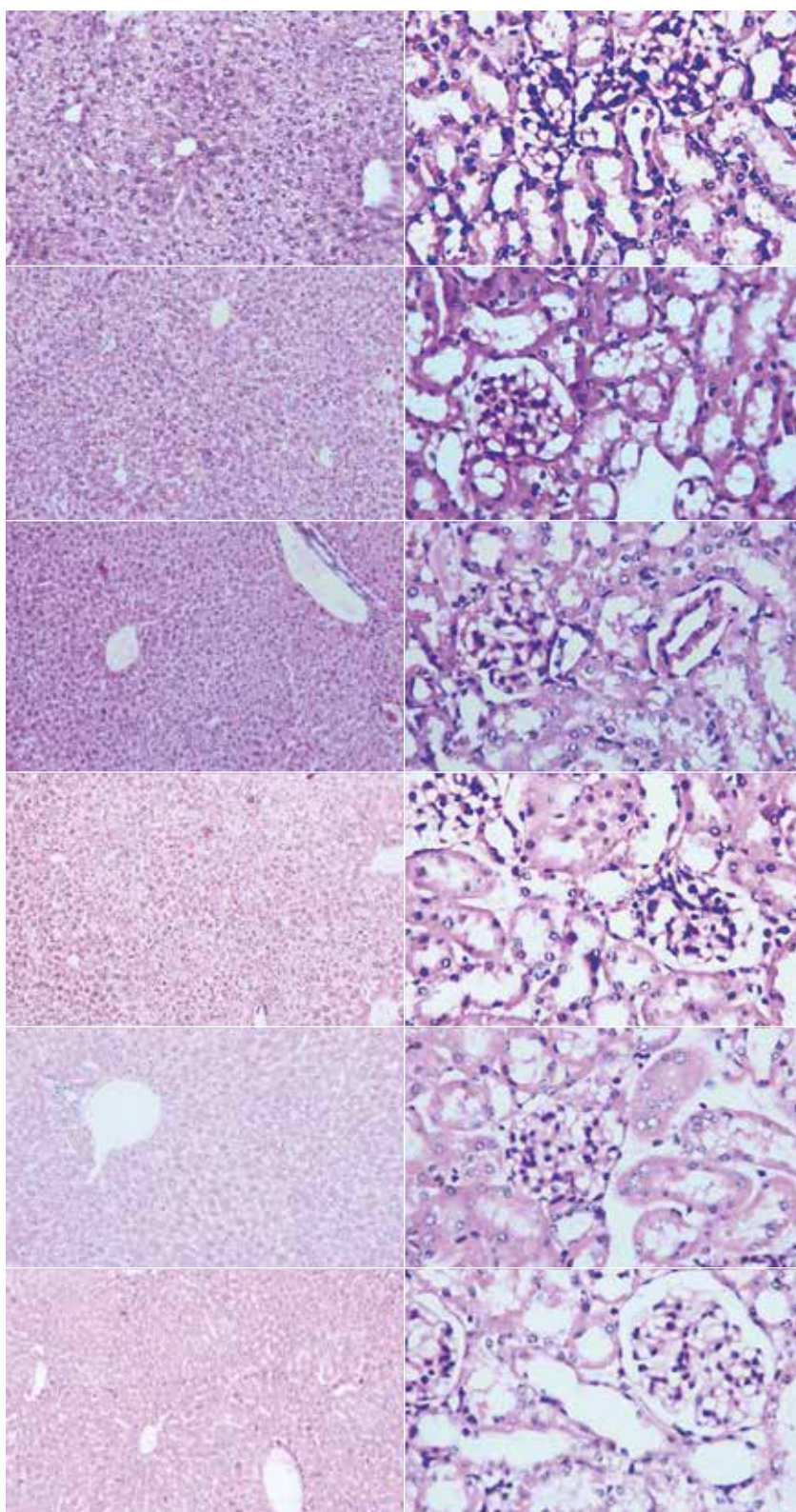


Figura 4. Fotografías de las secciones histológicas de hígado y riñón (tinción hematoxilina – eosina) de los diferentes grupos de tratamiento. A (control), B (noni), C (congona), D (eucalipto), E (molle) y F (maíz morado).

regla general, el aumento del ALT, relacionado con una sustancia de prueba en estudios toxicológicos, debería tener elevaciones por encima de 200 UI/L y, generalmente, se acompaña de evidencia histopatológica de lesión hepática, mientras que valores por debajo de este nivel pueden tener o no hallazgos correlativos ⁽²⁸⁾. También puede haber elevación del ALT por daño físico al hígado y músculos, por excesiva manipulación de los animales, así como por enfermedad biliar, inducido por drogas (anticonvulsivos, glucocorticoides) y una dieta baja en proteínas ⁽²⁹⁾.

Se concluye que no se observaron signos de toxicidad ni mortalidad en el ensayo con los diferentes extractos. La prueba de toxicidad oral aguda se realizó a una dosis límite principalmente porque se tiene información indicando que es probable que el material de prueba no sea tóxico, por lo que el estudio se llevó a cabo a la dosis de 2000 mg/kg siendo bien tolerado. No se registró mortalidad por lo que la toxicidad oral de estos extractos pueden clasificarse en la categoría 5 (la DL 50 es superior a 2000 mg / kg) según el Sistema de Clasificación Mundialmente Armonizado de la OCDE ⁽³⁰⁾.

Referencias bibliográficas

- Schmidt B, Ribnicky DM, Poulev A, Logendra S, Cefalu WT, Raskin I. A natural history of botanical therapeutics. *Metabolism*. 2008; 57(7 Suppl. 1): S3-9. doi: 10.1016/j.metabol.2008.03.001.
- Raskin I, Ribnicky DM, Komarnytsky S, Ilic N, Poulev A, Borisjuk N, et al. Plants and human health in the twenty-first century. *Trends Biotechnol*. 2002; 20(12): 522–31.
- Shaw D, Graeme L, Pierre D, Elizabeth W, Kelvin C. Pharmacovigilance of herbal medicines. *J Ethnopharmacol*. 2012; 140(3): 513–8. doi: 10.1016/j.jep.2012.01.051
- Hasegawa T, Takano F, Takata T, Niiyama M, Ohta T. Bioactive monoterpene glycosides conjugated with gallic acid from the leaves of *Eucalyptus globulus*. *Phytochemistry*. 2008; 69(3): 747–53. doi: 10.1016/j.phytochem.2007.08.030
- Dezsi Ş, Bădăraş AS, Bischin C, Vodnar DC, Silaghi-Dumitrescu R, Gheldiu AM, et al. Antimicrobial and antioxidant activities and phenolic profile of *Eucalyptus globulus* Labill. and *Corymbia ficifolia* (F. Muell.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson leaves. *Molecules*. 2015; 20(3): 4720–34. doi: 10.3390/molecules20034720
- Torres MAO, de Fátima Braga Magalhães I, Mondêgo-Oliveira R, de Sá JC, Rocha AL, Abreu-Silva AL. One Plant, Many Uses: A Review of the Pharmacological Applications of *Morinda citrifolia*. *Phyther Res*. 2017; 31(7): 971-979. doi: 10.1002/ptr.5817
- Poerata O, Hamburger M. *Morinda citrifolia* (Noni) fruit - Phytochemistry, pharmacology, safety. *Planta Med*. 2007; 73(3):191–9. doi: 10.1055/s-2007-967115
- Florence NT, Huguené STS, Hubert DJ, Raceline GK, Desire DDP, Pierre K, et al. Aqueous extract of *Peperomia pellucida* (L.) HBK accelerates fracture healing in Wistar rats. *BMC Complement Altern Med*. 2017; 17(1):1–9. doi: 10.1186/s12906-017-1686-3
- Rojas-Marnez R, Arrieta J, Cruz-Antonio L, Arrieta-Baez D, Velázquez-Méndez AM, Sánchez-Mendoza ME. Dillapiole, isolated from *peperomia pellucida*, shows gastroprotective activity against ethanol-induced gastric lesions in wistar rats. *Molecules*. 2013; 18(9):11327–37. doi: 10.3390/molecules180911327
- Bras C, Gumilar F, Gandini N, Mine A, Ferrero A. Evaluation of the acute dermal exposure of the ethanolic and hexanic extracts from leaves of *Schinus molle* var. areira L. in rats. *J Ethnopharmacol*. 2011; 137(3):1450–6. doi: 10.1016/j.jep.2011.08.036
- Bras C, Domínguez S, Codón S, Mine A, Ferrero A. Consequences of subchronic exposure to ethanolic extract from fruits and leaves of *Schinus molle* var. areira L. in mice. *J Ethnopharmacol*. 2010; 132(1):321–7. doi: 10.1016/j.jep.2010.08.035
- Lao F, Sigurdson GT, Gius MM. Health Benefits of Purple Corn (*Zea mays* L.) Phenolic Compounds. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2017;16(2):234–46. doi: 10.1111/1541-4337.12249
- Pedreschi R, Cisneros-Zevallos L. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chem*. 2007; 100(3):956–63. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.11.004
- Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. 1994. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, D.C.; 2011. 220 p.
- OECD. Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method. *Oecd Guidel Test Chem* [Internet]. 2002;(December):1–14. Available from: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-423-acute-oral-toxicity-acute-toxic-class-method_9789264071001-en
- Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick MC. Recommendations for euthanasia of experimental animals : Part 2. *Lab Anim*. 1997; 29:1–32.

18. Fischer AH, Jacobson KA, Rose J, Zeller R. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. CSH Protoc. 2008; 3(5):1–2. doi: 10.1101/pdb.prot4986
19. da Silva ARH, Reginato FZ, Guex CG, Figueredo KC, Araldi IC d. C, de Freitas RB, *et al.* Acute and sub-chronic (28 days) oral toxicity evaluation of nectar of *Baccharis trimera* (Less) Backer in male and female rodent animals. Regul Toxicol Pharmacol. 2016; 74: 170–7. doi: 10.1016/j.yrtph.2015.10.024
20. Ezeja MI, Anaga AO, Asuzu IU. Acute and sub-chronic toxicity profile of methanol leaf extract of *Gouania longipetala* in rats. J Ethnopharmacol. 2014; 151(3): 1155–64. doi: 10.1016/j.jep.2013.12.034
21. Pandey V, Narasingam M, Mohamed Z. Anp sychoc-like activity of noni (*Morinda citrifolia* Linn.) in mice. BMC Complement Altern Med. 2012; 12:186. doi: 10.1186/1472-6882-12-186
22. Mrzljak A, Kosuta I, Skrc A, Filipec Kanizaj T, Vrhovac R. Drug-induced liver injury associated with noni (*Morinda citrifolia*) juice and phenobarbital. Case Rep Gastroenterol. 2013; 7(1):19–24. doi: 10.1159/000343651
23. Mbah J a, Ngemenya MN, Abawah AL, Babiaka SB, Nubed LN, Nyongbela KD, *et al.* Bioassay-guided discovery of antibacterial agents: in vitro screening of *Peperomia vulcanica*, *Peperomia fernandopoiiana* and *Scleria striatinux*. Ann Clin Microbiol Anmcr ob. 2012; 11(1):10. doi: 10.1186/1476-0711-11-10
24. Ferrero A, Mine A, Bras C, Zane N. Acute and subacute toxicity evaluation of ethanolic extract from fruits of *Schinus molle* in rats. 2007; 113: 441–7. doi: 10.1016/j.jep.2007.06.019
25. Hu Z, Feng R, Xiang F, Song X, Yin Z, Zhang C, *et al.* Acute and subchronic toxicity as well as evaluation of safety pharmacology of eucalyptus oil-water emulsions. Int J Clin Exp Med. 2014; 7(12): 4835–45.
26. Quilez AM, Saenz MT, García MD. *Uncaria tomentosa* (Willd. ex. Roem. & Schult.) DC. and *Eucalyptus globulus* Labill. interactions when administered with diazepam. Phyther Res. 2012; 26(3): 458–61. doi: 10.1002/ptr.3593
27. Hrapkiewicz K, Colby L, Denison P. Clinical laboratory animal medicine: an introduction. 4th Ed. 2013. Iowa: WILEY Blackwell.
28. Hayes AW, Kruger CL. Hayes Principles Methods of Toxicology. 6th Ed. 2014. Boca Raton, FL: CRC Press.
29. Kurtz DM, Travlos GS. The Clinical Chemistry of Laboratory Animals. 3rd Ed. 2018. Boca Raton, FL: CRC Press.
30. OECD. Harmonized Integrated Classification System for Human Health and Environmental Hazards of Chemical Substances and Mixtures. No. 33. 2001;(33):247.