

Artículo Original

Bioensayo de toxicidad aguda de *Desmodium molliculum* (H.B.K.)
D.C., ManayupaAcute Toxicity Bioassay Of *Desmodium Molliculum* (H.B.K.) D.C. ManayupaGloria Gordillo¹, Pablo Bonilla¹, Haydee Zúñiga¹, Gustavo Guerra¹, Luz Hernández¹, Gabriela Solano¹, Miriam Bazalar²¹ Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima, Perú.² Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina. Lima, Perú.

Resumen

Objetivo: Evaluar la toxicidad aguda oral por el método de las clases de decocción del extracto acuoso de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C., manayupa (EAM), a una concentración máxima de 2000 mg/kg de peso corporal. **Material biológico:** Hojas y tallos de *Desmodium molliculum*, manayupa y *Mus musculus* cepa Balb/c/CNPB, ratones adultos hembras y machos. **Metodología:** Las hojas y tallos de *Desmodium molliculum*, manayupa recolectadas en La Encañada-Cajamarca fueron desecadas y trituradas a 1.5 mm, sometidas a una extracción acuosa en caliente, filtradas y concentradas por liofilización. El estudio de toxicidad aguda oral se realizó usando dosis de 500, 1000 y 2000 mg/kg pc, respectivamente. Se registraron las observaciones realizadas que estaban dirigidas a la determinación de: signos y síntomas de toxicidad, peso, muerte y tiempo de ocurrencia de la misma los días 1, 7 y 14. **Resultados:** En las condiciones del ensayo, la manayupa no produjo manifestaciones de síntomas indicativos de toxicidad, ni mortalidad en los ratones, no se observó alteraciones significativas del peso corporal. **Conclusiones:** La administración oral durante 14 días del extracto acuoso de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C., manayupa, en concentraciones de hasta 2000 mg/kg pc de *Mus musculus* cepa Balb/c/CNPB, ratones, no es tóxica y se enmarca entre las sustancias "sin clasificar" en el modelo animal y nivel de dosis utilizado bajo las condiciones experimentales observadas.

Palabras clave: *Desmodium molliculum* (H.B.K.); manayupa; toxicidad aguda oral; extractos vegetales.

Abstract

Objective: To evaluate acute oral toxicity by the method of the decoction classes of the aqueous extract of leaves and stems of *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C., manayupa (EAM), at a maximum concentration of 2000 mg / kg body weight. **Biological material:** Leaves and stems of *Desmodium molliculum*, manayupa and *Mus musculus* strain Balb / c / CNPB, adult male and female mice. **Methodology:** The leaves and stems of *Desmodium molliculum*, manayupa collected in La Encañada-Cajamarca were desiccated and crushed to 1.5 mm, subjected to a hot aqueous extraction, filtered and concentrated by lyophilization. The acute oral toxicity study was performed using doses of 500, 1000 and 2000 mg / kg bw, respectively. The observations made were recorded that were aimed at the determination of: signs and symptoms of toxicity, weight, death and time of occurrence of the same on days 1, 7 and 14. **Results:** Under the conditions of the trial, the manayupa did not produce manifestations of symptoms indicative of toxicity, or mortality in mice, no significant changes in body weight were observed. **Conclusions:** The oral administration for 14 days of the aqueous extract of leaves and stems of *Desmodium molliculum* (HBK) DC, manayupa, at concentrations up to 2000 mg / kg bw of *Mus musculus* strain Balb / c / CNPB, mice, is not toxic and it is framed between the "unclassified" substances in the animal model and the dose level used under the experimental conditions observed.

Keywords: *Desmodium molliculum* (H.B.K.); acute toxicity; plant extracts.

Correspondencia:

Nombre: Gloria Clotilde Gordillo Rocha

Correo: ggordillor@unmsm.edu.pe

Recibido: 15/03/2019

Aceptado: 12/08/2019

Citar como:

Gordillo, G., Bonilla, P., Zúñiga, H., Guerra G., Hernández, L., Solano G., y Bazalar, M. (2019). Bioensayo de toxicidad aguda de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C., Manayupa. *Ciencia e Investigación* 2019 22(1):31-34.

© Los autores. Este artículo es publicado por la Ciencia e Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución - No Comercia - Compartir Igual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

INTRODUCCIÓN

Especies de *Desmodium* han sido apreciadas en la Medicina Tradicional por sus propiedades curativas y es usada en nuestro país por la medicina tradicional, como diurética, antiinflamatoria, emenagoga, depurador sanguíneo, calmante, en el tratamiento de heridas, antibacteriano, asma, antianémicas y analgésicas. Presentes en las hojas y tallos *Desmodium molliculum* (Kunth) DC, popularmente conocida como manayupa, pata de perro, pie de perro, allcopachaqui, runamanayupa, pega pega, amor seco, treinta reales, Allcopachaqui (quechua)⁽¹⁻⁵⁾. Sinonimias: Catenaria Benth. Desmofischeria Holthuis, Dollinera Endl, Hanslia Schindl, Hegnera Schindl, Holtzea Schindl, Hylodesmum H, Ohashi & R.R. Mill, Meibomia Heist. ex Fabr, Monarthrocarpus Merr, Murtonia Craib, Nephromeria (Benth.) Schindl, Nicolsonia DC, Ohwia H, Ohashi, Ougeinia Benth, Papilionopsis Steenis, Podocarpium (Benth.) Y.C. Yang & P.H. Huang⁽⁶⁾. Crece en la sierra de Ayacucho, Cajamarca, Cuzco, Huánuco Junín, Lima, La Libertad, Huaraz a alturas de entre 2000 a 3500 msnm⁽¹⁻⁵⁾. La utilización de vegetales es una categoría terapéutica que cambió el tratamiento medicinal a fines del siglo pasado y marca un aporte al siglo XXI, habiéndose realizado investigaciones plasmadas en monografías, artículos, tesinas y tesis que informan de la presencia de metabolitos secundarios que poseen los extractos de las hojas y tallos de la especie *Desmodium*⁽¹⁻⁸⁾. La toxicidad aguda describe los efectos negativos de una sustancia ya sean resultado de una única exposición o de exposiciones múltiples en un corto tiempo (normalmente menos de 24 horas). Toxicidad aguda difiere de la toxicidad crónica, la última describe los efectos adversos para la salud de exposiciones repetidas, a menudo a niveles más bajos, a una sustancia durante un largo período de tiempo (meses o años). Para el uso medicinal de esta especie se elaboró manayupa droga seca triturada a 1-1.5 mm para infusión. El estudio fitoquímico del extracto acuoso frío demuestra la presencia de alcaloides, esteroides, flavonoides; en el extracto acuoso caliente: flavonoides, taninos, esteroides, que corrobora los resultados reportados por otros autores⁽⁶⁻⁸⁾.

En el presente estudio se evalúa la toxicidad aguda del extracto acuoso de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C., manayupa, en concentraciones de 500, 1000 y 2000 mg/kg en *Mus musculus* cepa Balb/c/CNPB ratones adultos hembras y machos.

Se presenta un estudio experimental de tipo descriptivo, analítico, prospectivo y longitudinal, realizado en el Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología “Marco Antonio Garrido Malo”, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

El bioensayo se realizó por el método de las clases tóxicas agudas descrito en la normativa N2 423 de la OECD⁽⁹⁾.

Materiales: Se utilizó:

- Extractos acuosos de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C, manayupa, en concentraciones de 500, 1000 y 2000 mg/kg pc.
- 24 *Mus musculus* cepa Balb/c/CNPB, ratones albinos (12 de cada sexo), de 47 a 53 días, sanos, con un peso de 21-26 g para las hembras y 22-31 g para los machos, adquiridos en el Instituto Nacional de Salud (INS).
- Balanza para animales (sensibilidad 0.1 g).

Preparación de extractos acuosos:

Las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* recolectadas en La Encañada-Cajamarca fueron desecadas a 45 °C, trituradas a 1.5 mm, mezclaron con agua destilada hirviendo, se dejó en maceración por 24 horas, filtró, liofilizó y almacenó en estufa a 30 °C ± 1, para una óptima conservación. Se rehidrató el liofilizado a concentraciones de 500, 1000 y 2000 mg/dL y se colocaron en envases de vidrio ámbar con tapa de plástico, rotuló y conservó para los bioensayos de toxicidad aguda.

Metodología experimental

24 ratones se dividieron, según el sexo, en dos Grupos de 12 y éstos en cuatro Sub grupos de tres ratones cada uno: Un Subgrupo sirvió de control, al cual se le administró vía oral cloruro de sodio al 0.9 %; los otros tres Subgrupos se trataron vía oral con extracto acuoso de hojas y tallos de *Desmodium molliculum*, manayupa (EAM) en dosis de 500, 1000 y 2000 mg/kg pc, respectivamente durante 14 días. Se registraron las observaciones de: peso, signos y síntomas de toxicidad, muerte y tiempo de ocurrencia de la misma los días 1, 7 y 14.

Los grupos tratados recibieron por vía oral una dosis límite de 2000 mg/kg de masa corporal. La administración se realizó usando una cánula intragástrica y punta roma horadada de acero.

Los animales se observaron desde los primeros minutos, durante las primeras 6 horas y hasta los 14 días del experimento, registrándose los pesos, signos y síntomas de toxicidad. Las observaciones estuvieron dirigidas a la determinación de: muerte y tiempo de ocurrencia de la misma; signos y síntomas de toxicidad, incluyendo su comienzo y duración; además de cambios en la piel, membranas de mucosas y ojos; en los sistemas respiratorio, circulatorio, nervioso central y autónomo; actividad somatomotora y conducta. Se prestó especial atención a la potencial ocurrencia de: tremor, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, somnolencia y coma. Se controló el peso vivo de los animales en los días 1, 7 y 14 del experimento, como uno de los parámetros demostrativos de toxicidad.

Evaluación estadística

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS (versión 21). Se realizaron pruebas de análisis de varianza (ANOVA), seguidos de una prueba de LSD de Fisher, para buscar diferencias significativas entre los grupos.

Consideraciones éticas

Todos los animales fueron tratados de acuerdo a normas éticas, en concordancia con la guía para el cuidado y uso de animales con propósitos científicos, elaborada por el National Advisory Committee for Laboratory Animal Research.

RESULTADOS

La administración del extracto acuoso de *Desmodium molliculum* en concentraciones de 500, 1000 y 2000 mg/kg no provocó muerte de los animales, ni síntomas indicativos de toxicidad. La DL50 del extracto de estudio se encuentra por encima de 2000 mg/kg de masa corporal, calificándose éstos, según el Sistema Global Armonizado, como “No clasificadas” (“No tóxicas”)⁽⁹⁻¹⁰⁾. En las condiciones de ensayo, el peso como indicador de toxicidad se comportó dentro de los parámetros establecidos, no modificándose significativamente⁽¹¹⁻⁴⁾.

En la Tabla 1 se aprecia que el peso se modifica, aunque sin alcanzar diferencias con significado estadístico.

DISCUSIÓN

La determinación de las manifestaciones clínicas, como daños asociados a lesiones en sistemas u órganos, trae como resultado alteraciones en diversas funciones metabólicas, siendo las mismas indicadores importantes de la toxicidad, sino uno de los más primordiales en el estudio de cualquier sustancia fitoquímica⁽¹⁵⁾. En el presente estudio se evaluaron los posibles efectos tóxicos que podía provocar la administración oral de los extractos acuosos obtenidos a partir de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C., manayupa. El ensayo de toxicidad aguda por vía oral en ratones mostró que los extractos acuosos de manayupa poseen un bajo potencial tóxico, confirmándose lo reportado por Rodríguez Chávez (2009)⁽¹⁶⁾ en el extracto acuoso a dosis de 1600 mg/kg/pc de *Desmodium molliculum*, ya que no indujo un incremento significativo en anomalías morfológicas. Este resultado se asemeja al obtenido por Lozano R y cols. (2014)⁽⁵⁾ al evaluar la actividad antiinflamatoria de las hojas de tres muestras de *Desmodium molliculum* por administración peroral. Asimismo, Allué Creus (1998)⁽¹⁷⁾ reporta que no se produce mortalidad en la toxicidad aguda por vía oral de *Desmodium adscendens*.

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos en el presente estudio, nos permiten arribar a las siguientes conclusiones:

1. La administración oral durante 14 días del extracto acuoso de hojas de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C., manayupa en concentraciones de 500, 1000 y 2000 mg/kg pc en ratones no produjo signos clínicos que evidenciaran toxicidad, ni mortalidad en el modelo animal utilizado.
2. La sustancia evaluada no afectó la ganancia de peso corporal en los animales.
3. Los extractos acuosos de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. en concentraciones de 500, 1000 y 2000 %, administrada por vía oral se enmarcan, según el Sistema Global Armonizado, como “No clasificadas” (“No tóxicas”) en el modelo animal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Camasca Vargas A, Estudio de la demanda y estimación del valor cultural y económico de plantas medicinales comercializadas en la ciudad de Ayacucho. Lima-Perú 2012.
2. Acero Carrión B, Millones Sánchez D, Ticona Rebagliati I, Torres Bravo L, “Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* en el modelo murino de asma”. Estudiante de Medicina. Facultad de Medicina Humana “San Fernando, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú 2012.
3. Acaro F, “Efecto anticonceptivo y postcoital del extracto etanólico de las hojas del *Desmodium molliculum* (HBK).DC “Manayupa” en ratas hembras Holtzmann.” Facultad de Farmacia y Bioquímica. ECI-Perú: Revista del Encuentro Científico Internacional, ISSN-e 1813-0194. 2013; 9 (2): 33-4. https://ntp.niehs.nih.gov/iccvm/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl423.pdf
4. Hanco Y, Gonzales I, Vargas R, “Efecto del *Desmodium molliculum* (Manayupa) sobre la fertilidad y el peso en ratas” “*rattus norvegicus*”. Arequipa, 2016.
5. Lozano R Nancy, Bonilla R Pablo, Arroyo A Jorge, Arias A Gladys, Córdova R Augusta & Baldoce F. Evaluación fitoquímica y actividad biológica de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. (Manayupa). *Ciencia e Investigación*, 2014;4(2):37-44. Recuperado a partir de: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3535>

Tabla 1. Pesos de ratones (g) durante el tratamiento con extracto acuoso de manayupa (EAM) según sexo y días del tratamiento. (n = 3)

Día de tratamiento	Sexo	Control	EAM (mg/kg pc)			p
		CINa 0.9 %	500	1000	2000	
1	Machos	26	26	26	27	NS
	Hembras	25	24	27	27	NS
7	Machos	27	28	29	30	NS
	Hembras	28	26	27	25	NS
14	Machos	29	26	27	26	NS
	Hembras	29	26	26	24	NS

6. Landeta J., Naranjo L., "Evaluación de la actividad antibacteriana de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. Treinta Reales, utilizando un modelo in vivo" Quito, Marzo, 2015.
7. Barreto, D., & Bonilla, P. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa). *Ciencia E Investigación*, 2017; 20 (1): 3-8. Recuperado a partir de: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/14314>
8. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD/OCDE). (2001). OECD Guidelines for the testing of chemicals. Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method. https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/fedddocs/oecd/oecd_gl423.pdf
9. OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. 17th December 2001.
10. Pérez Machín Maykel, Jiménez Monteagudo Emilo E., Boffill Cárdenas María, González Mosquera Dulce M., Méndez Triana Rayza, Verdecía Machado Belkys et al . Toxicidad aguda de un extracto acuoso de *Boldoa purpurascens* Cav. en el modelo de sube y baja en ratas. *Rev Cubana Plant Med [Internet]*. 2008 Jun [citado 2019 Feb 26]; 13(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962008000200006&lng=es.
11. Bermúdez D, Monteagudo E, Boffill M, Díaz L, Roca A, Bétancourt E, Silveira E. Evaluation of acute toxicity of extracts of medicinal plants by an alternative testing. *Revista electrónica de Veterinaria* 2007 Volumen VIII Número 3. Disponible en: URL:<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030307/030706.pdf>. Consultado Octubre 4, 2014.
12. Carreño, M.; Rojas, L. perfil neurofarmacológico de sustancias: Test de Irwin. Farmacología experimental preclínica. UN-MSM. 2oa Edición. Lima Consultado noviembre 7, 2014.
13. Arancibia D, Rosario L, López Y, Fariñas M, Infante J, Díaz D, Prieto J. Algunas consideraciones sobre la determinación de la toxicidad aguda. *Revista de toxicología en línea*. 2007. Disponible en: URL:<http://www.sertox.com.ar/img/item/full/22001.pdf> Consultado Octubre 9, 2018.
14. Rivera M, Macías L, Tinoco M, Gracia I, Ruiz L Toxicidad Aguda en Rata y Ratón De La Casiopeína II (gli). 20 Congreso Nacional de Química Médica. Disponible en: URL:http://www.respyn.uanl.mx/especiales/.../76_rivera-huerta_y_col...pdf Consultado Octubre 21, 2015.
15. Curso tutorial con expertos regionales en diagnóstico, tratamiento y prevención de intoxicaciones agudas causadas por plaguicidas. <https://cursos.campusvirtualsp.org/repository/coursefilearea/file.php/97/plaguicidas/e/unidad2/index.html>.
16. E Rodríguez Chávez, SO Almeida Amasifuen - 2009 - repositorio. UNAP IQUITOS.EDU.PE
17. Allué Creus Josep. *Natura Medicatrix: Revista médica para el estudio y difusión de las medicinas alternativas*, ISSN 0212-9078, N°. 49 (Invierno), 1998, págs. 42-46. [Dialnet-DesmodiumAdscendensDesmodiumAdscendensSwartzPapili-4989333.pdf](http://net-desmodiumadscendensdesmodiumadscendensswartzpapili-4989333.pdf)

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Autofinanciado