

## **Evaluación tóxica in vivo de tres especies vegetales del estado de Hidalgo usadas como tratamiento contra el dolor en la medicina tradicional**

Isaac Lucas, Abelardo López, Yanik Hernández, Ernesto Cruz y Alicia Chimal

I. Lucas, A. López, Y. Hernández, E. Cruz y A. Chimal  
Universidad Tecnológica de la Zona Metropolitana del Valle de México (UTVAM). 1Química Área de  
Tecnología Ambiental. Tizayuca, Hidalgo, c.p. 43801  
Isaac0lg@gmail.com

M.Ramos.,V.Aguilera.,(eds.) Ciencias Agropecuarias, Handbook -©ECORFAN- Valle de Santiago,  
Guanajuato, 2014.

## Abstract

Pain, is a symptomatology that it is possible to find in most cases of discomfort, and since many years ago people have usually used Medicinal plants in order to cure themselves because is a cheap way of treatment. Medicinal plants are usually used like herbal tea, or just like drinking water this kind of plants, have an active therapeutic purpose and they have already been reported in scientific researches however, they also have too many variety of active biological substances the ones which, in high dose could cause negative effects including death. In this scientific research, three type of vegetal species originally from Hidalgo state Bidens, Buddleja y Zaluzania were chosen, they have therapeutic uses in homeopathic and natural medicine so that, we made extracts by using organic solvents (hexane, ethyl acetate and ethane), the lethal dose was established 50 from each extract. This result, was only the first phase and it works so as to evaluate, if it is possible to exist some kind of risk in the consumption of this medicinal plants by people.

## 16 Introducción

El dolor, es un mecanismo de defensa que alerta del posible daño a un organismo, es un síntoma frecuente dentro de la gran mayoría de las enfermedades y lesiones, en especial cuando la enfermedad crónica y sus causas son fisiológicas, psicológicas y sociales. Esto conlleva, que un gran gasto económico se dé en el tratamiento de la sintomatología del dolor (Batista et al., 2011).

En la actualidad, existen opciones para regular o disminuir el dolor, como los Antiinflamatorios no esteroideos (AINE) sin embargo muchos de estos fármacos presentan inconvenientes, pueden causar desde molestias gastrointestinales, hipersensibilidad, así como riesgo potencial de infarto al miocardio (Richard Finkel, 2009). Por lo tanto, es necesario seguir investigando opciones de tratamiento del dolor, las plantas medicinales en México son un potencial importante como fuente de nuevos principios activos analgésicos y des inflamatorios

Las especies vegetales seleccionadas de los géneros de Bidens, Buddleja y Zaluzania, presentados en este trabajo han sido reportadas en la medicina tradicional para tratar el dolor, del mismo modo los antecedentes experimentales indican presencia de sustancias químicas con efecto analgésico en especies cercanas en taxonomía a las de este trabajo, esta es la razón por la que son usadas en el tratamiento de la sintomatología del dolor, sin embargo a parte de los metabolitos responsables del efecto terapéutico, estas especies vegetales presentan un gran número de sustancias con actividad biológica, en diferentes concentraciones, las cuales podrían causar de manera individual o en conjunto reacciones adversas e incluso la muerte a dosis altas.

Por lo anterior el presente trabajo evaluará la dosis letal 50 (DL50), de tres extractos obtenidos a partir de tres especies vegetales seleccionadas como remedios tradicionales contra el dolor. Con el fin, de dar el primer indicio para determinar si existe un riesgo inmediato en su consumo por parte de la población en general.

## **Dolor e inflamación**

La definición de dolor, según la Asociación internacional para el estudio del dolor es la siguiente: “El dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño tisular real o potencial o descrita en términos de dicho daño”. El dolor como la inflamación son respuestas del organismo que previenen de la lesión y el peligro, evitando posible daño tisular. Se trata de la red central de comunicación y procesos que detectan y controlan amenazas, daño, contención y curación, son los aspectos críticos en el mantenimiento de la integridad de un organismo. Hay un creciente reconocimiento de que el papel del dolor e inflamación en la homeostasis de un organismo es un componente integral de muchos procesos fisiológicos normales y patológicos que se presentan en el transcurso de la vida, tales como el mecanismo normal de defensa del organismo ante un daño real y potencial, así como el proceso normal de readaptación durante el envejecimiento y en los múltiples procesos crónicos y degenerativos que nos pueden acompañar, tales como la obesidad y la diabetes (Batista et al., 2011; Moore, 2009; Treede, 2006; Vodovotz et al., 2009)

El proceso de inflamación, induce adaptaciones fisiológicas con el fin de limitar el daño tisular y eliminar al agente patógeno. Estos mecanismos implican una compleja serie de eventos que incluyen la dilatación de las arterias, venas y capilares con aumento de la permeabilidad vascular, liberación de fluidos, como proteínas plasmáticas y migración de leucocitos en el área afectada (Batista et al., 2011; Vodovotz et al., 2009).

En el proceso de dolor se identifican cuatro etapas generales: 1) la transducción o proceso por el cual el estímulo nocivo se transforma en un estímulo eléctrico; 2) la transmisión o propagación del impulso nervioso hasta el sistema nervioso central; 3) modulación o etapa en la que los sistemas analgésicos endógenos modifican la transmisión del impulso nervioso, principalmente inhibiendo las astas posteriores de la medula; y finalmente 4) la percepción final, en el que las tres primeras etapas interactúan junto a otros fenómenos fisiológicos y psicológicos para crear la experiencia de dolor (Carlos moreno, 2004).

## **Tratamiento**

Los AINES, son la primera elección en el tratamiento del dolor general y su distribución es amplia, una razón es que muchas de las formas farmacéuticas de los AINES no requieren de prescripción médica para su venta.

Aunque los AINES son ampliamente descritos, estos no están libres de inconvenientes o reacciones no deseadas, en el caso de los AINES su principal inconveniente es el daño gástrico que provocan debido a su inespecificidad. En el caso de los opiáceos y opioides su eficacia es muy alta sin embargo su principal inconveniente es la adicción que pueden llegar a causar, la cual está casi a la par de su eficacia (Richard Finkel, 2009).

## Productos naturales

El uso de la Medicina Tradicional, data desde que el hombre descubrió que podía emplear los recursos que le rodeaban para curar sus enfermedades. Dicha información ha sido transmitida en forma oral o a través de códices y otros escritos. Por esta razón, se conoce que las plantas contienen principios activos de acción terapéutica, que pueden emplearse para tratar los trastornos patológicos y contribuir a la conservación de la salud (Batista et al., 2011).

Las plantas se presentan como una fuente importante de productos naturales con actividad biológica y se consideran una vía prometedora para el descubrimiento de nuevos fármacos debido al fácil acceso y coste relativamente bajo. (Balunas et Kinghorn, 2005; Batista et al., 2011). El desarrollo de las hierbas medicinales con eficacia probada y seguridad, brinda una fuente importante para aumentar el acceso de la población a los medicamentos y ofrecer nuevas opciones terapéuticas. A continuación se hace mención a los géneros que se ocuparon en el presente trabajo.

### Géneros *Bidens*, *Buddleja* y *Zaluzania*

*Bidens*: Aceitilla (*Bidens odorata* Cav.), Dentro de la medicina tradicional mexicana las especies del género *Bidens* se usan para tratar malestares como: dolor de estómago, dolor de huesos, dolor de pulmones y dolor de cabeza. ( Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana, 2014).

Datos de recolección: Localización: Barrio de Atempa, el Arenal Tizayuca, Hidalgo. Latitud: 19°49'48.59"N Longitud: 98°59'12.23"O Observaciones: Campo de cultivo de maíz y terrenos baldíos. Altitud: 2274, Noviembre 2013

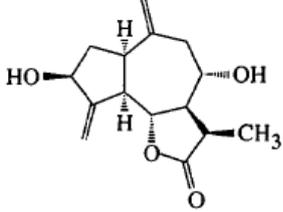
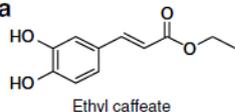
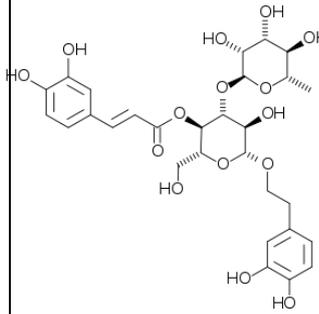
*Buddleja*: Tepozán (*Buddleja cordata*). En las especies del género *Buddleja* se le atribuyen las propiedades medicinales contra problemas dermatológicos como ronchas, heridas e inflamación de la piel. (México, 2009) Datos de recolección: Localización: Zempoala Hidalgo Latitud: 19°55'13.53"N Longitud: 98°39'32.31"O Altitud: 2507 m Observaciones: Árboles en campo abierto en parte baja de cerros Mayo de 2013

*Zaluzania*: Limpia tunas (*Zaluzania augusta*) En las especies del género *Zaluzania* se reportan dentro de la medicina tradicional para tratar inflamaciones de la piel (Conabio, 2012). Datos de recolección: Localización: Comunidad del nopalillo Epazoyucan Hidalgo. Latitud: 20° 3'8.13"N Longitud: 8°36'46.43"O Observaciones: Campo abierto, crece a un lado de nopales y cactáceas. Junio de 2013

### Metabolitos bioactivos

Se han reportado en la literatura efectos analgésicos y antiinflamatorios presentes en metabolitos secundarios de especies pertenecientes a los géneros mencionados en este trabajo. En la tabla 1 se nombra la especie que se estudió, las pruebas que se aplicaron y los agentes químicos que se identificaron como causantes del efecto terapéutico.

**Tabla 16** Compuestos químicos con actividad analgésica presentes en los géneros propuestos para estudio

Especie vegetal	Componentes químicos	Efectos biológicos	Modelos utilizados	Dosis
* <i>Zaluzania augusta</i>	 <p>8[α]-Hydroxy-11[α],13-dihydrozaluzanin C</p>	analgésico	Edema de pata en ratón inducido por carragenina.	10,20,30,50,100 y 300 mg/Kg
** <i>Bidens odorata</i> Cav.	<p><b>a</b></p>  <p>Ethyl caffeate</p>	analgésico y antiinflamatorio	-----	0.1-20 μg/ml
*** <i>Buddleja globosa</i> , <i>Buddleja jacardata</i>		Actividad antinociceptiva	Prueba Writhing Prueba de formalina Tail-flick test	200, 100, 50, 25 mg/Kg  5% Peso/volumen

Fuente: (J.Romo, 1967; Piorno Rdo et al., 2011; Wanget al., 2009), \*\* (Fabiana Lima Silva, 2011) (Yi-Ming Chiang, 2005), \*\*\* Verbascosido (Backhouse et al., 2008)

- **8[α]-Hydroxy-11[α],13-dihydrozaluzanin C** El compuesto tiene un anillo de ciclopentanocis-fusionado y un anillo de 7-lactona trans-fundido aun anillo de cicloheptano. Se ha reportado efecto analgésico en este compuesto así como en algunos de sus análogos (J.Romo, 1967; Kakuda, Helal, Nakamura, et Hattori, 1998; Piorno Rdo et al., 2011; Wanget al., 2009)
- **Cafeato etílico** (Etil-3-(3,4-dihidroxifenil)prop-2-enoato). Derivado del ácido cafeico. Compuesto orgánico perteneciente al grupo de los ésteres, teniendo un grupo fenil o unido al ácido propenoico. Su efecto analgésico se debe a la inhibición de la COX-2 (Yi-Ming Chiang, 2005).

- **Verbascosido.** Compuesto orgánico de origen natural, es un derivado del ácido cafeico, contiene azúcares en su estructura (glucopiranosas), y un grupo dihidroxifeniletíl. El efecto analgésico se debe a la inhibición de la COX-1 y 2; se ha reportado efecto protector frente a radiación UV-A y UV-B, captura de especies reactivas de oxígeno así como radicales libres y protección gástrica intestinal contra enfermedades de úlcera (Backhouse et al., 2008; Santos-Cruz et al., 2012; Singh et al., 2010).

**Objetivo General:** Evaluar en animales vivos (ratones) la DL50 de tres extractos de especies vegetales seleccionadas de los géneros *Bidens*, *Buddleja* y *Zaluzania*.

#### **Objetivos específicos:**

- Selección e identificación de las especies vegetales de *Bidens*, *Buddleja* y *Zaluzania*.
- Obtener extractos de hexano, acetato de etilo y metanol, de las especies seleccionadas de *Bidens*, *Buddleja* y *Zaluzania*.
- Determinar la dosis letal 50 de cada extracto obtenido de cada especie vegetal seleccionada.

### **16.1 Materiales y Método**

#### **Recolección y preparación de las plantas**

Se realizó el muestreo de las partes aéreas de las plantas, hojas, flores y tallo, se eliminó el exceso de tierra y se colocaron en cajas de madera ventiladas para su secado a la sombra. Posteriormente se molieron de manera mecánica para obtener los extractos.

**Obtención de los extractos:** Las plantas secas y molidas (200-250g) se sometieron a reflujo con hexano durante 3h, se filtraron y se eliminó el exceso de solvente en rotavapor a presión reducida, este proceso se repitió 2 veces, obteniéndose el primer extracto de hexano, el proceso se repitió cambiando al siguiente disolvente en orden creciente de polaridad, se usó la misma muestra usada anteriormente. Con este mismo procedimiento se obtuvieron los extractos de acetato de etilo, metanol y etanol.

#### **Dosis Letal media (DL50)**

Para la determinación de la dosis letal cincuenta aguda de los 8 extractos obtenidos se utilizaron 147 ratones CD1 machos procedentes del Bioteriote de la UAEH, con una masa corporal comprendida entre 25 y 30g, los cuales fueron mantenidos en un cuarto a temperatura constante. La alimentación consistió en alimento TEKLAD global para roedores y agua a voluntad.

Se confeccionaron grupos de 3 animales cada uno, a cada grupo se le administró un extracto disuelto en solución acuosa con 1-2% de Tween 80, dejando un grupo control administrado solo con vehículo.

Los extractos de prueba se administraron por vía oral mediante cánula intragástrica, con previa ayuna de 12h. La admiración se dividió en 2 fases de 7 días cada una, en la primera fase los niveles de dosis administrados fueron de 10, 100, 1000mg/kg; En la segunda fase se administraron dosis de 1600, 2900 y 5000mg/Kg.

Los animales fueron observados constantemente durante las primeras 24h, continuando la misma diariamente durante un período de 7 días ,registrando cualquier síntoma tóxico. Al finalizar este período se procedió al sacrificio por dislocación cervical. El peso corporal se mido al inicio, y al final del experimento a los 7 días (Lorke,1983).

## 16.2 Resultados

En la tabla 16 se muestra el porcentaje de rendimiento que se obtuvo en cada extracto vegetal; en la tabla 16.1 se muestra el resultado de la evaluación de las dos fases de DL50.

**Tabla16** Rendimientos de extractos vegetales

Planta	Solvente	Rendimiento(%)
Bidensodorata	Hexano	1.2
Bidensodorata	Acetato de etilo	1.4
Bidensodorata	Metanol	11.7
Buddlejacordata	Hexano	1.5
Buddlejacordata	Acetato de etilo	2.72
Buddlejacordata	Etanol	11.51
Zaluzania augusta	Hexano	3.1
Zaluzania augusta	Acetato de etilo	5.9
Zaluzania augusta	Etanol	7.2

DL50

**Tabla16.1** Resultados de evaluación de DL50

Extracto	Fase 1(10,100y1000mg/Kg)	Fase2(1600,2900 y5000 mg/kg)
Bidensodorata (hexano)	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos	Extracto insuficiente
Bidensodorata (acetato de etilo)	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos	No mortandad, pérdida de peso, piloerección, caída de pelo, piel morada y ojos cerrados (desapareció después de 24 horas)
Bidensodorata (metanol)	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos
Buddlejacordata (hexano)	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos
Buddlejacordata (acetato de etilo)	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos
Buddlejacordata (etanol)	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos
Zaluzania augusta (hexano)	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos
Zaluzania augusta (acetato de etilo)	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos
Zaluzania augusta (etanol)	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos	Nomortandad, sin pérdida de peso, sin síntomas adversos

### 16.3 Conclusiones

Los resultados de la DL50, no arrojaron mortanda de ninguna de las dos fases de evaluación, incluso a dosis de 5000mg/Kg de peso. En la preparación y consumo ocasional de un té o agua de tiempo, con alguna de las especies vegetales de este trabajo la dosis consumida por una persona en promedio no estaría por encima de los 1000mg/Kg, esto basado en el porcentaje de rendimiento de los extractos obtenidos, siendo que el porcentaje de rendimiento mas alto fue de 11.51%. Con lo anterior se concluye que el consumo en forma de té o agua de tiempo de alguna de las especies vegetales descritas en este trabajo no tiene riesgo de causar muerte. Se requieren pruebas futuras, para evaluar que tampoco causarían efectos adversos de gran importancia.

### 16.4 Agradecimientos

Se reconoce y agradece, el apoyo del Bioterio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH) y a su personal que nos permitieran todas las facilidades para realizar las pruebas *in vivo* para este trabajo de manera adecuada, con la correcta manipulación y ética que conlleva trabajar con animales.

### 16.5 Referencias

Backhouse, N., Delporte, C., Apablaza, C., Farias, M., Goity, L., Arrau, S., .. Miranda, H. (2008). Antinociceptive activity of *Buddleja globosa* (matico) in several models of pain. *J Ethnopharmacol*, 119(1), 160-165. doi:10.1016/j.jep.2008.06.022

Balunas, M. J., & Kinghorn, A. D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci*, 78(5), 431-441. doi:10.1016/j.lfs.2005.09.012

Batista, G. R. d. M. L., Camilade Albuquerque, M., Cynthia Layse Ferreira de, A., Petrônio Filgueiras de, A.-F., José Maria, B.-F., & Leônia, M. (2011). Database Survey of Anti-Inflammatory Plants in South America: A Review. [Review]. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(4), 2692-2749. doi:10.3390/ijms12042692

Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. (2014) Retrieved 22/04/2014, 2014, from <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php>

Carlos Moreno, D.M. P. (2004). 2. Fisiopatología del dolor clínico. (2), 13. Conabio. (2012). *Zaluzania augusta*- ficha informativa. 2012 (21 octubre 2012).

Fabiana Lima Silva, D.C. H. F., Josean Fchine Tavares. (2011). Compilation of Secondary Metabolites from *Bidens pilosa*

L. Review. *molecules*, 1070-1102. doi:10.3390/molecules16021070

J. Romo, A. R. d. V. P. J. N. (1967). The constituents of *Zaluzania augusta*: The structures of zaluzanins A and B. *Tetrahedron*, 23(1), 29-35. doi:10.1016/s0040-4020(01)83283-x

Kakuda, H., Helal, A. M., Nakamura, N., & Hattori, M. (1998). 8-Hydroxy-11,13-dihydrozaluzanin C. [text]. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, 54(1), 113-114. doi:10.1107/S0108270197012924

Lorke, D. (1983). A new approach to practical acute toxicity testing. *Arch Toxicol*, 54(4), 275-287.

México, U. N. A. d. (2009). Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana Retrieved 24 septiembre 2012, 2012, from <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7784>

Moore, N. D. (2009). In search of an ideal analgesic for common acute pain. *Acute Pain*, 11 (Issues 3-4), 129-137. doi:10.1016/j.acpain.2009.09.003

Piornedo Rdos, R., de Souza, P., Stefanello, M. E., Strapasson, R. L., Zampronio, A. R., & Kassuya, C. A. (2011). Anti-inflammatory activity of extracts and 11,13-dihydrozaluzanin C from *Gochnati* polymorphous sp. floccosa trunk bark in mice. *J Ethnopharmacol*, 133(3), 1077-1084. doi:10.1016/j.jep.2010.11.040. Epub 2010 Nov 25.

Richard Finkel, M. A. C., Luigi X. Cubeddu. (2009). *Farmacología* (4ed.). Barcelo España: Lippincott Williams & Wilkins. Santos-Cruz, L. F., Avila-Acevedo, J. G., Ortega-Capitaine, D., Ojeda-Duplancher, J. C., Perdigon-Moya, J. L., Hernandez-Portilla, L. B., .. Heres-Pulido, M. E. (2012). Verbascoside is not genotoxic in the ST and HB crosses of the *Drosophila* wingspot test, and its constituent, caffeic acid, decreases the spontaneous mutation rate in the ST cross. *Food Chem Toxicol*, 50(3-4), 1082-1090. doi:10.1016/j.fct.2011.12.006. Epub 2011 Dec 11.

Singh, N., Shukla, N., Singh, P., Sharma, R., Rajendran, S. M., Maurya, R., & Palit, G. (2010). Verbascoside isolated from *Tectona grandis* mediates gastric protection in rats via inhibiting proton pump activity. *Fitoterapia*, 81(7), 755-761. doi:10.1016/j.fitote.2010.03.019. Epub 2010 Apr 11.

Treede, R. D. (2006). Chapter 1 Pain and hyperalgesia: definitions and theories. *Handb Clin Neurol*, 81, 3-10. doi:10.1016/s0072-9752(06)80005-9.

Vodovotz, Y., Constantine, G., Rubin, J., Csete, M., Voit, E. O., & An, G. (2009). Mechanistic simulation of inflammation: current state and future prospects. *Math Biosci*, 217(1), 1-10. doi:10.1016/j.mbs.2008.07.013

Wang, H., Wu, T., Yan, M., Liu, G., Li, P., Zhang, X. Q., .. Zhang, L. Y. (2009). Sesquiterpenes from *Ainsliae afragrans* and their inhibitory activities against cyclooxygenases-1 and 2. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 57(6), 597-599.