

TOXICIDAD A 90 DÍAS DEL EXTRACTO ATOMIZADO DE RIZOMA DE *Curcuma longa* (A4R), FLORES DE *Cordia lutea* (A4F) Y HOJAS DE *Annona muricata* (A4L) EN MODELO MURINO

Jorge Luis Arroyo Acevedo^{1,2}, César Ivanovich Franco Quino^{3,4}, Yovani Martin Condorhuamán Figueroa⁴, José Gonzalo Cabanillas Coral⁶, Roberto Jesús Chávez Asmat^{1,5}, Andrea Anampa Guzman⁶

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo

Recibido: 16/09/2016
Aprobado: 30/12/2016

Autor corresponsal

César Ivanovich Franco Quino
cesar.franco1@unmsm.edu.pe
+511 996517008

Financiamiento

SABELL PERU SAC.

Conflictos de interés

El presente artículo no presenta conflictos de interés.

Citar como

Arroyo Acevedo JL, Franco Quino CI, Condorhuamán Figueroa YM, Cabanillas Coral JG, Chávez Asmat RJ, Anampa Guzman A. Toxicidad a 90 días del extracto atomizado de rizoma de *Curcuma longa* (A4R), Flores de *Cordia lutea* (A4F) y hojas de *Annona muricata* (A4L) en modelo murino. Revista Peruana de Medicina Integrativa. 2016;1(4):5-10.

RESUMEN

Objetivos. Determinar la seguridad de la asociación del extracto atomizado del rizoma de *Curcuma longa* (A4R), flores de *Cordia lutea* (A4F) y hojas de *Annona muricata* (A4L) a una dosis repetida durante 90 días por vía oral en ratas. **Material y métodos.** Diseño experimental, se utilizaron 108 ratas Holtzman (54 machos – 54 hembras) y se administró el extracto atomizado durante 90 días por vía oral, se realizaron las observaciones, registro de signos y evolución cada 30 días del peso corporal de los animales; al final, se extrajo muestra de sangre para estudio hematológico, hepático, lipídico y antioxidante, se aplicó a prueba ANOVA, considerando el valor $p < 0,05$ para la significancia. **Resultados.** La asociación de extracto atomizado (ALC) evidenció un incremento significativo del peso para el grupo ALC 200 mg/kg; en las ratas macho a partir de los 30 días ($p < 0,01$) y en ratas hembra a partir de los 60 días ($p < 0,01$) manteniendo dicho patrón a los 90 días. Todos los valores hematológicos y bioquímicos durante los 90 días se mantuvieron dentro de parámetros permitidos. Se observó un incremento en la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) desde los primeros 30 días y manteniendo el mismo hasta el final, independientemente del género ($p < 0,05$). **Conclusión.** Los hallazgos demuestran que el extracto atomizado del rizoma de *Curcuma longa* (A4R), flores de *Cordia lutea* (A4F) y hojas de *Annona muricata* (A4L) no produce toxicidad al ser administrado por un periodo de 90 días en ratas.

Palabras clave: Toxicidad crónica, *Curcuma longa*, *Cordia*, *Annona* (Fuente: DeCS)

ABSTRACT

Objective. To determine the safety of the association of atomised rhizome extract of *Curcuma longa* (A4R), *Cordia lutea* flowers (A4F) and leaves of *Annona muricata* (A4L) to repeated doses for 90 days orally in rats. **Material and methods.** Experimental design, 108 Holtzman rats (54 males - 54 females) were used. The atomized extract was administered for 90 days orally, observations, record signs and evolution every 30 days the body weight of the animals, the final sample of blood was drawn for hematology, liver, lipid and antioxidant study were performed, are ANOVA test applied, considering $p < 0.05$ value for significance. **Results.** The association of atomized extract (ALC) showed a significant increase in weight for the group ALC 200 mg / kg; in male rats after 30 days ($p < 0.01$) and in female rats after 60 days ($p < 0.01$) while maintaining the pattern at 90 days. All hematological and biochemical values during the 90 days were within permitted parameters. an increase was observed in the activity of superoxide dismutase (SOD) from the first 30 days and maintaining the same until the end, regardless of gender ($p < 0.05$). **Conclusion.** The findings show that the atomized extract from the rhizome of *Curcuma longa* (A4R), flowers of *Cordia lutea* (A4F) and leaves of *Annona muricata* (A4L) is non-toxic when administered orally for 90 days in rats.

Key words: Chronic toxicity, *Curcuma longa*, *Cordia*, *Annona* (Source: MeSH).

INTRODUCCIÓN

El uso de plantas para promover la curación es una práctica antigua y global, se hace referencia en los textos más antiguos y tradiciones orales⁽¹⁾; estos han demostrado diversos efectos: antiinflamatorios, antineoplásicos, protectores hepáticos, antioxidantes *in vivo*, antimicrobianos, sedantes, hipnóticos entre otros⁽²⁾

La *Curcuma longa*, conocida como palillo, pertenece a la familia Zingiberaceae, cultivada en Asia y África⁽³⁾; tradicionalmente, es utilizada como antiinflamatorio y antioxidante eficaz en la prevención del cáncer⁽⁴⁾ y ha demostrado actividad hepatoprotectora⁽⁵⁾. La *Cordia lutea*, conocida como flor de overo, pertenece a la familia Boraginaceae nativa de la isla Galápagos, se distribuye en

¹ Laboratorio de Farmacología Experimental, Facultad de Medicina Humana, UNMSM, Lima-Perú.

² Instituto de Investigaciones Clínicas, UNMSM, Lima-Perú.

³ Laboratorio de Farmacología y Fisiología, Facultad de Odontología, UNMSM, Lima-Perú.

⁴ Unidad de Posgrado, Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM, UNMSM, Lima-Perú

⁵ Asociación para el Desarrollo de la Investigación de Estudiantes en Ciencias de la Salud (ADIECS), Lima, Perú.

⁶ Sociedad Científica de San Fernando (SCSF), Lima, Perú

Ecuador y Perú ⁽⁶⁾, es utilizada para tratar enfermedades respiratorias, dermatológicas y gastrointestinales ⁽⁷⁾; posee efecto antiinflamatorio agudo ⁽⁸⁾, y actividad antitumoral ⁽⁹⁾. La *Annona muricata*, conocida como guanábana, pertenece a la familia Annonaceae, que incluye 130 géneros y 2300 especies, de los cuales 51 se encuentran en América ⁽¹⁰⁾; son utilizados como antioxidantes e hipoglicemiantes ⁽¹¹⁾, así como antiproliferativos en células prostáticas tumorales ⁽¹²⁾.

Las plantas en estudio presentan una gran variedad de metabolitos secundarios; el rizoma de *Curcuma longa* presenta principalmente aceites esenciales, cumarinas, fenoles, taninos, flavonoides, terpenos y alcaloides ⁽¹³⁾. Las flores de *Cordia lutea* tiene triterpenos y flavonoides ⁽⁷⁾, y las hojas de *Annona muricata* presentan, principalmente, flavonoides, taninos y glicosidos ⁽¹⁴⁾.

Desde el 2012, la asociación del extracto liofilizado del rizoma de *Curcuma longa*, flores de *Cordia lutea* y hojas de *Annona muricata* es comercializado en Canadá como nutraceutico, para la prevención y tratamiento de trastornos hepáticos ⁽¹⁵⁾.

El uso individual de estas plantas en el tratamiento de enfermedades crónicas por tiempo prolongado, podrían incrementar la incidencia de efectos tóxicos ⁽⁴⁾, en cuyos casos están asociados a la nefrotoxicidad y hepatotoxicidad ⁽¹⁶⁾. Debido a la presencia de metabolitos secundarios y la gran capacidad de ser antioxidantes *in vivo* se planteó asociar las tres plantas con la finalidad de reducir las concentraciones cuando se las utiliza individualmente; por tanto, la presente investigación tiene como objetivo, determinar la seguridad a través de un ensayo de toxicidad crónica a 90 días (OECD 408) de la asociación del extracto atomizado del rizoma de *Curcuma longa* (A4R), flores de *Cordia lutea* (A4F) y hojas de *Annona muricata* (A4L) a una dosis repetida durante 90 días por vía oral en ratas.

METODOLOGÍA

El rizoma de *Curcuma longa*, las flores de *Cordia lutea* y las hojas de *Annona muricata* fueron procesadas mediante atomización en una proporción de 80:10:10. De acuerdo a fórmula comercial (ISULA A4+), el contenido fue de 77,8 mg de *Cordia lutea*; 9,7 mg de *Annona muricata*, y 9,7 mg de *Curcuma longa* que fueron almacenadas en frascos ámbar bajo refrigeración (5 °C).

La evaluación de toxicidad repetitiva durante 90 días se realizó según la norma de la Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) Norma 408. Se utilizó 108 ratas cepa Holtzman (54 machos – 54 hembras) de aproximadamente 2 meses de edad, con peso corporal promedio en machos de 200 ± 21 gr, y de hembras 155 ± 22 g, obtenidas del Instituto Nacional de Salud (INS, Lima –

Perú) e instaladas, para su aclimatización durante 48 h, en el Bioterio de la Facultad de Medicina Humana – UNMSM, a una temperatura ambiente (22-26 °C), humedad de 60-70% con ciclos de luz/oscuridad de 12 h, se les suministró agua y alimentación *ad libitum*. Se agruparon aleatoriamente en tres grupos (18 machos y 18 hembras cada grupo). El grupo I recibió suero fisiológico 2 mL/kg (control); los grupos II y III recibieron la asociación atomizada a la dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg, respectivamente. Las sustancias fueron administradas una vez al día por vía oral durante 90 días. Cada 30 días se observó la evolución del peso corporal y los posibles signos de toxicidad; cada 30 días se realizó evaluaciones periódicas de peso corporal y posibles signos de toxicidad; asimismo, fueron sometidos a anestesia general (Halatal® 10 mg/kg) para la extracción de sangre por punción intracardiaca; se realizaron las pruebas bioquímicas (perfil hepático, perfil lipídico, urea, creatinina, glucosa) y hematológicas (número y fórmula de elementos formes), la determinación del marcador de estrés oxidativo se realizó en el suero sanguíneo mediante la prueba de la superóxido dismutasa (SOD) y la proteína C reactiva (PCR), luego, los animales fueron sacrificados por sobredosis de pentobarbital vía intraperitoneal (100 mg/kg Halatal®), el método de evaluación fue doble ciego.

Los datos se expresan en media y desviación estándar; las comparaciones múltiples fueron realizadas mediante el análisis de la varianza (ANOVA), se consideró significativo un $p < 0,05$ a un intervalo de confianza del 95%, los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS 20.

Para el cuidado y uso de animales de experimentación se consideró las disposiciones propuestas por el Institute or Laboratory Animal Research (2010); tópicos para el cuidado y uso de los animales de laboratorio, propuesto por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales (CICUA, ILAR), y en respeto a nuestra normativa vigente de la Ley de protección a los animales (Ley 27265).

RESULTADOS

Los resultados muestran características dentro del rango normal, no se evidencian signos clínicos de toxicidad crónica, mantienen reflejos protectores normales, sin presencia de trastornos gastrointestinales, el consumo de alimentos y bebida fue homogéneo en todos los grupos mostrando un patrón estable. En relación al peso corporal, se observa incremento en los grupos tratados con ALC en dosis dependiente, siendo significativo para el grupo que recibió ALC 200 mg/kg; las ratas macho incrementaron el peso corporal a partir de los 30 días ($p < 0,01$) en relación al grupo tratado con SSF y mostrando el mismo patrón a los 60 y 90 días ($p < 0,05$); del mismo modo, las ratas hembra evidenciaron incremento de peso corporal a partir de los 60 días ($p < 0,01$) manteniendo dicho patrón a los 90 días (Figura 1).

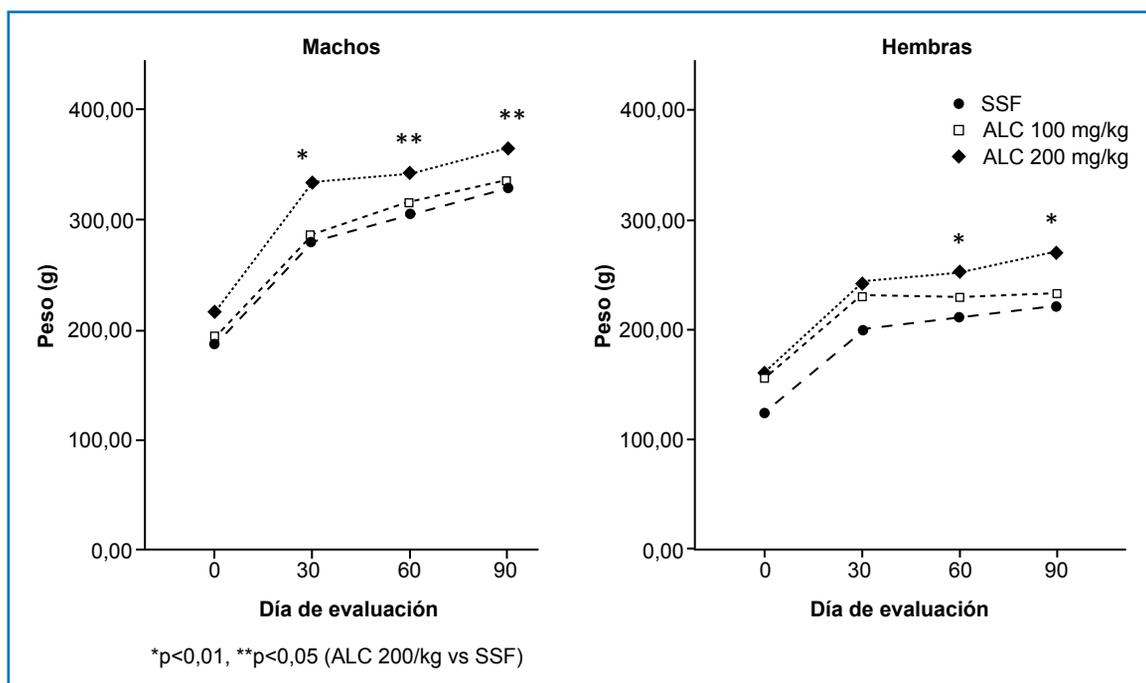


Figura 1. Variación del peso corporal posterior a la administración subcrónica de la asociación de *Curcuma longa* (A4R), *Cordia lutea* (A4F) y *Annona muricata* (A4L) por vía oral durante 90 días en ratas Holtzman

En el análisis hematológico a los 30 días, se evidencia incremento de leucocitos y reducción de creatinina en las ratas macho tratadas con ALC de 100 mg/kg y 200 mg/kg, respectivamente (p<0,01); del mismo modo, en las ratas hembra se evidencia incremento

de hemoglobina y hematocrito en el grupo tratado con ALC 200 mg/kg (p<0,05); asimismo, a los 60 días se observa incremento de urea en los grupos tratados con ALC 200 mg/kg en ratas de ambos géneros (p<0,05), (Tabla 1).

Tabla 1. Perfil hematológico de los animales sometidos a administración subcrónica de la asociación de *Curcuma longa* (A4R), *Cordia lutea* (A4F) y *Annona muricata* (A4L) por vía oral durante 90 días en ratas Holtzman

Parámetro	Días de evaluación	Machos			Hembras		
		SSF	ALC 100 mg/kg	ALC 200 mg/kg	SSF	ALC 100 mg/kg	ALC 200 mg/kg
Hb (g/dL)	30	11,9 ± 0,4	11,1 ± 1,7	12,7 ± 1,7	10,1 ± 1,4	9,3 ± 1,1	11,8 ± 0,5 ^a
	60	11,0 ± 1,4	12,2 ± 1,3	11,4 ± 0,9	10,5 ± 1,6	11,9 ± 0,4	10,8 ± 0,6
	90	11,2 ± 0,8	11,9 ± 1,0	11,6 ± 0,8	11,6 ± 0,5	12,2 ± 1,3	11,8 ± 0,7
Hcto. (%)	30	36,3 ± 1,8	34,0 ± 5,3	40,3 ± 5,0	31,0 ± 4,4	31,6 ± 3,7	37,3 ± 1,8 ^b
	60	33,6 ± 4,5	38,8 ± 4,1	33,8 ± 3,1	32,8 ± 4,7	35,5 ± 3,0	32,3 ± 3,0
	90	35,3 ± 8,2	35,8 ± 3,2	37,3 ± 1,3	35,6 ± 3,2	37,5 ± 4,9	35,1 ± 3,3
Leucocitos (Cel./mm ³)	30	4 533,3 ± 694,7	6200,0 ± 1504,6 ^a	4533,3 ± 694,7	6 566,6 ± 1524,0	5300,0 ± 1949,3	7266,6 ± 956,3
	60	6 308,5 ± 1975,1	6346,6 ± 827,6	7085,0 ± 1662,6	6 966,6 ± 1671,7	6906,6 ± 1845,9	7323,3 ± 1982,5
	90	5 200,0 ± 1063,9	6266,6 ± 1630,5	6818,3 ± 1103,4	5 783,3 ± 1954,9	5299,8 ± 1523,1	5833,1 ± 2081,1
Glucosa (mg/dL)	30	84,6 ± 7,6	84,6 ± 6,2	82,0 ± 14,0	82,3 ± 14,5	97,6 ± 10,2	84,6 ± 6,2
	60	87,8 ± 12,0	93,6 ± 10,8	92,1 ± 4,7	85,1 ± 10,8	96,0 ± 9,0	80,5 ± 8,5
	90	91,6 ± 10,4	86,8 ± 13,2	86,8 ± 13,2	84,1 ± 11,1	86,66 ± 13,1	86,1 ± 19,5
Urea (mg/dL)	30	21,6 ± 6,5	16,0 ± 5,4	21,3 ± 3,6	19,0 ± 4,9	20,3 ± 5,8	19,0 ± 4,9
	60	15,0 ± 2,2	19,3 ± 6,1	22,8 ± 5,2 ^b	17,3 ± 4,4	22,6 ± 8,1	29,1 ± 7,8 ^b
	90	18,0 ± 7,2	18,0 ± 4,6	18,0 ± 4,6	18,6 ± 7,7	24,3 ± 2,9	20,5 ± 5,9
Creatinina (mg/dL)	30	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,7 ± 0,1
	60	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1
	90	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2

ALC: A4R+A4F+A4L. Valores expresados en promedio ± DS. ANOVA; ^a Vs SSF p < 0,05. ^b Vs SSF p < 0,01

El perfil hepático, a los 30 días, indica incremento de triglicéridos y reducción de HDL en los grupos tratados con ALC 200 mg/kg ($p < 0,05$) así como los niveles de fosfatasa alcalina y albúmina para los grupos tratados con ALC 100 mg/kg. A los 60 días se evidencia reducción de triglicéridos y fosfatasa alcalina en el grupo de ratas hembra tratadas con ALC 100 mg/kg ($p < 0,05$) e incremento de albúmina en el grupo de ratas macho tratadas con ALC 100 mg/kg ($p < 0,05$); a los 90 días se evidencia reducción de las transaminasas en ambos sexos, así como fosfatasa alcalina en las ratas hembra, ambos tratados con ALC 100 mg/kg; del mismo modo, en las ratas macho se evidencia incremento de

albumina y proteínas totales en el grupo que recibió ALC 200 mg/kg ($p < 0,05$) (Tabla 2). Todos los valores hematológicos y bioquímicos modificados durante los 90 días que duró el tratamiento están dentro de los parámetros permitidos, por lo que no se evidencia toxicidad durante la administración de la asociación atomizada (ALC).

Al evaluar el perfil antioxidante, se evidencia efecto dosis dependiente (Tabla 3); mostrando incremento en la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) desde la primera evaluación a los 30 días y manteniendo el efecto antioxidante *in vivo* independientemente del sexo ($p < 0,05$).

Tabla 2. Perfil hepático y lipídico de los animales sometidos a administración subcrónica de la asociación de *Curcuma longa* (A4R), *Cordia lutea* (A4F) y *Annona muricata* (A4L) por vía oral durante 90 días en ratas Holtzman

Parámetro	Días de evaluación	Machos			Hembras		
		SFF	ALC 100 mg/kg	ALC 200 mg/kg	SFF	ALC 100 mg/kg	ALC 200 mg/kg
Colesterol (mg/dL)	30	162,6 ± 36,6	166,6 ± 27,0	189,3 ± 75,7	139,0 ± 28,7	166,6 ± 39,4	168,3 ± 21,6
	60	166,0 ± 30,8	168,3 ± 26,0	167,1 ± 26,7	184,0 ± 26,6	165,8 ± 35,6	167,0 ± 34,9
	90	177,5 ± 35,1	145,6 ± 18,2	188,6 ± 29,8	149,0 ± 43,3	152,8 ± 25,5	150,1 ± 39,9
HDL (mg/dL)	30	57,6 ± 13,7	46,0 ± 4,0	39,6 ± 2,2 ^a	54,6 ± 8,3	45,6 ± 7,4	45,0 ± 4,9 ^a
	60	45,1 ± 6,7	43,6 ± 5,3	49,5 ± 7,4	48,0 ± 5,6	59,3 ± 11,1	38,0 ± 13,5
	90	41,1 ± 5,7	48,1 ± 8,4	49,2 ± 11,3	38,8 ± 7,7	43,3 ± 12,3	36,5 ± 4,9
Triglicéridos (mg/dL)	30	98,6 ± 15,2	146,6 ± 15,6 ^b	140,1 ± 9,7 ^b	122,6 ± 10,9	132,3 ± 27,7	151,1 ± 8,2 ^b
	60	136,3 ± 11,2	163,1 ± 41,8	135,3 ± 55,7	151,0 ± 24,9	92,6 ± 16,7 ^b	136,5 ± 26,3
	90	158,1 ± 48,2	129,6 ± 36,2	127,5 ± 9,0	150,3 ± 25,9	141,5 ± 21,7	137,5 ± 22,3
TGO (UI/L)	30	10,0 ± 3,2	18,0 ± 6,2 ^a	17,6 ± 4,5 ^b	10,3 ± 2,5	18,6 ± 1,8 ^b	14,5 ± 4,4
	60	15,6 ± 7,5	28,6 ± 14,6	24,8 ± 9,9	16,3 ± 14,2	9,3 ± 2,5	14,2 ± 6,3
	90	29,0 ± 9,0	15,3 ± 6,6 ^a	26,5 ± 10,8	29,5 ± 8,7	12,3 ± 3,0 ^b	29,3 ± 7,4
FA (UI/L)	30	105,0 ± 14,1	113,6 ± 29,1	129,3 ± 18,9 ^a	122,0 ± 10,8	101,1 ± 44,3	134,6 ± 8,0 ^a
	60	139,3 ± 35,1	133,8 ± 30,7	146,3 ± 51,3	155,5 ± 31,7	113,0 ± 22,9 ^a	147,3 ± 31,4
	90	144,1 ± 18,9	110,3 ± 17,2 ^b	140,6 ± 14,8	143,0 ± 13,8	125,3 ± 40,6	146,8 ± 16,4
Proteínas totales (g/dL)	30	6,0 ± 0,3	5,9 ± 0,1	5,9 ± 0,4	5,8 ± 0,4	6,1 ± 0,2	6,2 ± 0,2 ^a
	60	5,7 ± 0,4	6,1 ± 0,5	6,2 ± 0,2 ^a	6,1 ± 0,2	6,0 ± 0,8	5,7 ± 0,6
	90	5,5 ± 0,6	6,2 ± 0,5	6,2 ± 0,2 ^a	6,0 ± 0,6	5,9 ± 0,8	5,7 ± 0,7
Albumina (g/dL)	30	3,6 ± 0,3	4,1 ± 0,1 ^b	3,9 ± 0,1	3,7 ± 0,3	3,9 ± 0,7	4,2 ± 0,4
	60	3,6 ± 0,3	4,1 ± 0,3 ^a	4,1 ± 0,2 ^a	4,0 ± 0,5	3,6 ± 0,9	3,4 ± 0,7
	90	3,6 ± 0,3	4,1 ± 0,3 ^a	4,1 ± 0,2 ^a	4,0 ± 0,5	3,6 ± 0,9	3,4 ± 0,7
BT (mg/dL)	30	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1
	60	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,1
	90	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,2
BI (mg/dL)	30	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,3	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,2
	60	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2
	90	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2

ALC: A4R+A4F+A4L. Valores expresados en promedio ± DS. ANOVA; ^a Vs SFF $p < 0,05$. ^b Vs SFF $p < 0,01$

Tabla 3. Perfil antioxidante de los animales sometidos a administración subcrónica de la asociación de *Curcuma longa* (A4R), *Cordia lutea* (A4F) y *Annona muricata* (A4L) por vía oral durante 90 días en ratas Holtzman

Parámetro	Días de evaluación	Machos			Hembras		
		SFF	ALC 100 mg/kg	ALC 200 mg/kg	SFF	ALC 100 mg/kg	ALC 200 mg/kg
PCR	30	0,7 ± 0,2	0,8 ± 0,1	0,4 ± 0,1 ^a	0,7 ± 0,0	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,2
	60	0,6 ± 0,1	0,9 ± 0,1 ^b	0,8 ± 0,1 ^b	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1
	90	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1
SOD	30	375,0 ± 97,2	1553,0 ± 449,0 ^b	2873,0 ± 618,3 ^b	295,3 ± 32,3	1362,0 ± 104,6 ^b	2756,0 ± 299,5 ^b
	60	300,8 ± 130,9	1454,0 ± 287,0 ^b	2209,6 ± 356,3 ^b	321,6 ± 19,1	1128,0 ± 162,3 ^b	2798,0 ± 336,4 ^b
	90	498,6 ± 119,2	1163,8 ± 255,7 ^b	2555,5 ± 657,6 ^b	503,1 ± 126,8	1473,3 ± 242,5 ^b	2015,6 ± 604,5 ^b

ALC: A4R+A4F+A4L. Valores expresados en promedio ± DS. ANOVA; ^a Vs SSF p < 0,05. ^b Vs SSF p < 0,01

DISCUSIÓN

La medicina alternativa ha sido utilizada desde tiempos milenarios para el tratamiento, prevención y cura de enfermedades; sin embargo, se desconoce la toxicidad de algunas preparaciones pudiendo causar daño ⁽¹⁷⁾; el uso crónico a dosis bajas o terapéuticas incrementa el riesgo de generar toxicidad ⁽¹⁸⁾; muchos fármacos utilizados para el tratamiento de las neoplasias generan efectos tóxicos irreversibles ⁽¹⁹⁾; asimismo, la asociación tiene como finalidad reducir las concentraciones por el uso individual de cada planta medicinal y también, generar sinergismo al incrementar los efectos terapéuticos y reducir la toxicidad e incidencia de efectos adversos ⁽²⁾.

La literatura científica muestra que en los estudios de toxicidad crónica se han evidenciado cambios en la conducta como salivación, horas de sueño, letargo; cambios en la apariencia física, presencia de lesiones que ocasionen dolor o algún otro signo de enfermedad en los animales de experimentación evaluados ⁽²⁰⁾, estas características clínicas en ratas no se manifestaron durante los 90 días de tratamiento con la asociación del extracto atomizado de rizoma de *Curcuma longa*, flores de *Cordia lutea* y hojas de *Annona muricata*.

Se han realizado estudios de toxicidad del extracto atomizado de rizoma de *Curcuma longa* (A4R), flores de *Cordia lutea* (A4F) y hojas de *Annona muricata* (A4L) administrados por vía oral durante 28 días ⁽³⁾, encontrando resultados similares a los observados en el presente estudio durante la primera evaluación (30 días); asimismo, se evidencia incremento del peso corporal a lo largo de los 60 días restantes, demostrando la seguridad en la administración del extracto.

La pérdida de peso en animales de experimentación está asociada a la disminución en la ingesta de alimentos, estos cambios se pueden atribuir a la toxicidad de los productos evaluados ⁽²⁰⁾; en el presente estudio se observa incremento del peso corporal de los animales, en caso de las ratas macho a partir de los 30 días, lo que pudo favorecer el incremento de los triglicéridos, así

como la reducción del HDL; sin embargo, estudios previos de *C. longa* determinaron efectos antihiperlipidémicos atribuidos a la curcumina ⁽¹⁸⁾, presumimos que la asociación de ALC reduce ligeramente la actividad de la *C. longa*, pero dentro de los valores normales (Tabla 2).

La valoración de la toxicidad hepática se puede evidenciar por la reducción en la producción de la síntesis proteica, así como los niveles de transaminasas ⁽²⁰⁾; en el presente estudio se observa que los niveles de transaminasas y albúmina se encuentran dentro de los niveles normales.

Se debe comentar que, el hígado es el principal órgano afectado ante la presencia aguda o crónica de sustancias extrañas en el organismo, que se exponen directamente luego de la absorción por vía oral mediante el fenómeno de primer paso hepático o luego por el metabolismo ⁽²¹⁾; las plantas en estudio contienen diversos metabolitos, útiles para el tratamiento de condiciones patológicas ^(5,9,14,22), los flavonoides presentes en el extracto acuoso ⁽¹³⁾, son reportados como hepatoprotectores ⁽¹⁷⁾; estudios en animales han demostrado efecto hepatoprotector de la *C. Longa*, atribuidos a la curcumina ⁽²³⁻²⁴⁾, sugieren que puede ser usados en la prevención como potencial antioxidante de varias alteraciones hepáticas generadas por estrés oxidativo y reduciendo la peroxidación lipídica⁽⁵⁾; además, posiblemente en los niveles de dosis utilizados los componentes químicos aportados por las tres plantas medicinales habrían mantenido un equilibrio importante, de manera tal que no se indujo daños al hígado.

CONCLUSIONES

Se concluye que la administración del extracto atomizado del rizoma de *Curcuma longa* (A4R), flores de *Cordia lutea* (A4F) y hojas de *Annona muricata* (A4L) no es tóxico al ser administrado por un periodo de 90 días en ratas.

AGRADECIMIENTOS

A Sabell Perú SAC, por facilitar los bienes y otros necesarios para ejecutar la investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Conway. The therapeutic relationship in phytotherapy. The Consultation in Phytotherapy. 2011;39-77. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-443-07492-9.00007-2>
- Efferth T. Perspectives for Globalized Natural Medicines. Chinese Journal of Natural Medicines. 2011;9(1):1-6. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364\(11\)60010-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364(11)60010-1)
- Arroyo J, Franco C, Chávez R, Anampa A, Rojas J, Cabanillas J. Estudio de toxicidad a 28 días, del extracto atomizado de rizoma de *Curcuma Longa* (A4R), flores de *Cordia Lutea* (A4F) y hojas de *Annona Muricata* (A4L) en un modelo murino. Rev Per Med Int. 2016; 1(1): 31-37.
- Cunha C, Marcelino P, Dos Santos E, De Ávila R, Simone C, Martins F, et al. Use of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) and *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) to treat intestinal mucositis in mice: toxico-pharmacological evaluations, Toxicology Reports 2016 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.10.013>.
- Wang, H, Su G, Chen G, Bai J, Pei Y. H NMR-based metabonomics of the protective effect of *Curcuma longa* and curcumin on cinnabar-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. Journal of Functional Foods. 2015;17:459-467. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.014>
- McMulle C. Pollination of the heterostylus Galápagos native, *Cordia lutea* (Boraginaceae).. Plant Systematics and Evolution. 2012;298(3):569-579. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00606-011-0567-3>
- Hernández T, Canales M, Terán B, Ávila O, Duran A, Garcia A et al. Antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Cordia curassavica* (Boraginaceae). Journal of Ethnopharmacology. 2007;111(1):137-141. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.002>
- Passos G, Fernandes E, Da Cunha F, Ferreira J, Pianowsky L, Campos M, et al. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenácea*. Journal of Ethnopharmacology. 2007;110:323-333. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.032>
- Parisotto E, Michielin E, Biscaro F, Ferreira S, Wilhelm D, Pedrosa R. The antitumor activity of extracts from *Cordia verbenácea* D.C. obtained by supercritical fluid extraction. The Journal of Supercritical Fluids. 2012;61:101-107. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2011.08.016>
- Beneval E, De Brito F, Rakelly D, De Araujo G, Alves F, De Souza C, Dos Santos V, Sobreira F, Santiago I, et al. Antiulcerogenic activity of the hydroalcoholic extract of leaves of *Annona muricata* Linnaeus in mice. Saudi Journal of Biological Sciences. 2016. IN PRESS. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.01.024>
- Tsofack N, Zibi M, Jonas K, Alexandra T, Djomeni D, Pierre K, Theophile D. Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona muricata* (Annonaceae), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology. 2014;151(2):784-790. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.09.021>
- Sun S, Liu J, Zhou N, Zhu W, Dou P, Zhou K. Isolation of Three New Annonaceous Acetogenins from Graviola Fruit (*Annona muricata*) and their Anti-Proliferation on Human Prostate Cancer Cell PC-3. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2015. IN PRESS. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurf.2013.08.032>
- Freire, R, Vistel M Phytochemical characterization of *Curcuma longa* L. Rev. Cubana Quím. 2015;27(1):9-18. DOI: <http://ojs.uo.edu.cu/index.php/cq>
- Arroyo J, Martine J, Ronceros G, Palomino R, Villareal A, Bonilla P, et al. Efecto hipoglicémico coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana), en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclamida. An Fac med. 2009;70(3):163-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v70i3.934>
- Cabanillas J. Composition for treating hepatitis containing an extract of *Cordia lutea* flowers, *Annona muricata* leaves, and *Curcuma longa* roots. [Internet]. [Internet]. Canada: SABELL CORP; CA2701190 (A1), 2008. Available from: <http://europepmc.org/patents/PAT/CA2701190>
- Saiful L, Ong Y, Zaaba N, Mohd R, Biau J, Sim Y. Anti-breast cancer properties and toxicity of *Dillenia suffruticosa* root aqueous extract in BALB/c mice. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2015;5(12):1018-1026 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.09.008>
- Da Silva A, Reginato F, Guex C, Figueredo K, Da C. Araldi I, De Freitas R, Boligon A, et al. Acute and sub-chronic (28 days) oral toxicity evaluation of tincture *Baccharis trimera* (Less) Backer in male and female rodent animals. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2016;74:170-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.10.024>
- Han Jong-Min, Lee Jin-Seok, Kin Hyeong-Geug, Seol In-Chan, Im Hwi-Jin, Cho Jung-Hyoo, et al. Synergistic effects of *Artemisia iwayomogi* and *Curcuma longa* radix on high-fat diet-induced hyperlipidemia in a mouse model. Journal of Ethnopharmacology. 2015;173:217-224. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.07.021>
- Afranie j, Lakka G. The toxicity of Anti-VEGF agents when coupled with standard chemotherapeutics. Cancer Letters. 2015;357(1):1-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2014.10.028>
- Zhang Y, Guan E, Wang B, Yin L, Zhannng L, Huang J, Fu X. A subchronic toxicity study of ethanol root extract of baked *Aconitum flavum* in rats. Brazilian Journal of Pharmacognosy. 2016 IN PRESS. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.03.004>
- Kandhare A, Bodhankar S, moha V, Tukardesai P. Acute and repeated doses (28 days) oral toxicity study of glycosides based standardized fenugreek seed extract in laboratory mice. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2015;72(2):323-334. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.05.003>
- Coria A, Moltalvo E, Yahia E, Obledo E. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. Arabian Journal of Chemistry. 2016. In Press. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.01.004>
- Kim Y, You Y, Yoon H, Lee Y, Kim K, Lee J, Kim M, Kim J, Jun W. Hepatoprotective effects of fermented *Curcuma longa* L. on carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. Food Chemistry. 2014;151:148-153. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.058>
- Sengupta M, Dutta G, Chakraborty B. Hepatoprotective and immunomodulatory properties of aqueous extract of *Curcuma longa* in carbon tetra chloride intoxicated Swiss albino mice. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2011: 193-199. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60026-9](http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60026-9).