

**Toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Croton wagneri* Müll.
Arg. (moshquera) y su efecto irritante sobre la mucosa bucal**

Acute toxicity of hydroalcoholic extract from *Croton wagneri* Müll.
Arg. (moshquera) and its irritating effect on the oral mucosa

Ernesto Cornelio Terán Portelles^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-7468-9918>

Armando Cuéllar Cuéllar¹ <https://orcid.org/0000-0001-8118-2800>

Eva Salas Olivet¹ <https://orcid.org/0000-0002-5651-193X>

Gilberto Lázaro Pardo Andreu² <http://orcid.org/0000-0001-7040-7031>

¹Universidad de La Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos, La Habana Cuba.

²Centro de Estudios para la Investigación y Evaluaciones Biológicas del Instituto de Farmacia y Alimentos. La Habana Cuba.

*Autor para la correspondencia: ecotepox@gmail.com

RESUMEN

Introducción: *Croton wagneri* Müll. Arg. es una planta endémica del Ecuador, que dentro de la cosmovisión andina ha sido utilizada por los ancestros como planta medicinal.

Objetivo: Evaluar la toxicidad aguda por vía oral del extracto hidroalcohólico de *C. wagneri* y su efecto irritante sobre la mucosa bucal.

Método: Se evaluó la toxicidad aguda por vía oral del extracto hidroalcohólico de *C. wagneri* en 24 ratas hembras albinas Wistar procedentes de Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) de acuerdo con las normas de la Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OECD/OCDE 423). Los animales se dividieron en 4 grupos para recibir los extractos de las hojas, los tallos, las inflorescencias y de la planta completa en dosis de 5, 50, 300 y 2 000 mg/kg por vía oral, respectivamente. Después de 14 días de observación se sacrificaron los animales para su evaluación histopatológica. También se evaluó la acción irritante sobre la mucosa bucal en 30 hámster sirios dorados. A los siete días se sacrificaron los animales para su evaluación. Se utilizó el programa estadístico GraphPad Prism 5 para las evaluaciones biológicas.

Resultados: Los extractos de las distintas partes de la planta no manifiestan ningún signo clínico de lesión en los pulmones, los riñones, el corazón, el bazo o el estómago, ni con la administración por vía oral de la dosis máxima probada de 2 000 mg/kg, tampoco irritación de la mucosa.

Conclusiones: No se observaron cambios en el comportamiento de las ratas albinas Wistar ni en el de los hámsteres sirios dorados, por lo que se concluye que no hubo cambios en los signos clínicos de los animales en estudio.

Palabras clave: *Croton wagneri* Müll. Arg.; evaluación toxicológica.

ABSTRACT

Introduction: *Croton wagneri* Müll. Arg. is a plant species endemic to Ecuador used for medicinal purposes in ancestral Andean tradition.

Objective: Evaluate the acute toxicity of orally administered *C. wagneri* hydroalcoholic extract and its irritating effect on the oral mucosa.

Method: Acute toxicity of orally administered *C. wagneri* hydroalcoholic extract was evaluated in 24 female albino Wistar rats obtained from the Center for Laboratory Animal Breeding (CENPALAB) in compliance with standards issued by the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD/OCDE 423). The animals were divided into four groups to receive oral administration of extracts from leaves, stems, inflorescences and the whole plant at doses of 5, 50, 300 and 2 000 mg/kg, respectively. After 14 days'

observation, the animals were sacrificed for histopathological examination. Irritating action on the oral mucosa was evaluated in 30 Syrian golden hamsters. Seven days later the animals were sacrificed for evaluation. The statistical software GraphPad Prism 5 was used for biological evaluation.

Results: Extracts from the different parts of the plant were not found to cause any clinical sign of injury to the lungs, kidneys, heart, spleen or stomach, not even when administered orally at the maximum test dose of 2 000 mg/kg, nor did they have an irritating effect on the mucosa.

Conclusions: Changes were not observed in the behavior of albino Wistar rats or Syrian golden hamsters. It is thus concluded that no changes occurred in the clinical signs of the animals studied.

Key words: *Croton wagneri* Müll. Arg., toxicological evaluation

Recibido: 11/06/2018

Aprobado: 27/01/2019

INTRODUCCIÓN

En la cosmovisión andina, la utilización de una variedad de plantas con propiedades medicinales que alivian ciertas dolencias forman parte de la medicina ancestral; especialmente en Ecuador, una de ellas es *Croton wagneri* Müll. Arg., que se conoce con el nombre común de moshquera. Es una planta endémica del país que crece silvestre en los terrenos no intervenidos por el ser humano. Por su fácil adaptabilidad al medio progresa en distintos tipos de suelo: arenoso, franco arenoso, pedregoso, arcilloso y se distribuye desde

la provincia del Carchi al norte del Ecuador hasta la provincia de Loja al sur. Mediante coordenadas de georreferencia se determinó que se encuentra a una altitud entre los 1 000 y los 3 012 msnm que corresponde a un clima cálido seco, templado y frío. La mayor cantidad de ejemplares se localizan entre los 1 300 y 2 380 msnm. Desde tiempos remotos, el látex de los tallos se emplea para eliminar verrugas y tratar heridas, llagas y úlceras cancerosas, aliviar el dolor y desinflamar.⁽¹⁾ Se reporta que las especies del género *Croton* se caracterizan por un sinnúmero de usos en la medicina tradicional y popular.⁽²⁾ Sus principales amenazas antropogénicas son el fuego, la introducción de especies invasivas, el pastoreo, la preparación de terrenos para la siembra o la construcción de viviendas; razones por las cuales está catalogada en el Libro Rojo de Plantas Endémicas del Ecuador en el 2004 como una especie vegetal casi amenazada⁽³⁾ según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN).

El ser humano desde tiempos remotos ha buscado incansablemente estabilizar y alargar la vida útil de los alimentos y con esa finalidad la industria alimentaria en todo el mundo utiliza aditivos químicos que la Organización Mundial para la Salud investiga día a día para evaluar los efectos perjudiciales que estas sustancias causan a la salud. En la actualidad, es imprescindible realizar investigaciones con plantas para obtener un conservante natural que actúe de manera similar a dichos aditivos químicos y pueda reemplazarlos sin olvidar que el 80 % de la población mundial acude a la medicina natural, en especial la herbolaria. La demanda de estos productos aumenta cada vez más debido al auge de la medicina alternativa en Latinoamérica⁽⁴⁾ por ese motivo, se evalúa en esta investigación si los extractos de esta planta pueden utilizarse como conservantes de origen natural en el procesamiento de frutas y hortalizas. Dentro de este contexto, constantes presiones exigen a las industrias que busquen alternativas naturales para la conservación de productos alimenticios que permitan la sustitución de aditivos químicos utilizados hasta hoy día.⁽⁵⁾

Por todo lo anteriormente expresado, el objetivo de esta investigación es evaluar la toxicidad aguda por vía oral del extracto hidroalcohólico de *C. wagneri* y su efecto irritante sobre la mucosa bucal. De esta planta endémica del Ecuador existen escasos informes en la literatura científica.

MÉTODOS

Material vegetal

Las muestras frescas de la especie *C. wagneri* perteneciente a la familia Euphorbiaceae y al género *Croton* (ver taxonomía de la especie en la [tabla 1](#)) se recolectaron en el mes de mayo en la provincia de Imbabura, ciudad de Ibarra, parroquia de San Antonio de Ibarra a 2 380 m de altura, Ecuador.

Tabla 1 – Taxonomía de la especie *C. wagneri*

Clasificación científica de la moshquera	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Euphorbiales
Familia	Euphorbiaceae
Género	<i>Croton</i>
Nombre binomial	<i>Croton wagneri</i> Müll. Arg.

Fuente: Aguirre Zhofre 2012⁽⁶⁾

Se aprovechó la planta completa y se separaron sus hojas, tallos e inflorescencias. La [figura 1](#) muestra el aspecto de la planta.



Fuente: Terán E. (*Croton wagneri* Müll. Arg). San Antonio de Ibarra 2016

Fig. 1 - *Croton wagneri* Müll. Arg.

Una muestra herborizada de *Croton wagneri* Müll. Arg. se depositó en el herbario de la Pontificia Universidad Católica de Quito con el número QCA 165692.

Obtención del extracto hidroalcohólico de *C. wagneri*

Se tomaron 580 g del material vegetal fresco de cada uno de los órganos de la planta y se trituraron hasta un tamaño de partícula entre 0,8 y 2 mm, se sometieron separadamente a un proceso de maceración en un balón de fondo plano durante 2 meses a temperatura ambiente de 20 °C utilizando 3 000 g de alcohol etílico al 50 % con agua en la relación 1:10 (m/v) para cada uno de los órganos. Posteriormente, se filtró y se concentró en un evaporador rotatorio a 14 min⁻¹ y a 50 °C hasta obtener 250 g de extracto final.

Evaluación de la toxicidad aguda bucal

Esta prueba se realizó en la especie roedora ratas blancas hembras albinas Wistar provenientes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) con su correspondiente certificado de calidad, con un peso promedio entre (180-210 g). Los animales se mantuvieron en cuarentena y aclimatación según lo establecido. El acceso al agua y la comida fue “*ad libitum*”. Las condiciones de cuarentena y aclimatación fueron los procedimientos establecidos: temperatura: 20 ± 3 °C. Humedad Relativa: 30-70 %, ciclo de Luz/oscuridad: 12/12 horas. Luego se procede a pesar e identificar cada animal para llevar el control individual de los mismos, se suministró en forma bucal el extracto hidroalcohólico de *C. wagneri* a dosis de (5, 50, 300, 2000 mg/Kg), de acuerdo al peso de cada animal, se les suministra agua y alimento después de dos horas, al cabo de siete días y catorce días se les pesa nuevamente y se observa si no hay mortalidad de los animales. Luego se procedió a sacrificar a los animales empleando una sobredosis de barbitúrico, evitando que los animales sufran y cumpliendo con el principio de las 3 ERRES, establecido por la toxicología alternativa, y poder observar macroscópicamente signos clínicos en pulmones, riñón, hígado, corazón, bazo y estómago.⁽⁷⁾

Determinación del potencial irritante de la mucosa bucal

Esta prueba se realizó en la especie roedora hámster sirio dorado con un peso inicial no menor de 50 g. procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) con su correspondiente certificado de calidad.

Los animales se mantuvieron en cuarentena y aclimatación según lo establecido por las normas. El acceso al agua y la comida fue “*ad libitum*”. Las condiciones de cuarentena y aclimatación fueron los procedimientos establecidos: temperatura de 20 ± 3 °C; humedad relativa 30 - 70 %, ciclo de luz/ oscuridad 12×12 horas. En un pellet de gasa se colocó 0,5 mL de la sustancia objeto de estudio, el extracto hidroalcohólico de *C. wagneri* Müll. Arg, y se introdujo en uno de los abazones de la boca de los hámsteres. Para lograr que este pellet no fuera expelido por los movimientos de la boca del animal, se amarró un collar de 3 a 4 cm de largo alrededor del cuello que permitiera la respiración y alimentación de los animales, pero que impidiera la salida del pellet durante el tiempo establecido para la prueba que se recomienda que nunca sea menor de 5 minutos. Atendiendo al tipo de producto que se analizó, se colocó el collar durante 30 minutos y se realizaron 5 aplicaciones en un lapso de 4 horas. Cada vez que fue extraído el pellet se lavaron los abazones con solución de cloruro de sodio al 0,9 % y los sitios expuestos fueron evaluados utilizando el sistema de graduación para reacciones bucales.⁽⁷⁾ La prueba tuvo una duración de 7 días, al cabo de los cuales los animales fueron sacrificados siguiendo los procedimientos de la Toxicología Alternativa. Para esta prueba se crearon dos grupos de 3 animales cada uno, que se diferenciaron de acuerdo con el tratamiento que recibieron.⁽⁸⁾

El estudio se efectuó conforme a las reglamentaciones y principios éticos existentes para la investigación en animales.

Análisis estadístico

El peso de los animales se expresó en media \pm desviación estándar y los datos se procesaron mediante el programa estadístico GraphPad Prism 5. Las diferencias estadísticas entre los grupos se determinaron mediante Análisis de Varianza (ANOVA) con una significación de $p < 0,05$.

RESULTADOS

En cuatro grupos de ratas con peso aproximado de 180 g y 210 g, al inicio de la prueba, se evidenció que los animales ganaron peso durante los 14 días de ensayo; los animales del grupo I aumentaron un promedio de 22,67 g entre el día 1 y el día 7, y 11,33 g entre el día 7 y el día 14, mientras que los animales del grupo II aumentaron un promedio de 26,37 g entre el día 1 y el día 7 y 16 g entre el día 7 y el día 14, el grupo control entre el día 1 y día 7 aumentaron 25,1 g, y 11,4 g del día 7 al día 14, lo que demostró que la administración por vía oral de los extractos de las distintas partes de la planta en dosis mayores que 2000 mg/kg. (Fig. 2) no provoca toxicidad sistémica.

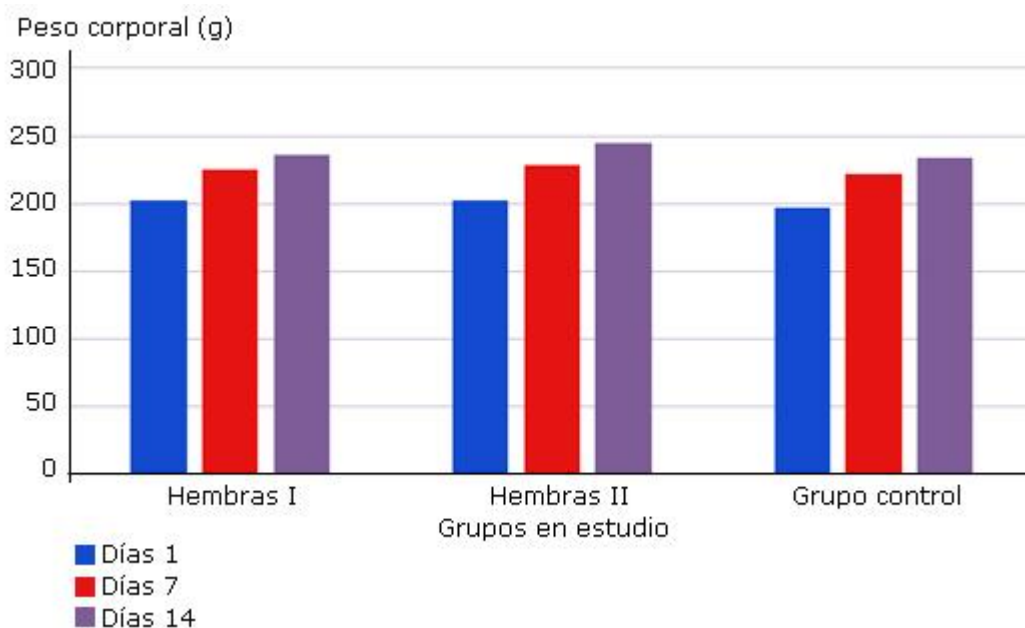


Fig. 2 - Incremento de peso de los animales en estudio de los grupos I y II.

Los animales del grupo III aumentaron un promedio de 9,33 g entre el día 1 y el día 7, y 3 g entre el día 7 y el día 14, mientras que los animales del grupo IV aumentaron un promedio de 30,67 g entre el día 1 y el día 7, y 4 g entre el día 7 y el día 14, el grupo control aumentó 24,6 g del día 1 al día 7, y 9,9 g del día 7 al día 14, lo que demostró que la administración

por vía oral de los extractos de las distintas partes de la planta en dosis mayores que 2000 mg/kg (Fig. 3) no provoca toxicidad sistémica.

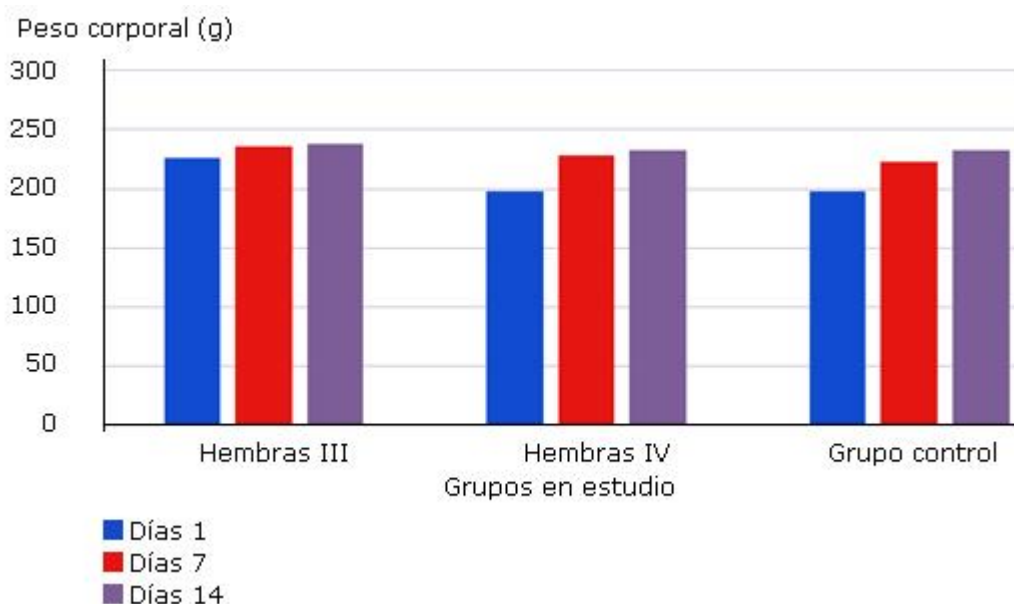


Fig. 3 - Incremento de peso de los animales en estudio de los grupos III, IV.

La no aparición de alteraciones de los signos clínicos de los animales estudiados es un factor importante a tener en cuenta. La planta en estudio no es tóxica y puede ser utilizada en el procesamiento de alimentos, ya que no se observan cambios en la salud de los animales.

Los resultados de la determinación de la acción irritante de la mucosa bucal (Tabla 2), evidencia que después de los dos días de prueba no se afectaron los abazones, tampoco hubo signos clínicos de deterioro de la salud de los animales y se concluye que los animales son tolerantes a los extractos de las distintas partes de la planta.

En las seis observaciones realizadas a los dos grupos de hámster, el grupo control sin tratamiento y el grupo con tratamiento de extracto de moshquera, se puede apreciar que no hubo signos de eritema ni de edema en los abazones de los animales, todos obtuvieron una puntuación de cero.

En los hámsteres estudiados no hubo cambio en los signos clínicos observados, el comportamiento de los animales fue normal (tabla 2).

Tabla 2 - Alteración de la mucosa bucal

Potencial irritante de la mucosa bucal						
Signos clínicos	Días					
	0	1	2	3	4	24
Ojos	-	-	-	-	-	-
Mucosas	-	-	-	-	-	-
Sistema respiratorio	-	-	-	-	-	-
Sistema circulatorio	-	-	-	-	-	-
Sistema autónomo	-	-	-	-	-	-
Sistema Nervioso Central	-	-	-	-	-	-
Muda de pelo	-	-	-	-	-	-
Temblores	-	-	-	-	-	-
Convulsiones	-	-	-	-	-	-
Salivación	-	-	-	-	-	-
Piel	-	-	-	-	-	-
Sedación	-	-	-	-	-	-
Somnolencia	-	-	-	-	-	-
Muerte	-	-	-	-	-	-

(+) presencia, (-) ausencia de lesión

DISCUSIÓN

El estudio toxicológico reveló que el extracto de las hojas (EH), el extracto de los tallos (ET), el extracto de las inflorescencias (EI) y el extracto de la planta completa (EPC) de *C. wagneri* no provocan ningún signo clínico de lesión en los pulmones, en los riñones, el corazón, el bazo o el estómago, aun con la administración por vía oral de la dosis máxima probada (2 000 mg/kg) en la observación directa por lo que se decidió no tomar muestras de los órganos para el estudio histopatológico de los animales. Los hámsteres no presentaron

afectaciones en los abazones ni signos clínicos, lo cual demuestra que el extracto de *C. wagneri* no causa ningún efecto de irritación. En datos reportados con el *C. lecheri* se ha demostrado que no existen cambios en los signos clínicos ni en el comportamiento de los animales estudiados.⁽⁹⁾

No obstante, el extracto acuoso de *C. pungens* presentó muy poca toxicidad aguda en la investigación realizada, pero cuando se administró en forma subcrónica ocasionó alteraciones en los tejidos hepáticos, cardíacos y pancreáticos.⁽¹⁰⁾

Se puede concluir que el extracto de las distintas partes de la planta (hojas EH, inflorescencias EI, tallos ET y planta completa EPC) no causan irritación en la mucosa bucal ni son tóxicos en la dosis máxima administrada (2 000 mg/kg). Por lo tanto, la planta *C. wagneri* pudiera ser utilizada en la industria alimentaria.

Estos resultados evidencian que el conocimiento de la cosmovisión andina ecuatoriana en cuanto a la utilización de esta planta en infusiones para depurar el hígado y los riñones y en cocimiento (hojas) para aliviar los dolores y desinflamar golpes, así como el látex para aliviar el dolor de muela, permiten afirmar que *C. wagneri* puede utilizarse sin riesgos de toxicidad.

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración del Centro de Estudios para la Investigación y Evaluaciones Biológicas del Instituto de Farmacia y Alimentos, al tecnólogo Roberto Medina López y a la Licenciada Maité Casanova Orta de la Universidad de La Habana, donde se realizaron los análisis toxicológicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Motto P. Arbustos. En: Aguirre Zhofre. Especies Forestales de los Bosques Secos del Ecuador. Ecuador: Ministerio del Ambiente Ecuador; 2012. p. 70-106.

2. Coy C, Gómez D, Castiblanco F. Importancia medicinal del género *Croton* (euphorbiaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2016;21(2):234-47.
3. León S, Valencia R, Pitman N, Endara L, Ulloa C. Libro rojo de las plantas endémicas del Ecuador. Vol 1. 2th ed. Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2011.
4. Fretes F. Plantas medicinales y aromáticas una alternativa de producción comercial. Paraguay: Agencia del Gobierno de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID); 2010.
5. Tassou C, Drosinos, E, Nychas G. Inhibition of resident microbial flora and Pathogen inocula on cold Fresh fish fillets in olive oil, oregano, and lemon juice under modified atmosphere on air. *Journal of Food Protection*. 1995;59(1):31-4.
6. Aguirre Zhofre. Especies Forestales de los Bosques Secos del Ecuador. Ecuador: Ministerio del Ambiente Ecuador; 2012. p. 70-106.
7. AOAC. Official Methods of Analysis, 18th ed., Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD; 2006.
8. ISO 10993. Parte 10 Biological evaluation of medical devices; 2009.
9. Verde soto D, Jaramillo C, Rubio O, Zaldúa J, García G, Rojas L. composición química, actividad cicatrizante y toxicidad del látex de *Croton lechleri*. *FVC-LUZ*. 2016;26(2):95-103.
10. Torrico F. Evaluación de la toxicidad aguda, actividad analgésica e hipoglicemiante del extracto acuoso de *Croton pungens* en animales experimentales. *Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences*. 2013;21(4):181-91.

Conflicto de intereses

Los autores expresan que no existe conflicto de intereses de ningún tipo y el trabajo es original.

Contribución de los autores

Ing. *Ernesto Cornelio Teràn Portelles*: Desarrollo de la fase experimental y redacción del artículo científico.

Ms.C. *Eva Salas Olivet*: Herborización de la planta para su identificación y revisión del artículo científico.

Dr.C. *Armando Cuèllar*: Interpretación de los resultados y revisión del artículo científico.

Dr.C. *Gilberto Pardo*: Facilitador del laboratorio CEIEB del IFAL para realizar la investigación.