

Toxicidad aguda oral y ensayos de irritación de extractos acuoso e hidroalcohólico de *Momordica charantia* L.

Acute oral toxicity and irritation tests in aqueous hydroalcoholic extracts from *Momordica charantia* L.

Alicia Lagarto^I, Micaela Couret^{II}, Isbel Guerra^{III}, Raisell López^{IV}

^I Máster en Toxicología Experimental. Investigadora Auxiliar. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ciudad de La Habana, Cuba.

^{II} Técnico en Procesos Biológicos. CIDEM. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{III} Técnico en Química Industrial. CIDEM. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{IV} Técnico en Veterinaria. CIDEM. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

Fundamentación: los extractos de *Momordica charantia* L. poseen potencial terapéutico avalado científicamente que posibilita el empleo de esta planta en diversas enfermedades, sobre todo en la diabetes, por lo que caracterizar su potencial tóxico es de gran importancia para avalar el empleo de esta planta como agente terapéutico.

Objetivos: realizar los estudios de toxicidad aguda oral e irritación ocular y dérmica a extractos acuoso e hidroalcohólico de *M. charantia*, con la finalidad de caracterizar su potencial toxicológico agudo.

Métodos: el ensayo de toxicidad aguda oral se llevó a cabo en ratas Wistar hembras mediante el método de las *clases tóxicas agudas*, con la dosis máxima de 2 000 mg/kg. Los ensayos de irritación dérmica y ocular se llevaron a cabo en conejos Nueva Zelanda siguiendo los métodos descritos en las normas OECD 404 y 405.

Resultados: la evaluación del extracto hidroalcohólico de *M. charantia* en el ensayo de toxicidad aguda mostró signos tóxicos por causa de la presencia de etanol en el extracto y una ligera disminución del peso corporal que no fue significativa. La administración del extracto acuoso no provocó signos tóxicos ni mortalidad. Ambos extractos se clasificaron en categoría 5 para ubicarse en el rango de toxicidad de una $DL_{50} > 2\ 000$ mg/kg. En el ensayo de irritación dérmica y ocular se clasificaron los extractos como no irritantes.

Conclusiones: los extractos evaluados mostraron un bajo potencial tóxico agudo tanto por vía oral como tópica.

Palabras clave: *Momordica charantia*, toxicidad aguda, irritación dérmica, irritación ocular, plantas medicinales.

ABSTRACT

Rationale: *Momordica charantia* L. extracts have scientifically-endorsed therapeutical potentialities that make the use of this plant possible in several diseases, mainly for diabetes, so characterizing its toxic potential is of great significance to support this plant as a therapeutical agent.

Objectives: to conduct acute oral toxicity and ocular and dermal irritation studies on aqueous hydroalcoholic extracts from *M. charantia*, with the aim of characterizing its acute toxicological potential.

Methods: Acute oral toxicity test was applied to female Wistar rats through acute toxic class method, with maximum dose of 2000 mg/kg. Ocular/dermal irritation tests were made in New Zealand rabbits, following the described methods in OECD standards 404 and 405.

Results: the evaluation of *M. charantia* hydroalcoholic extract in the acute toxicity test showed toxic signs due to ethanol in the extract and a minimum bodyweight reduction that was not significant. The administration of water extract elicited neither toxic signs nor mortality. Both extracts were classified into category 5 within the range of toxicity of $DL_{50} > 2\ 000$ mg/kg. The dermal/ocular irritation test indicated that the studied extracts were not irritating.

Conclusions: The evaluated extracts showed low acute toxic potential for both oral and topical administration.

Key words: *Momordica charantia*, acute toxicity, dermal irritation, ocular irritation, medicinal plants.

INTRODUCCIÓN

Momordica charantia L., conocida como cundeamor, es un bejuco anual trepador perteneciente a la familia Cucurbitaceae. La planta es muy común en las cercas de patios, fincas y potreros de toda Cuba.¹

En el ámbito mundial se le reconocen a esta planta diversos usos etnomédicos como son: antidiabética,^{2,3} abortifaciente, emenagoga,¹ antihelmíntica, antimicótica, antirreumática, afrodisiaca, antihipertensiva, colerética, antipirética, antiflatulenta, en úlceras malignas⁴ y según *Lewis & Lewis*⁵ se utiliza para el resfriado.

Varios autores han estudiado el efecto hipoglucémico de la pulpa del fruto, semillas y planta entera, de los cuales se reporta actividad para disminuir los niveles de glucosa.^{6,7}

El extracto metanólico provoca disminución de niveles de glucosa, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad, así como un incremento de lipoproteínas de alta densidad,⁸ por lo que puede ser efectivo para el tratamiento de la hiperlipedemia además de hipoglicemiante.^{9,10}

Por otro lado, el extracto etanólico demuestra actividad antibacteriana sobre *Candida albicans*, *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Además, actividad antitumoral en Sarcoma 180 y Leucemia L-12010, efecto antimitótico, antiespermatogénico, antiviral contra el virus de estomatitis vesicular, inhibición de la glucosa-oxidasa, actividad antilipolítica, inhibición de los radicales libres, actividad antiinflamatoria, actividad antihelmíntica y androgénico.¹¹⁻¹⁴

Los extractos de *M. charantia* poseen potencial terapéutico avalado científicamente que posibilitan el empleo de esta planta en diversas enfermedades, en especial la diabetes, por lo que caracterizar su potencial tóxico es de gran importancia para avalar su empleo como agente terapéutico. El presente trabajo tiene como objetivo la caracterización toxicológica aguda de extractos de *M. charantia* que se pretende emplear para la obtención de productos terminados por vía oral y tópica, mediante los ensayos de toxicidad aguda oral, irritación dérmica y ocular.

MÉTODOS

Se emplearon los extractos siguientes:

1. Extracto acuoso de *Momordica charantia* L., lote 02/2007. Caracterización: olor característico, color verde olivo, pH= 6,90; densidad relativa 1,007, sólidos totales 4 % y cumple el conteo microbiológico.

2. Extracto fluido de *Momordica charantia* L., lote 05001. Fecha de fabricación: 11/05. Caracterización: olor característico, color pardo; pH= 7,16; densidad relativa 1,001; sólidos totales 5,99 %; contenido alcohólico 22,49 % y cumple el conteo microbiológico.

Ambos fueron elaborados en la Estación Experimental de Plantas Medicinales «Dr. Juan Tomás Roig» del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM).

Animales

Para el ensayo de toxicidad aguda oral se emplearon ratas Wistar hembras, con peso corporal entre 150 y 200 g, procedentes de la UCTB Control Biológico (CIDEM). En los ensayos de irritación dérmica y ocular se emplearon conejos albinos Nueva Zelanda machos, con peso corporal entre 1,8 y 2,0 kg, procedentes del Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB).

Los animales se mantuvieron en una sala con temperatura controlada de 22 ± 2 °C y ciclo luz oscuridad de 12/12 h. La alimentación consistió en dieta estándar para ratas y ratones y para conejos, según corresponde, proveniente del CENPALAB y agua acidulada a voluntad. Todos los ensayos fueron realizados de acuerdo con las *buenas prácticas de laboratorio*.

Ensayo de toxicidad aguda oral

El ensayo fue conducido según el método de las *clases tóxicas agudas* descrito en la normativa N° 423 de la OECD (OECD Guideline For Testing of Chemical «Acute Oral Toxicity Acute Toxic Class Method» N° 423 Adoptada, 20 de diciembre, 2001). Se confeccionaron 2 grupos de 3 animales cada uno, por cada extracto, a los cuales se le administró por vía oral la sustancia de prueba a la dosis de 2 000 mg/kg de peso corporal, sobre la base de los sólidos totales.

La administración de los extractos se llevó a cabo, previa ayuna de 16 h, de acuerdo con la preparación siguiente: 1, la administración del extracto acuoso se realizó mediante 2 tomas del extracto sin dilución a la dosis de 25 mL/kg separadas por un intervalo de 4 h y 2, la administración del extracto hidroalcohólico se realizó mediante 2 tomas del extracto sin dilución a la dosis de 17 mL/kg separadas por un intervalo de 4 h.

Los animales fueron observados constantemente durante 24 h y después una vez al día durante 14 d; se registró la aparición y duración de cualquier síntoma tóxico, el peso corporal se anotó al inicio del estudio y semanalmente. Al concluir el período experimental se sacrificaron los animales por sobredosis de pentobarbital sódico, se realizó la autopsia y un examen macroscópico de órganos y tejidos (corazón, riñón, pulmón, hígado, bazo, estómago). Los resultados del peso corporal fueron procesados estadísticamente mediante un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA), con un nivel de significación de $p < 0,05$.

Ensayo de irritación dérmica

El ensayo fue conducido según el método descrito en la normativa N° 404 de la OECD (OECD Acute dermal Irritation/corrosion. Guideline for testing chemical. N° 404 Adoptada 2002) El día antes del ensayo los animales fueron depilados y rasurados, se seleccionaron 6 conejos con la piel intacta (3 sitios por producto) a los que se les aplicó 0,5 mL de la sustancia sobre la piel durante 4 h mediante un parche de gasa. Las reacciones de edema y eritema fueron evaluadas en el sitio de aplicación a las 0,5; 1; 24; 48 y 72 h después de la remoción del parche. Las reacciones sobre la piel para eritema y edema fueron graduadas con valores entre 0 y 4, estas evaluaciones se emplearon para calcular el índice de irritación primario (IIP). Los extractos fueron clasificados de acuerdo con el IIP en no irritante 0 - 0,4; irritante ligero 0,5 - 1,9; irritante moderado 2,0 - 4,9 e irritante severo 5,0 - 8,0 (ISO 10993 Biological Evaluation of Medical Devices. Part. 10. Test for irritation and sensitisation. 2000: 8-13).

Ensayo de irritación ocular

El ensayo fue conducido según el método descrito en la normativa N° 405 de la OECD (OECD Guideline for testing of chemical. Acute eye irritation/corrosion. N° 405. Adoptada 2002). Para el estudio se tomaron 3 conejos por producto que fueron sometidos, en las 24 h previas al ensayo, a un examen riguroso de sus estructuras oculares (córnea, iris y conjuntiva) para descartar la presencia de algún daño.

El día del ensayo fueron instilados 0,1 mL de la sustancia en el ojo derecho de 3 animales. El ojo izquierdo fue tomado como control. Ambos ojos fueron examinados aproximadamente a las 1, 24, 48 y 72 h de la aplicación inicial con el fin de detectar daños de las estructuras oculares antes mencionadas. Las observaciones se realizaron con luz blanca para detectar presencia de eritema, edema y secreciones anormales además de la reacción del iris a la luz, seguido del examen de la córnea por la tinción con fluoresceína y la observación con lámpara UV. Las reacciones oculares observadas fueron evaluadas de acuerdo con la escala para

evaluar lesiones oculares, se determinó el índice de irritación ocular (IIO). Los extractos fueron clasificados de acuerdo con el IIO en no irritante $0 \leq x < 10$, irritante ligero $10 \leq x < 20$, irritante moderado $20 \leq x < 30$ e irritante severo $30 \leq x \leq 110$.¹⁵

RESULTADOS

Ensayo de toxicidad aguda oral

No se observó muerte de los animales durante el estudio para ambas sustancias ensayadas. La administración oral del extracto acuoso no provocó la aparición de ningún síntoma tóxico. La administración del extracto hidroalcohólico provocó disminución de la actividad motora, incoordinación motora, disminución de los reflejos y respiración entrecortada, 1 h después apareció además postración. Estos síntomas desaparecieron 4 h después de haber administrado el extracto.

El comportamiento del peso corporal se observa en la [figura](#) para cada grupo experimental. La ganancia de peso en el grupo tratado con el extracto hidroalcohólico fue de $30 \pm 4,7$ g y en el grupo tratado con el extracto acuoso fue de $61,3 \pm 4,9$ g, que resultó significativamente menor ($p < 0,01$) en los animales tratados con el extracto hidroalcohólico según la prueba t de *Student* realizada. En la autopsia efectuada no se observaron alteraciones macroscópicas de órganos y tejidos para ninguno de los grupos experimentales.

Ensayo de irritación dérmica

En las observaciones realizadas no se obtuvieron alteraciones de ningún tipo sobre la piel de los animales tratados con los 2 extractos de *M. charantia*. El IIP fue de 0, ambos extractos clasificaron como no irritantes.

Ensayo de irritación ocular

Extracto acuoso de M. charantia

En las observaciones realizadas después de la aplicación de la sustancia de prueba no se apreciaron alteraciones al nivel de iris y conjuntiva, pero sí daños en la córnea. Las alteraciones al nivel de córnea aparecieron en un animal 1 h posterior a la administración y se observaron en 2 animales a las 24 h. A las 48 y 72 h un solo animal mantuvo alteraciones de la córnea de grado 1 que implicaban menos de $\frac{1}{4}$ del área de la córnea involucrada. A los 7 d posteriores a la administración del producto ningún animal presentó alteraciones de la córnea. El IIO fue de 6,25 y el extracto acuoso clasificó como no irritante.

Extracto hidroalcohólico de M. charantia

En las observaciones realizadas después de la aplicación de la sustancia de prueba se apreciaron alteraciones en córnea y conjuntiva 1 h después de la aplicación en todos los animales, que resultó de grado 1 para eritema y daño corneal, las cuales se mantuvieron hasta las 24 h. No se observaban alteraciones en conjuntiva a las 48 h, pero sí en la córnea de un animal, la cual se mantuvo hasta las 72 h. A los 7 d posteriores a la aplicación del extracto habían desaparecido las lesiones en córnea. El IIO fue de 7,25; el extracto hidroalcohólico clasificó como no irritante.

DISCUSIÓN

Estudios anteriores reportan el extracto acuoso del fruto de *M. charantia* como una sustancia segura que puede emplearse como hipoglucemiante, que no mostró efectos nefrotóxicos ni hepatotóxicos.¹⁶ Varios estudios clínicos han demostrado la relativa baja toxicidad de la ingestión oral de extractos de todas las partes de la planta.¹⁴ Sin embargo, se ha observado toxicidad e incluso muerte en animales de laboratorio cuando se inyecta por vía intravenosa.¹⁷ Otros estudios han reportado que el fruto y las hojas administrados de forma oral durante la preñez resultan seguros.¹⁷ Por otra parte, las semillas inducen el aborto en roedores y las raíces se reportan como un estimulante uterino. En animales hembras el fruto y las hojas disminuyen la fertilidad y en machos afectan negativamente la producción de esperma.¹⁸⁻²⁰

En el presente trabajo se evaluaron en ensayos de primera barrera los posibles efectos tóxicos que podía provocar la administración oral y dérmica de los extractos acuoso e hidroalcohólico obtenidos a partir de *M. charantia*. El ensayo de toxicidad aguda por vía oral en ratas mostró que el extracto acuoso posee un bajo potencial tóxico dado por la ausencia de mortalidad, signos tóxicos y alteraciones macroscópicas en órganos y tejidos a la dosis de 2 000 mg/kg.

La administración oral del extracto hidroalcohólico de *M. charantia* provocó la aparición de síntomas tóxicos propios de la presencia del etanol en el extracto, el cual se encuentra en 22,49 %. Se conoce que el etanol administrado por vía oral en ratas provoca signos tóxicos similares a los observados en el presente estudio. Por otra parte, la ganancia de peso corporal fue inferior a la mostrada por el grupo tratado con el extracto acuoso, incluso hubo una ligera disminución del peso corporal a los 7 d posteriores a la administración, para luego incrementarse el peso significativamente a los 14 d de iniciado el estudio. Este comportamiento del peso corporal es indicativo de una ligera toxicidad mostrada por la administración del extracto hidroalcohólico.

Como resultado ambos extractos obtenidos a partir de *M. charantia* se clasificaron en categoría 5 según el Sistema Global Armonizado (GSH) de la OECD, ubicándose en el rango de toxicidad de $DL_{50} > 2\ 000$ mg/kg. Los ensayos de irritación clasificaron ambos extractos como no irritantes en ojo y piel de conejo; las alteraciones observadas en las estructuras oculares fueron muy ligeras y reversibles. Esos resultados permiten avalar el empleo de estos extractos para obtener formas terminadas de aplicación tópica.

Como conclusión se puede afirmar que el extracto hidroalcohólico obtenido a partir de *M. charantia* provocó signos tóxicos y disminución del peso corporal en la primera semana del ensayo tras la administración aguda de 2 000 mg/kg por vía oral. Ambos extractos, acuoso e hidroalcohólico, se clasificaron en categoría 5 ($DL_{50} > 2\ 000$ mg/kg) de la OECD según el ensayo de toxicidad aguda oral y resultaron no irritantes en ojo y piel de conejo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roig JT. Plantas Medicinales, Aromáticas o Venenosas de Cuba. La Habana: Ed. Científico Técnica. Instituto Cubano del Libro; 1974. p. 318-20.

2. Márquez AH, Motta N, González-Mujica F. Efectos de extractos vegetales sobre la absorción intestinal de glucosa y su captación por vesículas de membrana apical de enterocitos. *Rev Fac Med.* 2002;25(1):1-6.
3. Welihinda J, Karunanayake EH, Sheriff MH, Jayasinghe KS. Effect of *Momordica charantia* on the glucose tolerance in maturity onset diabetes. *J Ethnopharmacol.* 1986;17:277-82.
4. Núñez E. Plantas medicinales de Costa Rica y su folclore. San José: Universidad de Costa Rica; 1975. p. 279.
5. Lewis WH, Lewis MPFE. *Medical Botany: Plants affecting Man's Health.* New York: John Wiley & Sons; 1977. p. 97, 218, 316.
6. Miura T, Itoh Y, Iwamoto N, Kato M, Ishida T. Suppressive activity of the fruit of *Momordica charantia* with exercise on blood glucose in type 2 diabetic mice. *Biol Pharm Bull.* 2004;27(2):248-50.
7. Raza H, Ahmed I, John A. Tissue specific expression and immunohistochemical localization of glutathione S-transferase in streptozotocin induced diabetic rats: modulation by *Momordica charantia* (karela) extract. *Life Sci.* 2004;74(12):1503-11.
8. Chaturvedi P, George S, Milinganyo M, Tripathi YB. Effect of *Momordica charantia* on lipid profile and oral glucose tolerance in diabetic rats. *Phytother Res.* 2004;18(11):954-6.
9. Tongia A, Tongia SK, Dave M. Phytochemical determination and extraction of *Momordica charantia* fruit and its hypoglycemic potentiation of oral hypoglycemic drugs in diabetes mellitus (NIDDM). *Indian J Physiol Pharmacol.* 2004;48(2):241-4.
10. Ahmed I, Adeghate E, Cummings E, Sharma AK, Singh J. Beneficial effects and mechanism of action of *Momordica charantia* juice in the treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rat. *Mol Cell Biochem.* 2004;261(1-2):63-70.
11. Limtrakul P, Khantamat O, Pintha K. Inhibition of P-glycoprotein activity and reversal of cancer multidrug resistance by *Momordica charantia* extract. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2004;54(6):525-30.
12. Grover JK, Yadav SP. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *J Ethnopharmacol.* 2004;93(1):123-32.
13. Ou L, Kong LY, Zhang XM, Niwa M. Oxidation of ferulic acid by *Momordica charantia* peroxidase and related anti-inflammation activity changes. *Biol Pharm Bull.* 2003;26(11):1511-6.
14. Basch E, Gabardi S, Ulbricht C. Bitter melon (*Momordica charantia*): a review of efficacy and safety. *Am J Health Syst Pharm.* 2003;60(4):356-9.
15. García G, Palacios M, Gazapo R, Pérez L. Elaboración de una metodología para la evaluación de la irritabilidad oftálmica y validación con diferentes métodos. *Rev Cubana Farm.* 1988;22:5.

16. Viridi J, Sivakami S, Shahani S, Suthar AC, Banavalikar MM, Biyani MK. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. J Ethnopharmacol. 2003;88(1):107-11.
17. Tropical Plant Database. Bitter Melon (*Momordica charantia*). 2006. Disponible en: <http://www.rain-tree.com/plants>
18. Girini MM, Ahamed RN, Aladakatti RH. Effect of graded doses of *Momordica charantia* seed extract on rat sperm: scanning electron microscope study. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2005;16(1):53-66.
19. Dixit VP, Khanna P, Bhargava SK. Effects of *Momordica charantia* fruit extract on the testicular function of dog. Planta Med. 1978;34:280-6.
20. Prakash AO, Mathur R. Screening of Indian plants for antifertility activity. Indian J Exp Biol. 1976;14:623-6.

Recibido: 25 de mayo de 2008.
Aprobado: 2 de agosto de 2008.

Dra. *Alicia Lagarto*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos.
Laboratorio de Control Biológico. Calle 17 No. 6208 e/ 62 y 64, municipio Playa,
Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf.: 2095451. Fax: (537) 833 5556. Correos
electrónicos: alicialp@infomed.sld.cu; alicialagarto@yahoo.com

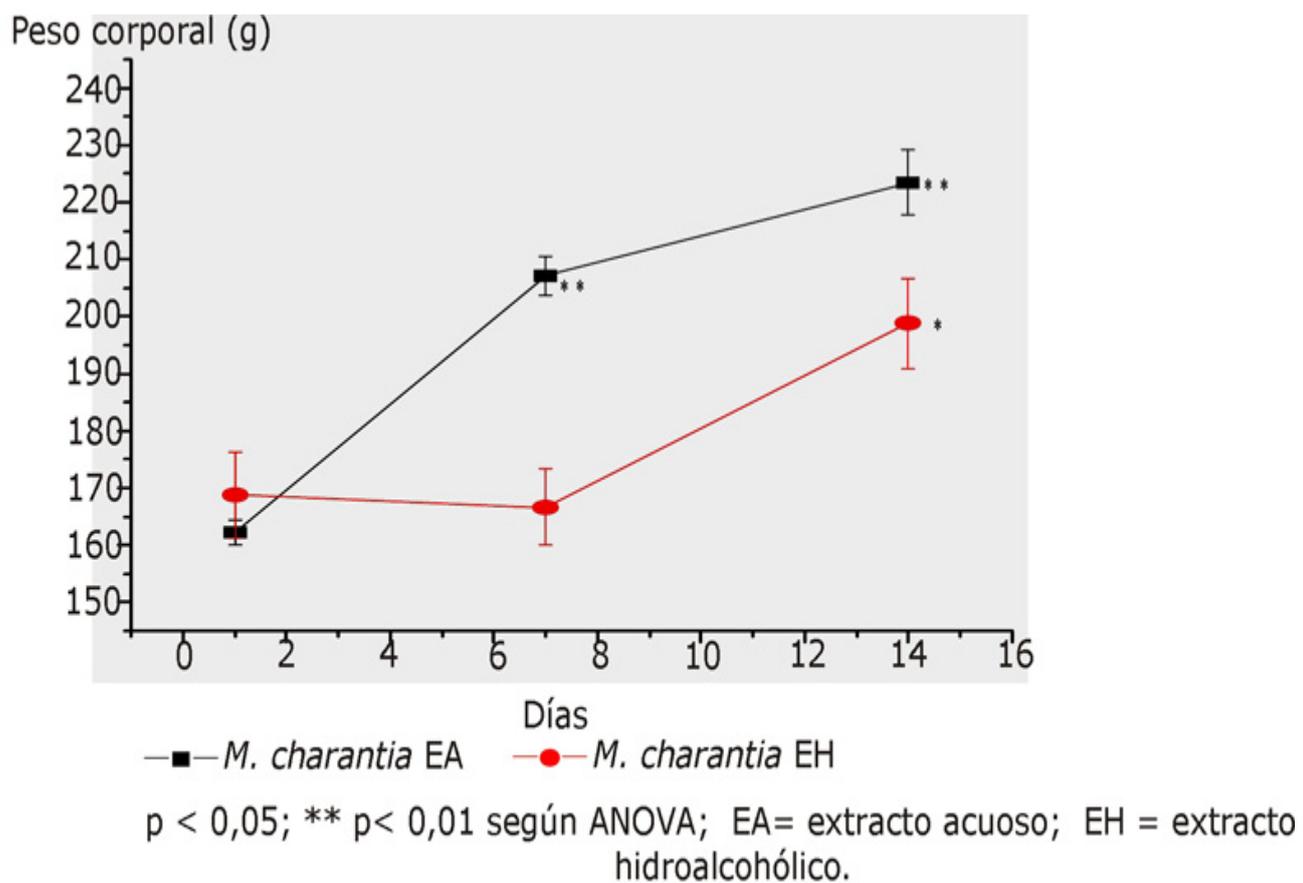


Fig. Comportamiento del peso corporal durante el estudio. Diferencia significativa respecto al inicio de este.