

## Toxicidad aguda oral de *Azadirachta indica* (árbol del Nim)

### Acute oral toxicity of *Azadirachta indica* (Neem Tree)

MSc. Clara Azalea Berenguer Rivas, MSc. Alfredo Alfonso Castillo, Téc. Hilario Salas Martínez, MSc. Edgar Puente Zapata, MSc. Juan Betancourt Hernández, Lic. Yoandra Mora Tassé

Centro de Toxicología y Biomedicina. Santiago de Cuba, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** el árbol de Nim, cuyo nombre científico es *Azadirachta indica*, es una planta medicinal empleada por sus propiedades antisépticas, antivirales, antipiréticas, antimicrobianas, antiinflamatorias, entre otras. No se reportan estudios de toxicidad aguda oral, solo aparecen reportados de toxicidad a largo plazo.

**Objetivos:** evaluar la toxicidad aguda oral por el método de las clases de la decocción de hojas y tallos de la planta *Azadirachta indica*, por vía oral en ratas *Sprague Dawley*.

**Métodos:** se realizó un ensayo de toxicidad aguda oral por el método de las clases. La administración se hizo por vía oral, a una dosis única de 2 000 mg/kg de peso corporal de una decocción de la planta *Azadirachta indica*. Se efectuaron los estudios correspondientes de anatomía patológica, que evidenciaran toxicidad de la sustancia ensayada.

**Resultados:** la sustancia en estudio no produjo signos clínicos que demostraran toxicidad, ni alteraciones en el peso corporal en el biomodelo animal empleado, ni muerte de ningún animal; macroscópicamente no se comprobaron alteraciones de valor diagnóstico.

**Conclusiones:** el estudio demostró que la sustancia evaluada por vía oral, a dosis única, se enmarca como *sin clasificar*, en el modelo animal y nivel de dosis utilizado bajo las condiciones experimentales empleadas.

**Palabras clave:** plantas medicinales, toxicidad aguda, prueba de toxicidad, *Azadirachta indica*.

## ABSTRACT

**Introduction:** Neem tree, whose scientific name is *Azadirachta indica*, is a medicinal plant used by its antiseptic, antiviral, antipyretic, antimicrobial, and anti-inflammatory properties, among others. No acute toxicity studies are reported on this plant, just long-term toxicity studies.

**Objectives:** to evaluate the acute oral toxicity by the class method using decoction of *Azadirachta indica* leaves and stems orally administered to Sprague Dawley rats.

**Methods:** an acute oral toxicity test based on the class method was conducted. The *Azadirachta indica* plant decoction was administered in one dose of 2 000 mg/kg of body weight. Pathological anatomy studies were performed to analyze the toxicity in the tested substance.

**Results:** the evaluated substance did not show any clinical signs of toxicity or animal deaths; no alterations in the body weight of the experimental models were found. There were no alterations of diagnostic value according to the macroscopic analysis.

**Conclusions:** the tested decoction, orally administered at one dose, is regarded as unclassified for the animal model and the dosage used under the observed experimental conditions.

**Key words:** medicinal plants, acute toxicity, toxicity test, *Azadirachta indica*.

---

## INTRODUCCIÓN

Es conocida la introducción en el mercado de un gran número de nuevos productos naturales y aunque muchos de estos compuestos han contribuido a mejorar la calidad de vida, otros están relacionados con determinados riesgos por su toxicidad. Por esta razón, se recomienda que la aplicación de las plantas medicinales tradicionales se efectúe sobre una base científica que valide la efectividad terapéutica y la relativa inocuidad de estas. La legislación actual exige que, previamente al registro y comercialización, se evalúe la seguridad de todo tipo de producto, por lo que resulta imprescindible utilizar ensayos de toxicidad predictivos, con el fin de anular o minimizar el uso de compuestos en los que la relación riesgo/beneficio los declare indeseables para la sociedad. Entre estos ensayos se encuentran los estudios de toxicidad aguda por el método de las clases: CTA, el cual es un método alternativo al ensayo clásico y permite la estimación y evaluación de las características tóxicas de una sustancia por vía oral.<sup>1</sup>

El árbol de Nim, también conocido como lila india y margosa, cuyo nombre científico es *Azadirachta indica* A. Juss., es un árbol perteneciente a la familia Meliaceae, originario de la India y de Birmania, que solo vive en regiones tropicales y subtropicales. Al Nim se le conoce un uso ancestral, pero las investigaciones científicas de sus propiedades se están realizando desde hace algunos años. Estos estudios están encaminados a conocer la eficacia del Nim, donde se han encontrado nuevos usos para este árbol: sus semillas, su corteza y sus hojas, los cuales tienen compuestos con usos antisépticos, antivirales, antipiréticos, antiinflamatorios.<sup>2-4</sup>

En Cuba se le conocen múltiples usos como acaricida y antiparasitario y hasta el momento se reportan estudios de toxicidad aguda dérmica de la crema *DerNim-U*, de irritabilidad oftálmica y estudios sobre la toxicidad oral de la decocción, empleando el método de dosis repetidas durante 28 días con el uso de una dosis menor a la

utilizada en este estudio.<sup>5-7</sup> Por esta razón se propuso como objetivo la evaluación toxicológica, por el método de la clases de toxicidad aguda (CTA) de la decocción de las hojas y tallos de *Azadirachta indica* en ratas *Sprague Dawley*.

## MÉTODOS

De la planta *Azadirachta indica* se recolectaron hojas y tallos, que se obtuvieron a través del proyecto territorial No. 36-06/04 "Evaluación toxicológica de plantas medicinales con acción antimicrobiana empleadas en la salud comunitaria", esta fue certificada y avalada en el Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO) de Santiago de Cuba. Se preparó una decocción de *A. indica*, su concentración se determinó basada en el contenido de sólidos totales.

El estudio se realizó cumpliendo las normas internacionales y lo establecido de manera ética para el cuidado y uso de animales de laboratorio, así como lo descrito en el Manual de los Procedimientos Operacionales de Trabajo.<sup>8-10</sup>

Se utilizaron en este estudio 6 ratas *Sprague Dawley* (3 ratas hembras y 3 ratas machos) con un peso promedio de 150 a 200 g. Se mantuvieron en condiciones convencionales, temperatura de  $22 \pm 3$  °C, humedad relativa de 65 % como promedio y fotoperíodo de 12 h luz y 12 h oscuridad.

La alimentación consistió en ración pelletizada y el suministro de agua fue *ad libitum*. La noche anterior (12 h antes) a la administración única, los animales fueron puestos en ayuno. El día de la administración las ratas se pesaron (día 0), para sobre este peso determinar el volumen de la decocción de la sustancia de ensayo a administrar. La administración comenzó por las ratas hembras y la dosis máxima fue de 2 000 mg/kg de peso corporal, por ser la que tenía más probabilidad de causar muerte a una parte de los animales. El volumen de la decocción administrada se calculó sobre la base de 2 mL de la decocción/100 g de peso corporal, y dependió del peso que en ese momento tenían las ratas. Al cabo de las 48 h posadministración, como no hubo presencia de signos de toxicidad ni muerte en las hembras, se pasó a administrar a los 3 machos, y a las 48 h posadministración de estos, como tampoco hubo presencia de signos de toxicidad ni muerte, la observación clínica de los animales se prolongó hasta los 14 días que duró el estudio.

Al no ocurrir muerte de ninguno de los animales con la dosis límite (2 000 mg/kg de peso corporal) no fue necesario emplear la dosis inferior de 200 mg/kg de peso corporal.

El pesaje de los animales se realizó los días 0, 7 y 14. Los pesos obtenidos el día 0 se emplearon para calcular el volumen de suspensión a administrar. Estos, más los pesos obtenidos los días 7 y 14 cumplieron el objetivo de detectar posibles variaciones del peso corporal en la etapa experimental.

## Eutanasia

Al concluir los 14 días de observación, los animales se enviaron a la morgue, donde se sacrificaron mediante narcosis con Ketamina-50 mg inyectable por vía intraperitoneal, en dosis de 50 mg/kg de peso corporal. Por último se les realizó la necropsia.

### Estudio anatomopatológico a nivel macroscópico

Se realizaron exámenes macroscópicos de las superficies externas del cuerpo, todos los orificios, cavidades (craneal, torácica y abdominal), así como sus órganos (corazón, pulmón, hígado, riñones, estómago, intestinos, bazo), timo, encéfalo, ganglios linfáticos, órganos genitales, glándulas sexuales accesorias, tejido linfoide asociado a mucosa (placas de Peyers).

## RESULTADOS

Después de la administración de la decocción de la planta *Azadirachta indica*, y hasta los 14 días de observación, se registró 100 % de supervivencia, con una conducta normal en los animales con reflejo postural normal, hábitos de aseo y respuesta habitual a los estímulos nociceptivos, así como consumo de alimentos y agua tal como corresponde a su especie.

El peso corporal constituye uno de los parámetros más importantes dentro de un estudio toxicológico, porque sus alteraciones son un indicador sensible de la toxicidad causada por un compuesto químico.

En la tabla se muestra el comportamiento del peso corporal de los animales en estudio a los 0, 7 y 14 días. Se obtuvo que tuvieron un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) del peso corporal entre los días del ensayo, así como diferencias significativas entre los 2 sexos.

**Tabla.** Peso promedio de los animales pertenecientes al grupo experimental

Grupos	Peso promedio g/días		
	0	7	14
Hembras	195,17 ± 13,64	243,20 ± 12,77	297,60 ± 18,38
Machos	156,01 ± 12,10	178,75 ± 11,81	204,51 ± 12,55

La necropsia de los animales de experimentación no arrojó ninguna alteración macroscópica de los órganos y tejidos examinados de valor diagnóstico para la sustancia de estudio. Debido a la no ocurrencia de muerte en este nivel de dosis, y que no se observó ningún signo de toxicidad evidente ni muerte de los animales de experimentación, no se empleó el nivel de dosis inferior según lo establecido para esta técnica.

## DISCUSIÓN

El conocimiento de las propiedades terapéuticas de las plantas es un verdadero desafío para la ciencia moderna: día a día se suman importantes investigaciones

clínicas y se descubren o confirman numerosos efectos benéficos, muchos de ellos ya conocidos por culturas milenarias. No obstante, no se debe olvidar que la utilización de las plantas medicinales debe sustentarse en la existencia de literatura científica relevante sobre la demostración de su actividad farmacológica, así como sobre su toxicidad. Los estudios cumplen la finalidad de determinar la eficacia y seguridad de su uso.<sup>1,11</sup>

El peso de los animales es un posible indicador de daño provocado por la sustancia evaluada, el cual posee una importancia vital en un estudio de toxicidad; por tal motivo, una variación significativa en este indicador sugiere un posible daño orgánico. En este caso se observó un incremento de este indicador, comportamiento que se corresponde con lo reportado en las normas para el uso y cuidado de los animales de laboratorio, así como en estudios de caracterización de parámetros fisiológicos en esta especie animal, lo cual demostró la inocuidad de este producto en ese sentido.<sup>9,12</sup>

Lo antes expuesto permite concluir que en las condiciones empleadas, la sustancia evaluada no produjo alteraciones en el aumento de peso corporal, tampoco provocó alteraciones anatomopatológicas atribuibles al efecto de la sustancia de ensayo sobre sistemas, órganos y tejidos, a la dosis utilizada. Por lo tanto, afirmamos que la decocción de la planta *Azadirachta indica*, en la especie animal empleada y bajo las condiciones de laboratorio descritas antes, se enmarca como *sin clasificar* atendiendo a la escala *Shelede*. Por tanto, se recomienda la continuidad de estudios a esta planta medicinal, para lograr su registro como medicamento de origen natural.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ochoa A, González Y, Viso F. Las reacciones adversas de las plantas medicinales y sus interacciones con medicamentos. MEDISAN [serie en Internet]. 2006 [citado 22 Dic 2010]; 10(4). Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol10\\_4\\_06/san12406.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol10_4_06/san12406.htm)
2. Ramos CA, González VA. Variación en contenido de azadiractina en frutos de Margosa durante su desarrollo. Rev Fitotec Mex. 2004;27(Núm. Especial 1):81-5.
3. Biswas K, Chattopadhyay I. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). Current Science. 2002;82(11),1336-45.
4. Aromdee Ch, Sriubolmas N. Essential oil of the flowers of *Azadirachta indica* (Meliaceae). J Sci Technol. 2006;28(1):115-9.
5. Estrada J, Díaz FS. Experiencia de la Aplicación del *DerNim U* como acaricida natural en el tratamiento de la escabiosis. Acta Farm Bonaerense. 2005;24(4):555-8.
6. Parrotta JA, Chaturvedi AN. *Azadirachta indica* A. Juss. Neem, margosa. SO-ITFSM-70. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station; 1994. p. 66-72.
7. Berenguer CA, Alfonso A, Fong O, Betancourt, Salas H, Puente E, et al. Toxicidad a dosis repetidas de *Azadirachta indica* A. Juss. (árbol del Nim). Rev Cubana Plant Med [revista en la Internet]. 2010 Sep [citado 2013 Ene 16]; 15(3):143-51. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962010000300006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000300006&lng=es)

8. OCDE. Guidelines for the Testing of Chemicals. Acute Toxic Class Method. Section 4, Health effects; N° 423. Paris; 2001. p. 1-14.
9. Guía para el cuidado, uso y reproducción de los animales de experimentación en el CENPALAB. La Habana: CENPALAB; 2000. p. 8-18.
10. Food and Drug Administration. Good Laboratory Practice for nonclinical laboratory studies. Code of Federal Regulations; 1997 [serie en Internet]. [citado 8 Jun 2012]. Disponible en: <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/980335s1.PDF>
11. Centro para el Control de la Calidad de los Medicamentos. Metodología de guía para realizar un protocolo de ensayo clínico con productos herbarios. Rev Cubana Plant Med. 1998;3(2):83-8.
12. Alemán C. Reference database for the principal physiological indicators in three species of laboratory animal. Lab Anim. 2000;34(1):358-78.

Recibido: 17 de octubre de 2012.

Aprobado: 13 de enero de 2013.

*Clara Azalea Berenguer Rivas*. Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED). Autopista Nacional Km 1 ½. Santiago de Cuba, Cuba. Correo electrónico: [azalea@toxi.scu.sld.cu](mailto:azalea@toxi.scu.sld.cu)