

Trabajo de Revisión

Toxicología Experimental

Resumen de estudios toxicológicos preclínicos del aceite de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet (Reseña)

Dayisell Lazara Curveco Sánchez, Daniel Francisco Arencibia Arrebola.

Instituto Finlay. La Habana, Cuba.

e-mail: darrebola@finlay.edu.cu, dcurveco@finlay.edu.cu

Resumen

Carapa guianensis pertenece a la familia *Meliaceae*, es una planta medicinal muy popular en varios países del mundo; en Cuba es conocida como Cedro Macho. Este extracto tiene diversos usos biomédicos destacándose como protector solar, anticancerígeno, antioxidante y antigenotóxico. El objetivo de esta reseña es realizar un resumen de los principales estudios toxicológicos preclínicos realizados el aceite de las semillas de esta planta. Se incluyó los estudios de toxicidad aguda, a dosis repetida, genotoxicidad y toxicología de la reproducción.

Palabras clave: *Carapa guianensis*, toxicidad, toxicología, productos naturales.

Abstract

Carapa guianensis belongs to the *Meliaceae* family, is a popular medicinal plant in several countries; in Cuba is known as Cedro Macho. This extract has various biomedical applications as solar protector, anticancer, antioxidant and antigenotoxic. The aim of this review is to summarize the main preclinical toxicology studies were performed at seeds oil of *Carapa guianensis*. Acute toxicity studies were included, repeated dose toxicity, genotoxicity and reproductive toxicology.

Key words: *Carapa guianensis*, toxicity, toxicology, natural products.

Introducción

Carapa guianensis pertenece a la familia *Meliaceae*, es una planta medicinal muy popular en varios países del mundo; en Cuba es conocida como Cedro Macho.

La caracterización del aceite de la semilla de *Carapa guianensis* ha revelado la presencia de ácidos grasos merístico, palmítico, oleico, linoleico (Pinto, 1956; Teske y Trentini, 1997), esteárico y ácido araquidónico (Penido y col., 2005). Algunos tetraterpenoides también han sido aislados de la semilla de *Carapa guianensis* (Penido y col., 2005).

También se ha observado que los tetraterpenoides obtenido de la semilla de la *Carapa guianensis* tienen una significativa actividad antialérgica, dado por la inhibición del factor nuclear kB y la supresión de la IL-5 y el CCL11/eotaxina (Penido y col., 2006).

Recientemente se ha descrito el potencial antioxidante, la capacidad como protector solar e insecticida del extracto oleoso de *Carapa guianensis* (Tonini y Arco, 2005; Ambrozin y col., 2006; Ferrari y col., 2007; Gonçalves y col., 2009; Alonso y col., 2012). Esta planta abunda en el Caribe especialmente en Belice, Trinidad y Tobago y Cuba (Tonini y Arco, 2005; Ferrari y col., 2007; Alonso y col., 2012).

Los estudios fitoquímicos de los extractos obtenidos en estas regiones denotan la presencia mayoritaria de ácidos grasos poliinsaturados y de compuestos fenólicos tales como taninos y limonoides.

Además se demostró que su efecto antioxidante mediante la administración oral del extracto durante tres semanas en ratas Sprague Dawley de ambos sexos, co-administradas con una sustancia oxidante donde se observó un efecto protector a la formación de especies reactivas del oxígeno está dado por sus componentes mayoritarios, capaces de restaurar el daño sistémico provocado por la ciclofosfamida (Alonso y col., 2012).

Siendo objetivo de esta reseña la actualización resumida de los estudios toxicológicos preclínicos del aceite de semilla de *Carapa guianensis* Aublet.

Desarrollo

Toxicidad a dosis única

Costa y col., (2008), evaluaron la toxicidad del aceite de la semilla de *Carapa guianensis* en dosis única por vía oral en ratas Wistar, los resultados indican que en las dosis de 625-5000 mg/kg no produjo síntomas de toxicidad ni muerte. De igual forma Arencibia y col, (2013), demostraron que en dosis única de 2000 mg/kg este aceite al ser administrado a ratas SD de ambos sexos no modificó en peso corporal, consumo de agua y consumo de alimentos. Tampoco se observaron lesiones anatomopatológicas de interés tóxico durante el estudio. En función de los resultados obtenidos se concluye que el extracto oleoso evaluado no fue potencialmente tóxico al ser administrado en dosis única por vía oral en el biomodelo de ratas SD en ambos sexos por el método de las clases.

Toxicidad a dosis repetida

Costa y col., 2008, en un ensayo subagudo de administración por vía oral de 30 días a ratas Wistar de ambos sexos, en las dosis 375-750 mg/kg no observaron cambios significativos que indicaran toxicidad en el peso corporal, y en el consumo de agua y alimento. En el análisis hematológico tampoco se observó diferencias significativas en los parámetros analizados, sin embargo en las pruebas de bioquímica sanguínea se observó un incremento de la Alanino Aminotransferasa (ALT) en un 29% en la dosis de 1500 mg/kg, este resultado estuvo en conjunción con el aumento del peso absoluto del hígado en la dosis de 750 mg/kg con un aumento entre 23,4 a 19,1% y en la dosis de 1500 mg/kg el incremento fue entre 18,7-33,1% lo cual sugiere una posible hepatotoxicidad.

Curveco y col., 2012, demostraron resultados similares al administrar a ratas SD de ambos sexos por vía oral en un ensayo de toxicidad subcrónica de 90 días, donde se observó un aumento significativo de la ALT y la Aspartato Amino Transferasa (AST), en conjunto con el aumento del peso del hígado en un 21% en ambos sexos en la dosis 1500 y 2000 mg/kg.

Genotoxicidad

En una primera instancia se evaluó el potencial mutagénico del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet en el ensayo de Ames por incorporación directa en placas (Narciandi y col., 2013). Se utilizaron las cepas TA 1535, TA 98 y TA 100 de *Salmonella typhimurium*. El ensayo se realizó tanto con la adición de la fracción microsomal hepática (S9) como sin ella. Como controles positivos en este ensayo se emplearon dos mutágenos, uno directo: la azida de sodio (AzNa) y uno indirecto: el 2-acetil amino fluoreno (2-AAF). Las concentraciones del extracto empleadas fueron 5, 50, 500, 2 000 y 5 000 µg/placa, utilizando el vehículo Tween 65 (0,2 %) como control negativo. Los resultados mostraron que el extracto oleoso de *Carapa guianensis* no aumentó significativamente la frecuencia de reversión respecto al control negativo para ambas variantes del ensayo de Ames, con o sin activación metabólica, en las cepas empleadas (Narciandi y col., 2013). Sin embargo los controles positivos AzNa y 2-AAF incrementaron significativamente el número de colonias revertantes con respecto al control negativo (Narciandi y col., 2013).

Arencibia y col., (2014), determinaron el potencial protector del extracto oleoso sobre el ADN frente a la radiación gamma/bleomicina, en el ensayo bacteriano SOS-Chromotest (con y sin activación metabólica). Las concentraciones del extracto ensayadas fueron: 50, 200, 350, 500 y 1000 µg/mL frente a dosis de radiación de 150 Gy (SOS Chromotest) y 15 µg/mL de bleomicina. En los ensayos se evaluaron esquemas de pre, co y post-tratamiento. Los resultados obtenidos demuestran que el extracto protege al ADN a dosis mayores a 200 µg/mL, en las variantes de co y post-tratamiento (Arencibia y col., 2014). Por otra parte Alonso y col., (2012), demostraron que los componentes del extracto oleoso de *Carapa guianensis* Aublet protegen al ADN de los daños que causa la CF, al disminuir la formación de especies reactivas del oxígeno. Esta propiedad se determinó al evaluar en co-administración el extracto en dosis farmacológicas entre 100-400 mg/kg

en el ensayo cometa alcalino de leucocitos de sangre periférica en ratas SD de ambos sexos.

Arencibia y col., (2013a), evaluaron los posibles daños del extracto oleoso a nivel del ADN, donde se utilizaron las bases técnicas y metodológicas del mismo ensayo que se evaluó con anterioridad, pero duplicando y triplicando la dosis farmacológica que evaluó Alonso y col., (2012), lo cual corrobora que el extracto en dosis de 2 000 mg/kg al administrarse por vía oral a ratas SD no potenció la formación de rupturas de simple cadena y la formación de sitios lábiles al álcali en el ADN, así como tampoco indujo un aumento de la longitud de migración del ADN, la cual fue similar entre los controles y los tratados (Arencibia y col., 2013a).

Arencibia y col., (2012), también demostraron que la frecuencia de eritrocitos policromáticos con micronúcleos en ratones BALB/c de ambos sexos tratados por vía oral durante 14 días a dosis de 400, 1 000 y 2 000 mg/kg con el extracto oleoso, fue similar a los grupos controles, no siendo así, para los grupos que se trataron con ciclofosfamida, en los cuales sí se encontró diferencias significativas; lo que indica ausencia de efecto citotóxico del tratamiento en las dosis evaluadas.

En el ensayo de aberraciones cromosómicas *in vivo* se demostró que no hubo diferencias significativas entre controles y tratados con el extracto en ninguno de los parámetros numéricos y estructurales que se determinaron en células de la médula ósea (Arencibia y col., 2013b). La no presencia de aberraciones cromosómicas está descrita en este tipo de ensayo, para productos inocuos que se comportan de forma similar a los valores espontáneos en especies roedoras (Arencibia y col., 2012a).

El tratamiento con el extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* por vía oral durante 35 días en ratones machos BALB/c, mantuvo los índices espontáneos del número de anomalías en la morfología de la cabeza del espermatozoide, de igual forma, no interfirió en la división celular, aunque la dosis máxima que se evaluó difirió con el control negativo y con el control positivo, con resultados intermedios en la concentración espermática (Arencibia y col., 2013c).

Por lo que se recomendó realizar ensayos especiales que permitieran esclarecer los posibles mecanismos o las posibles causas de la aparición de citotoxicidad, tanto en modelos *in vivo* como *in vitro*, en células germinales masculinas.

Para dar respuesta a este hallazgo Curveco y col., (2014), administraron el extracto oleoso evaluado durante 60 días por vía oral, a ratas machos SD, evidenció una ligera disminución de la concentración espermática en la dosis 2 000 mg/kg, pero no difirió con el grupo control negativo, ni con los resultados espontáneos de concentración espermática en epidídimos de ratas de esta especie, por lo que nos hace pensar que el uso de ratones BALB/c, que es una línea más sensible y eficiente con índices espontáneos de daño espermático más bajos, pueda ser la causa por la cual este extracto fue citotóxico en las células germinales de estos ratones (Arencibia, 2014).

Toxicología de la Reproducción

El efecto en la reproducción de la administración oral del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet fue investigado por Costa y col., (2007), en ratas Wistar preñadas.

Se formaron cinco grupos experimentales de 5 a 9 animales por grupo que fueron tratados oralmente los días 7 al 14 de la preñez (periodo de organogénesis) en dosis de 375, 750, 1500 y 3000 mg/kg de peso vivo (Costa y col., 2007).

Al día 20 de la preñez a los animales se les practico la eutanasia. Los resultados no arrojaron diferencias entre animales controles y tratados en cuanto al número de fetos vivos y muertos, relación peso materno-peso fetos, el peso del feto, el peso de la placenta y los ovarios, el número de sitios de implantación, el número de sitios de reabsorción, el número de cuerpos lúteos en los ovarios y los índices de pérdidas pre y post-implantación. Por tanto, se concluyó que la administración del aceite de semillas de *Carapa guianensis* no producen ningún efecto tóxico sobre la preñez en ratas Wistar (Costa y col., 2007).

Evaluaciones futuras (Estrategia)

Se recomienda para un mayor conocimiento de la toxicidad de este extracto realizar ensayos de toxicidad a dosis únicas (aguda) por otras vías y en otras especies, que no sea la vía oral para conocer la toxicocinética de este producto (Gámez y Mas, 2007). Además realizar ensayos especiales de hepatotoxicidad a dosis repetida por vía oral para determinar las posibles causas o los posibles componentes que le atribuyen a este extracto tales efectos y ensayos especiales de toxicología de la reproducción en el macho. Además completar los estudios de toxicología de la reproducción como el ensayo de fertilidad y teratogénesis. Por último de ser posible realizar ensayos de posibles efectos carcinogénicos al menos en una especie (ICH, 1996; Gámez y Mas, 2007).

Referencias

1. Alonso A, Rosario LA, Arencibia DF, Curveco D. Evaluación pre-clínica del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* como suplemento nutricional antioxidante. Tesis en opción al título de Licenciado en Ciencias de los Alimentos. IFAL-U.H. Habana, Cuba; 2012.p.1-58.
2. Ambrozin A, Leite A, Bueno F, Vieira P, Fernandes JB, Bueno O, et al. Limonoids from andiroba oil and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. J Braz Chem Soc. 2006; 17(3):542-7.
3. Arencibia DF, Rosario LA, Crespo Y. Potencial radioprotector y antigenotóxico *in vitro* del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet. Saarbrücken: Editorial Académica Española; 2014.p.1-61. ISBN: 978-3-8484-5668-0.
4. Arencibia DF, Rosario LA, Delgado L, Alonso A, Crespo Y, Biart O, Vidal A. *In vivo* genotoxic potential of the seed oleaginous extract of *Carapa guianensis* Aublet using the comet assay. Journal of Experimental and Integrative Medicine 2013a; 3(3):231-236.
5. Arencibia DF, Rosario LA, Delgado L, Alonso A, Infante JF, Vidal A. Evaluación genotóxica del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet en el ensayo de aberraciones cromosómicas en ratones Balb/c. Revista Cubana de Farmacia 2013b; 47(3):363-367.
6. Arencibia DF, Rosario LA, Delgado L, Alonso A, Suárez YE, Vidal A. Evaluación genotóxica del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet en el ensayo de micronúcleos en ratones Balb/c. Retel 2012; 39(1):1-13.
7. Arencibia DF, Rosario LA, Delgado L, Alonso A, Vidal A. Genotoxic potential of the *Carapa guianensis* Aublet seed oleaginous extract to induce anomalies in the sperm head morphology. Revista Internacional de Andrología 2013c; 11(2):54-59.

- 8.** Arencibia DF, Rosario LA, Narciandi J, Curveco D, Delgado L, Suárez YE, Vidal A. Evaluación de la toxicidad aguda por el método de las clases del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet. Retel 2013; 41(3):39-51.
- 9.** Arencibia DF, Rosario LA, Suárez YE, Vidal A, Delgado L. Comparison in the efficiency of different murine lines for genotoxicity assays. Interdisciplinary Toxicology 2012a; 5(3):141-149.
- 10.** Arencibia DF. Evaluación de la eficiencia de biomodelos murinos en los ensayos de genotoxicidad y antigenotoxicidad. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias de la Salud. UCMH. Habana, Cuba: Repositorio INFOMED; 2014.p.1-163. *En edición.*
- 11.** Costa JH, Lima CR, Silva EJ, Araújo AV, Fraga MC, Ribeiro A, *et al.* Acute and subacute toxicity of the *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae) seed oil. Journal of Ethnopharmacology 2008;116:495-500.
- 12.** Costa JH, Lyra M, Lima CR, Arruda VM, Araújo AV, Ribeiro A, *et al.* A toxicological evaluation of the effect of *Carapa guianensis* Aublet on pregnancy in Wistar rats. Journal of Ethnopharmacology 2007;112:122-6.
- 13.** Curveco DL, Arencibia DF, Rosario LA, Suárez YE, Delgado L, Crespo Y, Alonso A, Vidal N. Evaluación de la toxicidad subcrónica oral del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet en ratas Sprague Dawley. Informes Técnicos. La Habana; Instituto Finlay. 2012.
- 14.** Curveco DL, Rosario LA, Narciandi J, Crespo J, Alonso A, Vidal A, *et al.* Assessment of epididymal sperm quality during 60 days oral administration of oil *Carapa guianensis* Aublet extract in male SD rats. Informes Técnicos. La Habana; Instituto Finlay. 2014.
- 15.** Ferrari M, Oliveira M, Nakano A, Rocha-Filho P. Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* e *in vivo* de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). Rev Bras Farmacogn. 2007; 17(4):626-30.
- 16.** Gámez R, Más R. Aspectos generales de los estudios toxicológicos más empleados. Revista CENIC. Ciencias Biológicas 2007;38(3):204-8.

17. Gonçalves JF, Silva CE, Guimarães DG. Fotossíntese e potencial hídrico foliar de plantas jovens de andiroba submetidas à deficiência hídrica e à reidratação. *Pesq Agropec Brás.* 2009; 44(1): 8-14.
18. ICH. Expert Working Group (Safety) of the International Conference of Harmonization (ICH). Guideline for Industry: The need for long-term rodent carcinogenicity studies for pharmaceuticals. ICH S1A, 1996.
19. Narciandi J, Rosario L.A, Curveco DL, Vidal A, Arencibia DF. Evaluación del potencial mutagénico del extracto oleoso de la semilla de *Carapa guianensis* Aublet en el ensayo de Ames por incorporación directa en placas. *Retel* 2013; 40(4):45-58.
20. Penido C, Costa KA, Costa MF, Pereira JF, Siani AC, Henriques MG. Inhibition of allergen-induced eosinophil recruitment by natural tetranortriterpenoids is mediated by the suppression of IL-5, CCL11/eotaxin and NF κ B activation. *International Immunopharmacology.* 2006; 6:109-21.
21. Penido C, Costa KA, Pennaforte RJ, Costa MF, Pereira JF, Siani AC, et al. Anti-allergic effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on allergen-induced vascular permeability and hyperalgesia. *Inflammation Research.* 2005; 54:295-303.
22. Pinto GP. Contribuição ao estudo químico do óleo de Andiroba. *Boletín Técnico do Instituto Agronómico do Norte.* 1956; 31:195-206.
23. Teske, M, Trentini AM. Herbarium: Compendio de Fitoterapia. Herbarium Laboratório Botánico. Paraná; 1997.p.35.
24. Tonini H, Arco M. Morfologia da copa para avaliar o espaço vital de quatro espécies nativas da Amazônia. *Pesq Agropec Brás.* 2005; 40(7):633-8.

Recibido: 26/08/14

Aceptado: 04/09/14