

## Evaluación Toxicológica de una Tintura de Propóleos

María Regla PÉREZ CAPOTE <sup>1\*</sup>, Caridad C. RODRIGUEZ TORRES <sup>1</sup>,  
Olga Sonia LEON FERNÁNDEZ <sup>2</sup> Susana Sam RODRIGUEZ <sup>2</sup>, Dalia ALVAREZ <sup>2</sup>,  
Juana CASTAÑEDA <sup>2</sup> & Jorge Luis VEGA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorios Biológicos Farmacéuticos LABIOFAM, Ave. Independencia Km. 16 <sup>1/2</sup>  
Santiago de las Vegas. Boyeros. C. Habana. Cuba.

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones y Evaluaciones Biológicas, Instituto de Farmacia y Alimentos,  
Universidad de la Habana. Cuba

---

**RESUMEN.** La tintura de propóleos es un fitofármaco que tiene asociados diversos efectos farmacológicos: acción antimicrobiana, analgésica, antiinflamatoria, antioxidante y cicatrizante. Según las normativas establecidas por la Organización para la Cooperación Económica y el Desarrollo (OECD), los ensayos toxicológicos constituyen un requerimiento para el registro de los fármacos, lo cual garantiza determinar un margen de seguridad para el uso de los productos que se evalúan. Para el estudio de toxicidad aguda oral se emplearon ratas Sprague-Dawley de ambos sexos, realizándose un ensayo límite donde se clasificó al extracto de propóleos en la categoría "sin clasificar", al ser administrado a una dosis de 2 g/Kg por vía oral en ratas. El estudio de irritabilidad dérmica se desarrolló en conejos albinos F1 machos, obteniéndose un índice de irritación primario igual a cero, con el cual se clasifica al producto como no irritante.

**SUMMARY.** "Toxicological Evaluation of a Propolis Extract". The propolis extract is a phytomedicine. It is well known that propolis is associated with some pharmacological effects, as antimicrobial, analgesic, anti-inflammatory, antioxidant and healing actions. According to the normative set down by OECD, toxicological assays are one of the requirements for drug registration, which guarantees the determination of a security margin for the use of the evaluated product. For acute toxicity studies, Sprague Dawley rats of both sexes were used in a limit assay carried out with propolis extract, on the basis of which was set into the unclassified category, when being administered in one dose of 2 g/kg (p.o) in rats. The dermal irritability assay was carried out in albino rabbits F1. A primary irritation index equal to zero was obtained, which classifies the product as not irritating.

---

### INTRODUCCIÓN

La determinación de la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) para la evaluación de la toxicidad aguda oral de químicos u otras sustancias es usualmente el primer paso en una serie de estudios toxicológicos a seguir. Este ensayo puede ofrecer información sobre la dosis que responde a signos tóxicos e incluso hallazgos patológicos.

Es conocido que a los propóleos se le atribuyen diversos efectos farmacológicos. Entre ellos se destacan la acción antimicrobiana, comportándose como bacteriostático y bactericida <sup>1,2</sup>, así como acción analgésica, antiinflamatoria (a través de la inhibición de la angiogénesis <sup>3</sup>), antioxidante (dado por su comportamiento similar a la vitamina E sobre la estabilización de la pe-

roxidación lipídica <sup>4,5</sup>), cicatrizante y hepatoprotector <sup>6</sup>. Se han realizado estudios preclínicos que han evidenciado actividad antitumoral del propóleos en la leucemia P-388 <sup>7</sup>, todo ello asociado a la acción conjunta de los elementos que componen el mismo <sup>8</sup>. Han sido realizados estudios toxicológicos a extractos etanólicos de propóleos procedentes de la región occidental de Cuba, en ratones OF1 de ambos sexos, a una dosis de 2 g/kg, por vía oral. Estos estudios refieren que este producto no produce letalidad por esta vía a la dosis ensayada, ni desarrolla signos tóxicos <sup>9</sup>.

El presente estudio tuvo como objetivo general obtener información sobre la toxicidad aguda oral en ratas de una tintura de propóleos

**PALABRAS CLAVE:** Extracto de propóleos, No irritante, Toxicidad aguda.

**KEY WORDS:** Acute toxicity, Propolis extract, Not irritating.

\* Autora a quien dirigir la correspondencia. E-mail: regla@cieb.sld.cu ó maryperez@medscape.com ó desarrollo@labiofam.com

y determinar los signos de toxicidad retardada tras la administración por vía oral de una dosis límite del producto, así como determinar las posibles afectaciones dérmicas después de la aplicación de la misma.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

La sustancia en ensayo, Tintura de propóleos, fue suministrada por los Laboratorios Biológicos Farmacéuticos (LABIOFAM).

### ***Toxicidad aguda oral***

Se ensayó una dosis de 2 g/kg de peso según OECD. Se emplearon ratas Sprague Dawley de ambos sexos, con un peso de 177-180 g para las hembras y de 210-230 g para los machos. Se conformaron 4 grupos de 5 animales cada uno, un grupo tratado y uno control por cada sexo. Posterior a un período de 18 horas de ayuno, mediante una sonda intragástrica se administró la tintura de propóleos en un volumen correspondiente a la dosis de 2000 mg/kg. A los grupos controles se les administró agua destilada por la misma vía y en similar volumen.

Los animales fueron observados cada hora durante las primeras 4 horas y después cada 4 horas hasta llegar a las primeras 24 horas. El resto del tiempo las observaciones se realizaron una vez al día, lo cual satisface los requisitos de los estudios de toxicidad aguda. Al finalizar el estudio los animales fueron sacrificados. Durante el período de estudio se tuvieron en cuenta algunos parámetros: la mortalidad, presencia o no de afectaciones respiratorias, motoras, cardiovasculares y gastrointestinales. Los signos de toxicidad que se observaron fueron los siguientes: disnea, salivación, reflejo pirral, temperatura corporal, apnea, lacrimación, reflejo corneal, consumo de alimentos, ptosis, caída o erizamiento del pelo, transparencia de los ojos, aspecto de los genitales, sangre en los ojos, temblores, catalepsia y convulsión.

### ***Irritabilidad dérmica***

Se empleó la metodología descrita según las normativas establecidas por la OECD <sup>10</sup> en conejos albinos F1 con un peso corporal entre 1,8-2,0 kg. Una dosis simple de 0,5 mL de la tintura fue aplicada sobre la piel intacta de los conejos en los diferentes sitios seleccionados, en los cuales se colocó un parche semi-oclusivo durante un período de exposición de 4 horas. Los sitios de aplicación fueron evaluados en corres-

pondencia con el método de Draize <sup>11</sup> a los 60 min., 24, 48 y 72 horas después de haber removido el parche.

Para ambos ensayos los animales se mantuvieron 7 días antes y durante el ensayo (14 días) con pienso convencional para cada especie y agua *ad libitum*, a una temperatura de  $20 \pm 4$  °C, un fotoperíodo de 12 horas y una humedad relativa de  $70 \pm 5$  %. En todos los casos se recibió el certificado del centro productor CENPALAB, que evaluó su estado de salud según examen bacteriológico, virológico, parasitológico y patológico.

### ***Análisis estadístico***

Se calcularon diferentes parámetros descriptivos para las variables analizadas (media y desviación estándar). Para comparar los grupos experimentales, teniendo en cuenta la variable en cuestión, se utilizó el test t de Student para muestras independientes, previo a un test de normalidad (Shapiro-Wilks) y homogeneidad de varianzas (Test de Levene). Posteriormente se calcularon las pendientes de las curvas de ganancia de peso corporal y se compararon con las reportadas por IFFA CREDO <sup>12</sup> para animales de la misma edad. Los datos se procesaron utilizando los programas estadísticos STATISTICA (versión 4) y MATLAB (versión 4.2) para WINDOWS.

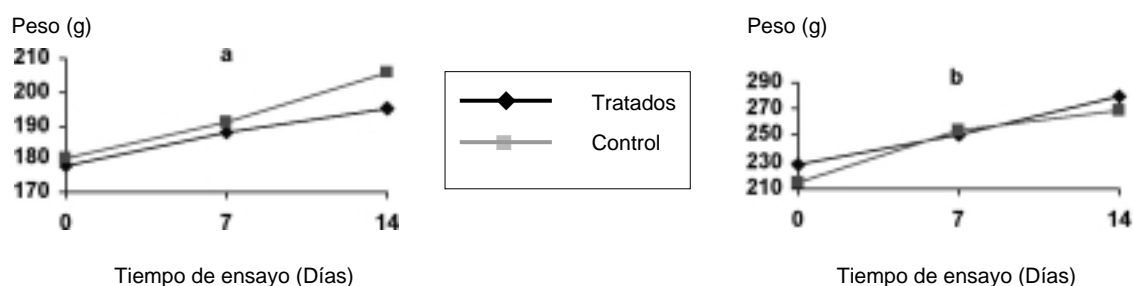
## **RESULTADOS**

### ***Toxicidad aguda oral a dosis límite (2 g/kg)***

#### ***Comportamiento del peso corporal***

El comportamiento del peso corporal es uno de los principales indicadores de posibles trastornos orgánicos en los estudios de toxicidad. En la Figura 1 se observa el comportamiento del peso corporal durante el tiempo de ensayo en cada sexo. El peso de las ratas macho tratadas con la tintura se incrementó desde  $227 \pm 8,23$  g hasta  $278,52 \pm 7,13$  g con respecto a los controles del mismo sexo en las cuales el comportamiento fue desde  $215,12 \pm 6,18$  g hasta  $269,2 \pm 7,25$  g. En cuanto a las ratas hembras, en el caso de las tratadas mostró un incremento desde  $177,60 \pm 5,14$  g hasta  $195,06 \pm 6,08$  g y los controles desde  $180,32 \pm 4,16$  hasta  $205,82 \pm 4,32$ .

Como se puede apreciar, el peso corporal mostró un comportamiento similar para ambos grupos; la administración de la tintura de propóleos no afectó el incremento de peso de los ani-



**Figura 1.** Comportamiento del peso corporal en ambos sexos: **a)** ratas hembras, **b)** ratas macho. No hubo diferencias estadísticas entre grupos/Día durante el periodo de ensayo ( $p > 0.05$ )

males de ambos sexos tratados respecto al grupo control. El análisis estadístico indicó que no hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las pendientes de las curvas de ganancia de peso corporal obtenidas de los tratados y los controles. Dichas pendientes se compararon además con las reportadas por IFFA CREDO<sup>12</sup> para animales de la misma edad y sexo, y no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en ninguno de los tiempos estudiados.

### Signos tóxicos

Las observaciones clínicas realizadas durante el período de ensayo no arrojaron alteraciones en los diferentes sistemas estudiados, ni la ocurrencia de signos tóxicos. La supervivencia fue del ciento por ciento, siendo esto un indicador de que la  $DL_{50}$  del extracto de propóleos por vía oral es superior a 2 g/kg de peso corporal.

### Observación macroscópica

Se realizó un examen macroscópico de corazón, timo, pulmones, bazo, hígado, riñones, estómago, intestino delgado y grueso y glándulas mesentéricas, buscando posibles signos de toxicidad retardada y no se encontró ningún daño posterior a la administración del producto por vía oral.

### Irritabilidad dérmica

La aplicación tópica del extracto de propóleos no produjo eritemas ni edemas en las zonas

evaluadas en el periodo de ensayo según la escala de clasificación establecida por Draize<sup>11</sup>. Se obtuvo un índice de irritación primario (IIP) igual a cero, por lo que se clasifica al producto como no irritante dérmico.

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La observación cuidadosa de los animales y la detección de signos de toxicidad constituyen elementos importantes a tener en cuenta para obtener más información y así establecer las características tóxicas de la sustancia<sup>13</sup>. El comportamiento del peso corporal es uno de los principales indicadores de posibles trastornos orgánicos en los estudios de toxicidad. El estudio de toxicidad aguda oral del extracto de propóleos evidencia que en nuestras condiciones experimentales la  $DL_{50}$  extracto de propóleos es superior a 2 g/kg. La administración de una dosis de 2 g/kg no produce modificaciones macroscópicas en los órganos examinados, no produce variaciones en los signos clínicos ni en la ganancia normal de peso corporal en animales de ambos sexos. La aplicación tópica del extracto de propóleos no provoca alteraciones dérmicas, dado por  $IIP=0$ .

El extracto de propóleos se ubica en la categoría "sin clasificar"<sup>14</sup> a una dosis de 2 g/kg administrado a una dosis única por vía oral en ratas de ambos sexos y se clasifica como no irritante dérmico.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Asis, M. (1989) *Propóleos. El oro púrpura de las abejas*. La Habana. CIDA.
2. Marin, M. (1974) *Terapia con propóleos*. Simposio Internacional de apicultura de Madrid. Apimondia.
3. Song, Y.S., E.H. Park, K.J. Jung & C. Jin (2002) *Arch. Pharm. Res. Aug.* **25**: 500-4.
4. Okonenko, L.B. & B.B. Aldarkhanov (1988) *Vaprosy Pitaniya* **4**: 68-70.
5. Hegazy, AG. & F.K. Abd El Hady (2002) *Z. Naturforsch [C]* **57**: 395-402.

6. González, R., D. Ramírez & S. Rodríguez (1993) *Phytoter. Res.* **8**: 229-32.
7. Montiel, P.Z. (1995) "Evaluación experimental del empleo del propóleos cubano en oncología". Tesis de Diploma. Fac. Farmacia Y Alimentos. Univ. De la Habana. Cuba
8. Rodríguez, R.F. (1989) "Resultado de la aplicación del propóleos en úlceras y gangrenas de las extremidades inferiores". 1<sup>er</sup> Simposio sobre los efectos del propóleos sobre la salud humana y animal. Varadero, Matanzas, Cuba. Págs. 156-255.
9. Cuesta, O. (1996) "Estudios sobre propóleos". Tesis de Maestría IFAL-UH. La Habana. Cuba, págs. 13-18.
10. The Organization for Economic Cooperation and Development (1996) Guidelines for Testing of Chemicals. Principles and Methods of Toxicology. Protocol 401, Ginebra.
11. Draize, J.H, Woodwar, G. & H.O. Calvery (1944) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **82**: 377-90.
12. IFFA CREDO Laboratory Animals (1986) RATS. The OFA rat. Págs. 30-9.
13. Schlede, E., R. Mischke, R. Roll & D. Kayser (1992) *Arch. Toxicol.* **66**: 455-70.
14. Skowron J., L. Zapor & K. Miranowicz-Dzierzawska (1998) *Int. J. Occup. Saf. Ergon.* **4**: 107-16.