



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Evaluación de la seguridad del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L*; ensayo sub-crónico a 28 días en ratas Wistar.

T E S I S

Que para obtener el título de
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

Presenta

EVERARDO ANTONIO JIMÉNEZ RESPARDO

Director de tesis

Dr. Osvaldo Daniel Castelán Martínez

Asesor de tesis

Q. Carlos Salvador Valadez Sánchez

Ciudad de México 2017





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme ser parte de su comunidad y por la formación recibida dentro de sus aulas y laboratorios.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, sitio en el que curse mis estudios de licenciatura y el cual se convirtió en un hogar para mí.

Al Dr. Osvaldo Daniel Castelán Martínez, por haber depositado su confianza en mí para la realización de este proyecto. Por sus valiosas enseñanzas y constante motivación.

Al Q. Carlos Salvador Valadez Sánchez, gracias por brindarme su apoyo. Además, por su paciencia, sus conocimientos y la orientación recibida.

Al M en C. Ángel García Sánchez, por su colaboración y apoyo otorgado en la realización del proyecto. Así como sus comentarios que permitieron enriquecer el presente trabajo de tesis.

A la M.V.Z. Adriana Altamirano Bautista, por todas las atenciones y facilidades brindadas durante la realización del proyecto en el bioterio de la FES Zaragoza.

Al Dr. Doctor Eloy Solano Camacho, por su valiosa contribución al proyecto en la clasificación botánica en el museo herbario de la FES Zaragoza.

A mis sinodales el Dr. Rodrigo González Olvera y el M en C. Gerardo Díaz Vázquez, que con sus oportunas observaciones promovieron la mejora del presente escrito.

Finalmente, quiero agradecer al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM por el apoyo recibido mediante el proyecto IA207417.

Dedicatorias

A mi mamá, mi mayor motivación. No existen palabras para describir el agradecimiento y admiración que siento hacia ti. Todo lo que hago es por ti.

A mi papá, por todo el apoyo otorgado, gracias por enseñarme a nunca darme por vencido y encontrar en la adversidad razones para seguir adelante.

A mi familia, Cinthya, Itzel, Rosmeli, y Guadalupe. Por qué a pesar de todos los errores que he cometido siempre han estado para hacerme crecer como persona.

A mis abuelos, Benito y Juana, por este medio les quiero expresar la profunda admiración que me provocan.

A Paola, por estar en los buenos y malos momentos. Por motivarme a tratar de ser mejor cada día. Por tu apoyo incondicional siempre estaré agradecido.

A Corina y Roció, por abrirme las puertas de sus hogares y hacer que me sintiera siempre como en casa.

Índice

1. Introducción.....	6
2. Marco teórico.....	8
2.1 Medicina tradicional	8
2.2 Farmacognosia	9
2.3 Toxicología.....	9
2.3.1 Ensayos de toxicidad	10
2.4 Mangifera indica L.....	11
2.5 Composición química de Mangifera indica L.....	12
2.5 Usos de Mangifera indica L.....	12
2.5.1 Actividad antimicrobiana	13
2.5.2 Actividad antiinflamatoria	13
2.5.3 Efecto inmunomodulador	14
2.5.4 Efecto hepatoprotector.....	15
2.5.5 Actividad antioxidante	16
2.5.6 Actividad antiparasitaria.....	17
2.5.7 Actividad anticancerígena	18
2.6 Toxicidad de Mangifera indica L.....	19
3. Planteamiento del problema.....	21
4. Hipótesis.....	22
5. Objetivos	22
5.1 Objetivo general	22
5.2 Objetivos particulares.....	22
6. Material y métodos	23
6.1 Diseño del estudio.....	23
6.2 Clasificación botánica de Mangifera indica L.	23
6.3 Extracto acuoso-etanólico.....	23
6.4 Animales de experimentación	24
6.4 Ensayo de toxicidad oral subcrónico de dosis repetidas a 28 días en ratas Wistar.....	24
6.4 Observaciones clínicas	25
6.5 Análisis bioquímico y hematológico	26

6.6 Análisis estadístico.....	27
6.7 Consideraciones éticas	27
7. Resultados	28
7.1 Identificación de azúcares.....	28
7.2 Ensayo de toxicidad oral subcrónico de dosis repetidas a 28 días en ratas Wistar	28
7.2.1 Observaciones clínicas	28
7.2.1.1 Consumo de agua	29
7.2.1.2 Consumo de alimento.....	30
7.2.1.3 Peso corporal	32
7.2.3 Parámetros bioquímicos	33
7.2.3.1 Biometría hemática y tiempos de coagulación	33
7.2.3.2 Química sanguínea	34
7.2.3.3 Efecto hiperglicémico.....	39
8. Discusión.....	40
9. Conclusiones.....	45
10. Perspectivas.....	46
11. Referencias	47
12. Anexos	53
12.1 Autorización del Comité Académico de Carrera.....	53

1. Introducción

La medicina tradicional data de tiempos antiguos, antes del desarrollo de los medicamentos y en la actualidad muchas personas siguen haciendo uso de ella para combatir diversas enfermedades, ya sea como primera opción de tratamiento o como alternativa a los medicamentos convencionales. Las plantas medicinales se pueden usar en su estado natural, después de recibir algún tipo de tratamiento o ser sometidas a un proceso. Un ejemplo del empleo de la medicina tradicional en México es el uso extendido de la corteza del árbol de mango (*Mangifera indica* L.) para tratar enfermedades gastrointestinales, respiratorias y en algunos casos como alternativa de tratamiento en algunos tipos de cáncer. Entre las distintas propiedades que se le atribuyen a la corteza del árbol de mango se encuentran propiedades antiinflamatorias al reducir edemas provocados en ratones, además de ser antioxidante ya que inhibe a las especies reactivas del oxígeno por tener una gran cantidad de polifenoles, antimicrobiana pues en diversos ensayos detiene el crecimiento de distintas bacterias, además del efecto inmunomodulador, hepatoprotector, antiparasitario y anticancerígeno como lo reportan estudios realizados en células cancerígenas, uno de ellos realizado por Castro-Pantaleón demostró que el extracto acuoso-etanólico de la corteza presenta actividad citotóxica y antiproliferativa en células de cáncer cervicouterino *HeLa*.

En ensayos previos de toxicidad aguda, realizados en ratas Spange Dawley la corteza de mango ha provocado escasa toxicidad. No obstante, en un estudio reciente en el que se evaluó la toxicidad subcrónica, realizado en conejos con el extracto metanólico de las hojas de mango, ocasionó un aumento las

concentraciones plasmáticas de la enzima cardíaca creatina cinasa MB y cambios en la microarquitectura del corazón. Estas evidencias sugieren que el uso de los extractos del árbol de mango puede tener efectos tóxicos cuando son administrados de forma constante. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la seguridad del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L* mediante un ensayo subcrónico a 28 días en dosis orales repetidas en ratas Wistar.

2. Marco teórico

2.1 Medicina tradicional

A lo largo de la historia, la mayoría de las culturas en el mundo han recurrido a la medicina tradicional para atender sus problemas de salud y en la actualidad la mayoría de los países siguen haciendo uso de ella.

La medicina tradicional engloba, el conjunto de conocimientos y prácticas basadas en las experiencias, teorías y creencias de los pueblos en diferentes culturas utilizados para la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades, así como para mantener la homeostasis. Los medicamentos herbarios se clasifican de acuerdo con el grado de procesamiento utilizado para su obtención en; hierbas, materiales herbarios, preparaciones herbarias y productos herbarios acabados.^{1,2}

Las hierbas corresponden a partes de plantas, que pueden estar enteras, fragmentadas o pulverizadas. Los materiales herbarios pueden incluir además de partes de plantas, a las resinas, gomas, aceites esenciales y polvos secos de las hierbas que se obtienen por medio de procedimientos simples como el tostado o el tratamiento con vapor. En el caso de las preparaciones herbarias, en su obtención se involucra algunos procesos físicos como la extracción, purificación y concentración. Por último, los productos herbarios acabados utilizan como base las preparaciones herbarias solo que estos pueden contener excipientes o bien pueden ser mezclas de dos o más preparaciones herbarias.²

La farmacognosia es una de las ciencias que se encuentra en estrecha relación con la medicina tradicional, pues uno de sus objetos de estudio son los materiales

de origen natural y las diversas propiedades que este tipo sustancias pudieran presentar.

2.2 Farmacognosia

La farmacognosia; es la rama de la farmacología que se encarga del estudio de las sustancias de origen natural y que pueden provenir de plantas, animales u hongos, estas sustancias pueden tener interés como principios activos con propiedades terapéuticas, toxicológicas o como excipientes para la fabricación de medicamentos.³ Entre las actividades de la farmacognosia se encuentra la identificación, descripción, análisis y obtención de compuestos con potencial terapéutico de fuentes naturales. Muchos de los fármacos utilizados en la práctica clínica tuvieron su origen en fuentes naturales. Además, en ocasiones resulta fácil obtener los precursores de algunos medicamentos de fuentes naturales.⁴

Una vez que se lleva a cabo la caracterización de algún compuesto o mezcla de compuestos, que producen efectos terapéuticos, se hacen necesarios la realización de estudios de toxicidad con el fin de establecer si son seguros para el uso humano.

2.3 Toxicología

La toxicología es una ciencia que se encarga del estudio de los efectos adversos de las sustancias químicas en los organismos vivos. Su importancia radica en que los seres humanos están en contacto cotidiano con sustancias que pueden tener potencial tóxico.⁴ La toxicidad es el efecto causado por la acción directa de un

xenobiótico, que puede producir daño celular, esta puede ocurrir a dosis elevadas o bien a dosis que se consideran como terapéuticas.⁵

Una herramienta utilizada para determinar el daño producido por la acción de un xenobiótico sobre un organismo son los ensayos de toxicidad. Con regularidad los ensayos se llevan a cabo en animales sanos.

2.3.1 Ensayos de toxicidad

El objetivo de un ensayo de toxicidad es evaluar el potencial toxicológico de un xenobiótico, se realizan en animales de experimentación como son los roedores.

Los ensayos de toxicidad se clasifican en:

Ensayo de toxicidad aguda: Se realiza en roedores, los cuales son administrados por vía oral con la sustancia a evaluarse con una sola dosis de 5, 50, 300, 2000 y hasta 5000 mg/kg. Los animales son observados durante 14 días, reportándose las muertes, cambios en la conducta, peso corporal y análisis histopatológico.⁶

Ensayo de toxicidad subcrónico: Estos tipos de ensayos pueden realizarse con una duración de 28 y 90 días. Los animales se dividen en grupos de acuerdo con su sexo y son administrados por vía oral todos los días de duración del ensayo. En estos ensayos se reportan parámetros hematológicos, bioquímicos e histopatológicos. Además, cambios en la conducta, consumo de alimento, agua y peso corporal como observaciones clínicas.^{7,8}

Ensayo de toxicidad crónico: La duración de este tipo de ensayo es de 12 meses, tiempo suficiente para observar efectos de toxicidad acumulada. La administración

a los animales se realiza a diario, puede ser por vía oral, cutánea o por inhalación. Se cuantifica el agua y alimento consumidos por los animales, así como el peso corporal. Al terminar el ensayo se realiza una biometría hemática, química sanguínea y análisis histopatológico.⁹

2.4 *Mangifera indica* L.

También conocido como mango o mango criollo es una planta originaria de la India. El árbol puede crecer hasta 20 metros y sus condiciones ambientales de crecimiento son los climas cálidos y semicálidos con altitudes que van desde los 0 a los 2600 metros sobre el nivel del mar (msnm). El tronco es grueso con un follaje denso, sus hojas miden de 10 a 20 cm de largo y los frutos que cuelgan en racimos son lisos y carnosos de sabor dulce. Su semilla se encuentra envuelta por una cascara dura dentro del fruto.¹

México, ocupa el quinto lugar en exportación de mango a nivel mundial. Los estados que presentan mayor producción de este fruto son Guerrero, Sinaloa, Nayarit, Chiapas y Michoacán.¹⁰ Aunque por las condiciones climáticas del país se le puede encontrar en la mayoría de los estados.

A pesar de que los seres vivos se encuentran conformados por una gran cantidad de sustancias, es posible determinar los grupos de compuestos químicos que se encuentran presentes en mayor cantidad, sobre todo si se trata de plantas, pues algunas de estas contienen metabolitos característicos de la familia a la que pertenecen.

2.5 Composición química de *Mangifera indica* L.

Diversos compuestos han sido aislados e identificados de las hojas, semillas, cáscara y corteza de *Mangifera indica* L., dentro de los cuales se encuentran xantonas, glucosidos, polifenoles y benzofenonas (Figura 1) son algunos de los compuestos que se obtuvieron a partir de extractos de la planta de mango, por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR).¹¹ Uno de los polifenoles presentes en mayor proporción es el ácido gálico aislado de las flores del árbol de mango.¹² Por otra parte, del extracto metanólico de la corteza se identificó mangiferol por medio de resonancia magnética nuclear (RMN).¹³ En el extracto acuoso-etanólico se encuentran presentes compuestos como la benzofenona C-glucósido y dímeros de xantonas.¹⁴

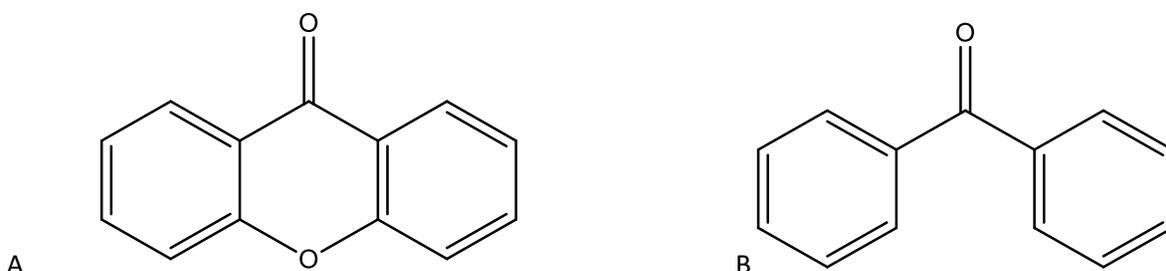


Figura 1. A) Xantona, B) Benzofenona (Jiménez-Resparto, 2017, ChemDraw pro 8.0)

A partir de las características que presentan los compuestos químicos de *Mangifera indica* L. Puede ser posible enfocar ese conocimiento en la búsqueda de tratamientos alternativos contra algunas enfermedades.

2.5 Usos de *Mangifera indica* L.

El fruto se utiliza como alimento, del árbol se puede obtener madera para diversos fines. Otras partes de la planta como la corteza y las semillas se utilizan para tratar enfermedades del sistema respiratorio tales como el resfriado común y el asma,

así como para tratar las enfermedades relacionadas con parásitos intestinales. Diversos estudios han investigado los potenciales usos terapéuticos de diversas partes del árbol del mango, a continuación, se describen las actividades atribuidas a la *Mangifera indica* L.

2.5.1 Actividad antimicrobiana

El extracto etanólico de las hojas demostró tener actividad antimicrobiana al inhibir el crecimiento de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* y *Escherichia coli*. Con una concentración mínima inhibitoria (CMI) comprendida entre 39 y 1250 µg/mL.¹⁵

Algunos polifenoles llamados gallotaninas aislados de la semilla, mostraron tener efecto bactericida contra distintas bacterias Grampositivas y Gramnegativas con una concentración bactericida mínima de 200 µg/mL y 500 µg/mL, respectivamente.¹⁶

El extracto metanólico de la corteza inhibió el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Salmonella typhi*. La inhibición presentó un halo de hasta 16 mm con una CMI que osciló entre 3.26 y 4.88 mg/mL.¹⁷

2.5.2 Actividad antiinflamatoria

Diversos estudios sustentan las propiedades antiinflamatorias de *Mangifera indica* L. Uno de ellos comparó la disminución en la inflamación del extracto acuoso de la corteza con ácido acetil salicílico en ratas Wistar a las cuales se les indujo inflamación con carragenina en el cojinete plantar, los resultados obtenidos para

ambas sustancias administradas por vía oral, fue el de provocar un efecto antiinflamatorio dosis dependiente.¹⁸

En otro estudio, el extracto acuoso causó la inhibición de la enzima fosfolipasa A₂ asociada a procesos inflamatorios con una concentración de 40 µg/mL de extracto de mango. El grado de inhibición del edema provocado en el cojinete plantar de ratones albinos fue mayor al 95%, con una CI₅₀= 8.1 µg/mL.¹⁹ Además de ser efectivo en la reducción de edemas en ratones, el extracto también reduce la actividad de la enzima mieloperoxidasa (MPO) y disminuye los niveles de factor de necrosis tumoral alfa (TNFα), sustancias reactivas al ácido barbitúrico (TBARS), glutatión y ciclooxigenasa 2 (COX-2) sustancias involucradas en procesos inflamatorios.²⁰

Asimismo, en un ensayo *in vitro* con líneas celulares de macrófagos estimulados con lipopolisacáridos (LPS) e interferón gamma (IFN_γ) el extracto inhibió la producción de PGE₂ y el leucotrieno B₄ (LTB₄) con una CI₅₀= 64.1 µg/mL y CI₅₀= 22.9 µg/mL, respectivamente. La mangiferina uno de los principales componentes presente en el extracto de la corteza de mango tuvo efecto al inhibir la actividad de la enzima fosfolipasa A₂.²¹

2.5.3 Efecto inmunomodulador

El extracto etanólico de la corteza logró tener efecto inmunomodulador al ser probado en un modelo de ratones albinos inmunizados con eritrocitos de carnero vía intraperitoneal, el título de los anticuerpos fue determinado por hemaglutinación. Los animales fueron administrados con extracto de mango a

unas dosis entre 50-800 mg/kg y ocasionaron un aumento significativo en el título de los anticuerpos comparado con un grupo control administrado con solución salina.²² Un efecto contrario, se observó en ratones Balb/c infectados con microsporidios donde el título de los anticuerpos IgG e IgM se mantuvieron constantes antes y después de administrar el extracto de corteza de mango.²³ Además de regular la producción de anticuerpos el extracto modifica la respuesta de hipersensibilidad retardada esto se comprobó al inducir un edema en el cojinete plantar de los ratones, los ratones administrados con una dosis de 400 mg/kg presentaron un edema de mayor diámetro comparados contra un grupo control.²² En ratones Balb/c infectados con *Toxocara canis*, la administración oral del extracto de corteza a una dosis de 50 mg/kg redujo en forma considerable la migración de los eosinófilos en el líquido broncoalveolar y la cavidad intraperitoneal, además redujo la producción de interleucina 5 (IL-5) y eotaxina, citocinas responsables de la proliferación y activación de los eosinófilos.²⁴

Estudios *in vitro* en linfocitos humanos mostraron una disminución de las especies reactivas de oxígeno (ROS) y del calcio intracelular. Ambos se encuentran presentes en el proceso de apoptosis por lo que el uso del extracto de mango presenta actividad protectora contra la muerte celular debido a la presencia de distintos polifenoles con propiedades antioxidantes, entre ellos el que se encuentra en mayor cantidad es la mangiferina.^{25,26}

2.5.4 Efecto hepatoprotector

En un modelo de hepatotoxicidad aguda inducida por tetracloruro de carbono (CCl₄) en ratas Wistar, la administración del extracto de mango en dosis de 125 y 500

mg/kg redujo los marcadores bioquímicos de daño hepático como las aminotransferasas y bilirrubinas totales, además de inhibir el descenso en los valores de albumina y proteínas totales. Por otra parte, con el análisis histopatológico del hígado se observó un efecto protector por parte del grupo que recibió el extracto pues no hubo señales de necrosis.²⁷ Para probar el efecto hepatoprotector del extracto de mango, en un ensayo en células hepáticas de humano (HepG2) las cuales fueron tratadas con amiodarona y t-butilhidroperóxido con el fin de inducir daño celular y después fueron puestas en contacto con el extracto de mango por 24 horas, este ocasiono reducción en los niveles de calcio extracelular y de las ROS ambos marcadores de daño celular en comparación con un grupo de células que no recibieron tratamiento con extracto de mango.²⁸

2.5.5 Actividad antioxidante

El extracto de corteza de mango contiene una gran cantidad de polifenoles (Figura 2) con un potente efecto antioxidante. Entre los polifenoles que se encuentran en mayor proporción en el extracto se encuentran la mangiferina, ácido gálico y las gallotaninas.¹¹

El ensayo de Folin-Ciocalteu mide la capacidad antioxidante de un compuesto mediante la comparación contra un antioxidante estándar como el ácido gálico por medio de espectrofotometría, esta capacidad antioxidante se expresa como equivalentes de ácido gálico por gramo (GAE), el contenido de GAE de los polifenoles presentes en el extracto de mango se encontró entre 63.89-116.80 mg GAE.²⁹

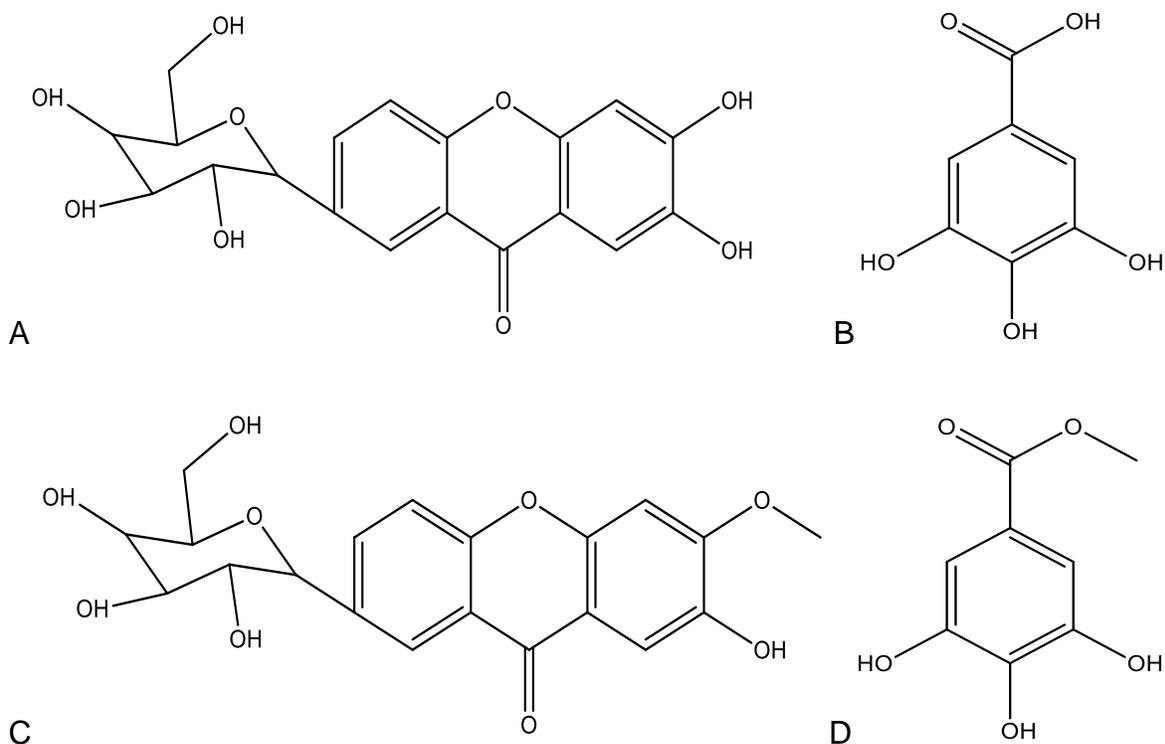


Figura 2. Polifenoles presentes en la corteza de mango, A) Mangiferina, B) Ácido gálico, C) Homomangiferina y D) Metil gálico. (Jiménez-Resparto, 2017, ChemDraw pro 8.0)

El tratamiento con polifenoles presentes en el extracto de mango mostro reducir el daño gástrico inducido con etanol en ratas Wistar con una $CI_{50} = 14.5 \mu\text{g/mL}$ para la actividad de óxido nítrico, exhibiendo así su capacidad antioxidante.³⁰

2.5.6 Actividad antiparasitaria

El extracto de mango fue administrado por vía oral con unas dosis que se encontraron entre los 50 a 500 mg/kg a ratones Balb/c infectados con *Trichinella spiralis*, después de 20 y 35 días de tratamiento la cantidad de larvas enquistadas en el músculo de los ratones disminuyó de manera significativa. Conjuntamente, se cuantificaron anticuerpos de tipo IgE, los resultados evidenciarón una

disminución de este tipo de anticuerpos sugiriendo que el extracto de mango puede ser una alternativa para combatir enfermedades parasitarias.³¹

Igualmente, con la corteza y hojas de *Mangifera indica L.* en combinación con otras plantas se prepara una mezcla de hierbas llamada *Nefang*, dicho preparado presenta actividad antimalaria, en específico al ser evaluado contra las especies de *Plasmodium berguei*, *Plasmodium chabaudi* y *Plasmodium falciparum*.^{32,33}

2.5.7 Actividad anticancerígena

De los distintos compuestos presentes en la corteza de mango, el ácido gálico es el responsable de la actividad anticancerígena, como lo reporta un estudio realizado con líneas celulares MDA-MB231 de cáncer de mama, tanto el extracto de mango como el ácido gálico aislado de dicho extracto mostraron poseer actividad antiproliferativa y citotóxica con una CI_{50} = 259 $\mu\text{g/mL}$ y 10 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.³⁴

En ratones C57BL/6 a los cuales se les indujo un tumor con células MCF-7 de adenocarcinoma de mama humano el tratamiento con mangiferina en dosis de 100 mg/kg redujo el volumen del tumor en un 89.4% y el tratamiento con el fármaco de uso común contra tumores como lo es el cisplatino 10 mg/mL redujo los tumores en un 91.5%.^{35,36} Por tanto, la mangiferina (Figura 3) podría funcionar como una alternativa en el tratamiento de algunos tipos de cáncer.

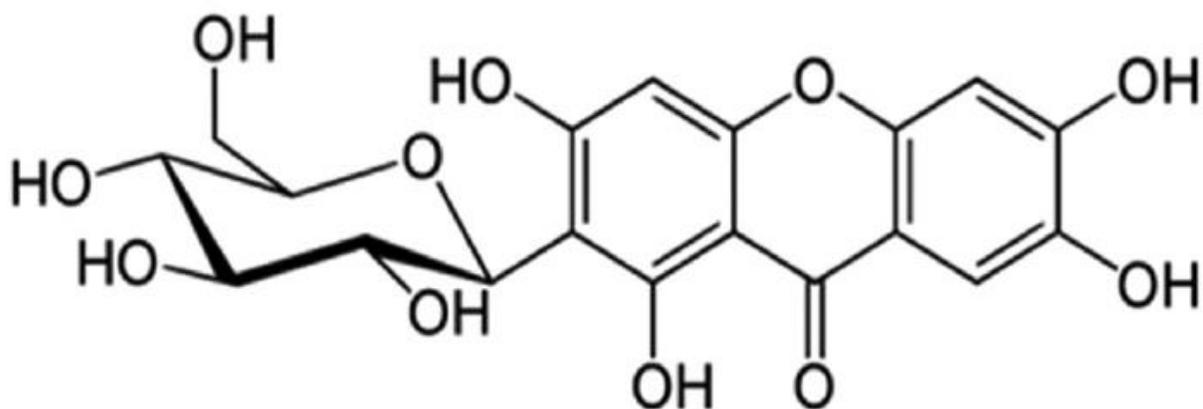


Figura 3. Estructura de la mangiferina.³⁵

El extracto etanólico de las hojas de *Mangifera indica L.* a una concentración de 200 µg/mL exhibió propiedades citotóxicas cuando se expuso a líneas celulares de hepatoblastoma HepG2, carcinoma gástrico y adenocarcinoma de colon.³⁷

En la FES Zaragoza, Castro Pantaleón reportó que el extracto acuoso-etanólico de la corteza de mango tiene actividad citotóxica sobre líneas celulares *HeLa* de cáncer cervicouterino, pero no sobre linfocitos humanos.³⁸

2.6 Toxicidad de *Mangifera indica L.*

La seguridad de extractos obtenidos de *Mangifera indica L.* ha sido explorada en diversos ensayos de toxicidad. Una Dosis del extracto de 2000 mg/kg administrados por vía oral en ratas Sprangle Dawley y ratones OF-1 no mostraron ser letales, así mismo solo se observó piloerección en algunos animales. Al mismo tiempo, este estudio no reportó daños graves después de realizar un análisis histopatológico.³⁹

En ratas Sprangle Dawley, el extracto de la corteza de mango no mostró efectos embriotóxicos, ya que no se reportaron anomalías ni malformaciones en los fetos en un rango de dosis que fueron hasta 200 mg/kg. Tampoco, se observó daño al ADN medido con el ensayo cometa en hepatocitos provenientes de ratones NMRI.⁴⁰

Después de la administración oral del extracto acuoso-etanólico de Nefang, durante 14 días a ratones balb/c en dosis de 5, 50, 1200 y 2000 mg/kg no se ocasionaron muertes ni signos de toxicidad. Asimismo, con una dosis única oral de 5000 mg/kg tampoco se presentaron muertes ni cambios que pudieran dar indicios de toxicidad.³²

En contraste, en un ensayo reciente de toxicidad oral subcrónica realizado en conejos con el extracto metanólico de las hojas de mango reportó un daño en la microarquitectura del corazón, así como un aumento en las concentraciones plasmáticas de la enzima CK-MB que se encuentra estrechamente relacionada con cardiopatías como el infarto al miocardio. También se presentó un aumento en el número de leucocitos en el grupo de conejos al cual se le administró 1500 mg/kg, a diferencia del grupo al cual se le administró una dosis de 500 mg/kg el cual no manifestó ningún efecto tóxico.⁴¹

3. Planteamiento del problema

A nivel mundial el uso de plantas y sus derivados como primera opción o alternativa en el tratamiento de enfermedades es cotidiano sobre todo en países en vías de desarrollo como México. Un ejemplo en particular es el uso de las distintas partes que componen al árbol de mango las cuales se utilizan como tratamiento de enfermedades de tipo respiratorio y gastrointestinal. Además del conocimiento empírico que data de los antiguos pobladores mexicanos resulta importante que la evidencia científica reporta diversas propiedades de interés terapéutico a la corteza de árbol de mango, entre las propiedades se encuentran sus actividades antimicrobiana, antiparasitaria, antiinflamatoria, antioxidante, así como efectos inmunomoduladores, hepatoprotectores y anticancerígenos. Ensayos de toxicidad aguda realizados con el extracto de la corteza de mango demuestran que el extracto es seguro cuando este se administra por vía oral a una dosis de 2000 mg/kg, ya que no se reportaron muertes, ni efectos adversos en los animales de experimentación, tampoco se presentaron indicios de genotoxicidad ni embriotoxicidad.

En contraste, la administración subcrónica del extracto de hojas de mango en conejos ocasiono un aumento en las concentraciones plasmáticas de la enzima CK-MB y un daño en la microarquitectura del corazón. Esta evidencia sugiere que el uso constante del extracto del mango puede tener efectos tóxicos. Así, el presente estudio evaluó la seguridad del extracto de la corteza de *Mangifera indica* L. mediante un ensayo de toxicidad subcrónica a 28 días en dosis orales repetidas en ratas Wistar.

4. Hipótesis

Si se administra el extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* durante 28 días a grupos de ratas Wistar, este extracto no ocasionara toxicidad, evaluada por medio de observaciones clínicas, parámetros hematológicos y bioquímicos.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Evaluar la seguridad del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* mediante un ensayo de toxicidad oral subcrónico de dosis repetidas por 28 días en ratas Wistar.

5.2 Objetivos particulares

- Clasificar botánicamente la corteza de *Mangifera indica L.*
- Obtener el extracto acuoso-etanólico mediante extracciones continuas sólido-líquido.
- Administrar el extracto de la corteza de mango vía oral a los animales de experimentación durante el tiempo de duración del ensayo.
- Reportar las observaciones clínicas con el fin de determinar si la administración del extracto se encuentra asociada a cambios en la conducta de los animales.
- Determinar parámetros bioquímicos y hematológicos para establecer la toxicidad del extracto.

6. Material y métodos

6.1 Diseño del estudio

Ensayo de toxicidad oral sub-crónica a 28 días.

Poblacion: 46 Wistar de 8 semanas de edad

Variable Independiente: Extracto acuoso-etanólico

Variables dependientes: Observaciones clínicas, parámetros hematológicos y bioquímicos.

6.2 Clasificación botánica de *Mangifera indica* L.

La corteza de *Mangifera indica* L. se recolectó en el municipio de Huauchinango, localizado en la sierra norte del estado de Puebla. La clasificación botánica del árbol se realizó en el museo herbario de la FES Zaragoza por el Doctor Eloy Solano Camacho. El espécimen fue añadido a la colección del museo herbario de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza con el número de registro 16961.

6.3 Extracto acuoso-etanólico

La corteza fue secada al rayo del sol y triturada con un molino manual. Para la obtención del extracto, la corteza fue sometida a una extracción sólido-líquido con una mezcla de disolventes etanol-agua en proporción (70:30), durante 6 horas, la mezcla se filtró y el líquido obtenido se concentró en un rotavapor hasta obtener un polvo fino.

Al extracto obtenido se le realizó una prueba cualitativa para determinar la presencia de azúcares. Se empleó un reactivo revelador compuesto por sulfato cérico, ácido molibdíco y ácido sulfúrico en agua. En una placa de vidrio con

orificios, se colocó una gota de muestra del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L. después se agregó una gota el reactivo revelador.

6.4 Animales de experimentación

Los animales de experimentación fueron criados en el bioterio de la FES Zaragoza bajo condiciones estándar. Se utilizaron 46 ratas Wistar de 8 semanas de edad divididas en 23 machos y 23 hembras, estas se mantuvieron a una temperatura de 23 °C +/- 3 °C y una humedad relativa de 50% +/- 10%, sin restricciones de agua ni alimento, con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. En cada jaula, se colocaron un máximo de 5 ratas del mismo sexo y grupo. Todos los animales fueron alimentados con dieta estándar para animales de laboratorio, Teklad Global Diets, (Envigo RMS Inc, Wi, Estados Unidos). El contenido nutricional del alimento fue proteína mínima 18%, grasa mínima 5% y humedad máxima 12%.

6.4 Ensayo de toxicidad oral subcrónico de dosis repetidas a 28 días en ratas Wistar

El ensayo fue realizado siguiendo los lineamientos de la guía 407 “Ensayo de toxicidad oral de dosis repetidas a 28 días en roedores” de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE).⁶ Los animales fueron observados 3 días antes de iniciar el ensayo. Los animales de experimentación fueron asignados aleatoriamente a cada grupo, (Figura 3). El ensayo estuvo constituido por un grupo control (administrado con agua destilada) llamado grupo “A”, un grupo que recibió una dosis del extracto de 100 mg/kg al cual se le asignó el nombre de “B” y un grupo con dosis alta del extracto de 1000 mg/kg, nombrado

“C”. Cada semana, las ratas fueron pesadas para evaluar su crecimiento y ajustar la cantidad de extracto a administrar.

Para evaluar la reversibilidad, la progresión o la aparición retardada del efecto toxico del extracto se realizaron de forma paralela un grupo control satélite, que recibió el nombre de “D” y un grupo experimental a dosis altas (1000 mg/kg) del extracto, llamado “E”.

6.4 Observaciones clínicas

Las ratas fueron pesadas cada semana con el fin de determinar la cantidad del extracto a ser administrado. Cada tercer día, se cuantifico el alimento consumido por jaula y el agua consumida se midió todos los días. A Todas las ratas se les administró el extracto de corteza de mango durante 28 días, transcurrido este tiempo las ratas de los grupos control y experimentales fueron sacrificados. Las ratas en los grupos satélites fueron observadas durante 14 días posteriores a la última administración del extracto y el día 14 fueron sacrificadas.

Las observaciones clínicas realizadas incluyeron: cambios en la piel, cambios en los ojos, cambios en membranas mucosas, excreciones, secreciones, piloerección, respiración anómala, cambios en la marcha, cambios en la postura, respuesta a la manipulación, movimientos clónicos, movimientos tónicos y recorridos en círculos.

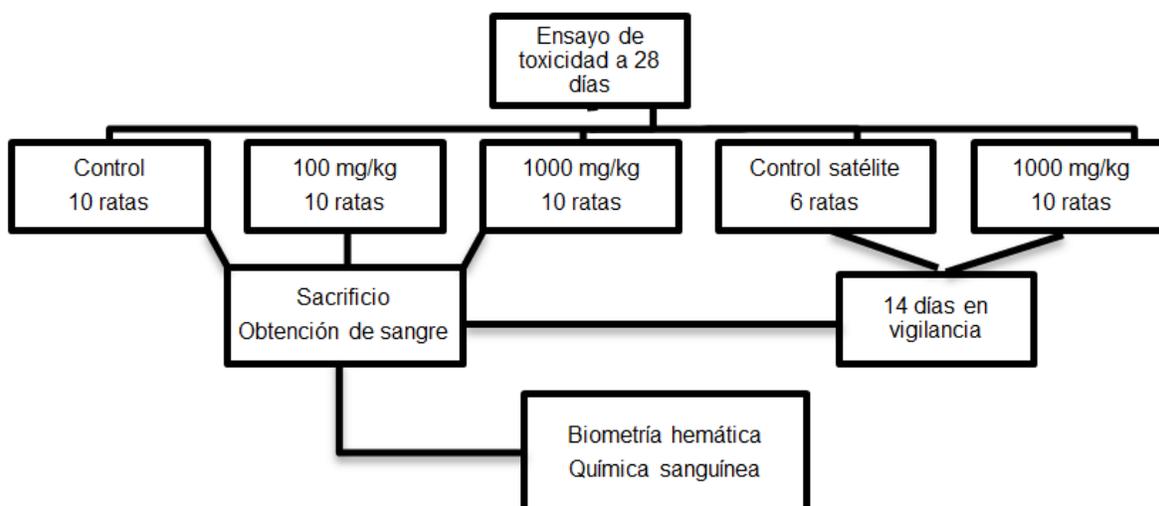


Figura 4. Diagrama general del ensayo de toxicidad.

6.5 Análisis bioquímico y hematológico

Antes del sacrificio, se realizó una punción cardiaca para obtener sangre sin anticoagulante con la que se realizó una química sanguínea y un tubo con citrato de sodio como anticoagulante para determinar los tiempos de coagulación y biometría hemática.

Los parámetros bioquímicos cuantificados en la química sanguínea fueron glucosa, colesterol, triglicéridos, proteínas totales, urea, creatinina, ácido úrico, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), bilirrubinas totales (BT), lactato deshidrogenasa (LDH) y creatina cinasa MB (CK-MB). El análisis bioquímico fue realizado en el Laboratorio Clínico de la Clínica Universitaria de Atención a la Salud Zaragoza con el equipo Cobas C-111 analyzer (Roche, Rotkreuz, Suiza). El tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial activada (TPTa) fueron realizados de forma manual. Las biometrías hemáticas fueron realizadas con el equipo Sysmex XP-300/XP-100

(Sysmex, Kobe, Japón) ubicado en la Clínica Universitaria de Atención a la Salud Estado de México.

6.6 Análisis estadístico

Los resultados de los parámetros bioquímicos y hematológicos se presentan como la media y la desviación estándar (DE) de cada uno de los grupos. Se compararon las medias de cada grupo experimental con respecto a su grupo control mediante el uso de la prueba de t de Student para muestras independientes. Los datos fueron procesados con el programa SPSS versión 22 (IBM, Nueva York, Estados Unidos).

El crecimiento de los animales, así como el consumo de alimento y agua se muestran de forma gráfica. Las diferencias entre los grupos fueron calculadas mediante la prueba de t de Student para muestras independientes. Este análisis se realizó con el programa GraphPad prism 5 (GraphPad Software, California, Estados Unidos).

6.7 Consideraciones éticas

El ensayo de toxicidad se realizó bajo lineamientos de la guía 407 “Ensayo de toxicidad oral de dosis repetidas a 28 días en roedores” de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE). Asimismo, sigue las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Además, el ensayo fue aprobado por el Comité Académico de Carrera con el número de registro FESZ/CACQFB/073/16 (Anexo 12.1).

7. Resultados

7.1 Identificación de azúcares

A la solución de extracto de mango se le realizó un análisis cualitativo por medio de una prueba para la identificación de azúcares. Se empleó una solución de sulfato cérico, ácido molibdíco y ácido sulfúrico en agua, como revelador de azúcares. La presencia de azúcares en la muestra se evidenció con la aparición del color azul (Figura 5).



Figura 5. Imagen de la prueba de identificación de azúcares, el color azul indica la presencia de azúcares en la muestra. El color azul se puede apreciar en la muestra que se encuentra en la posición central de la figura.

7.2 Ensayo de toxicidad oral subcrónico de dosis repetidas a 28 días en ratas

Wistar

7.2.1 Observaciones clínicas

Los animales fueron observados antes y después de la administración del extracto. No se presentaron indicios de cambios en la piel, cambios en los ojos, cambios en membranas mucosas, secreciones, piloerección, respiración anómala, cambios en la marcha, cambios en la postura, respuesta a la manipulación, movimientos

clónicos, movimientos tónicos y recorridos en círculos. Las señales evaluadas que dieron indicios de que la administración del extracto de mango no modificó la conducta de los animales.

7.2.1.1 Consumo de agua

Las ratas incluidas en los grupos experimentales consumieron mayor cantidad de agua durante el ensayo en comparación con sus respectivos grupos controles, $p < 0.001$, (Figuras 6 y 7). El consumo de agua mostró un patrón dependiente de dosis ya que los animales que recibieron una dosis mayor del extracto (1000 mg/kg) presentaron mayor consumo de agua.

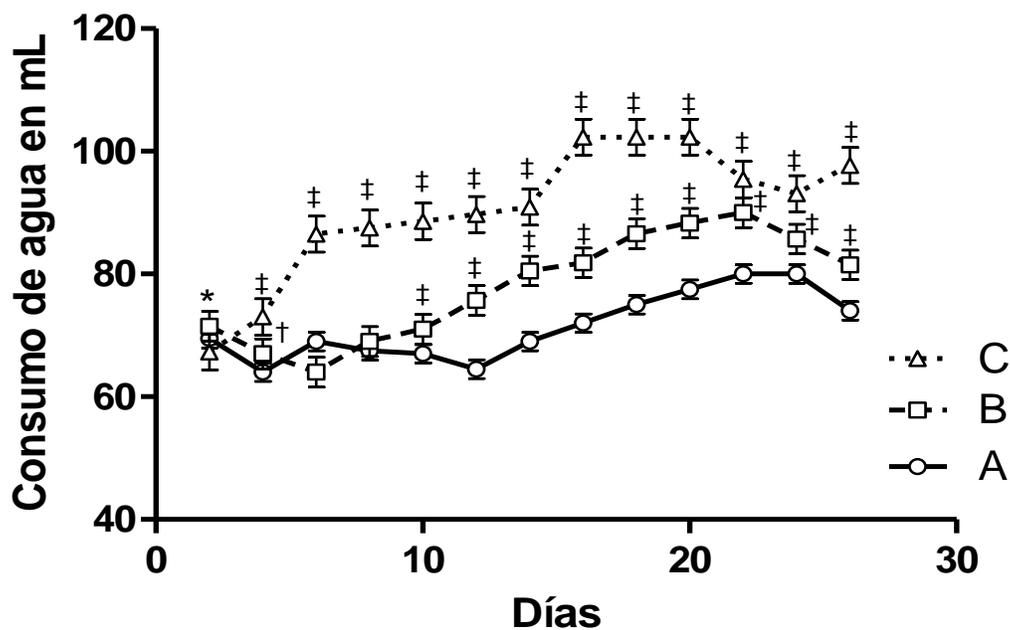


Figura 6. Grafica que muestra el consumo de agua de los grupos A, B y C. * t de Student $p < 0.05$ vs A † t Student $p < 0.01$ vs A, ‡ t Student $p < 0.001$ vs A

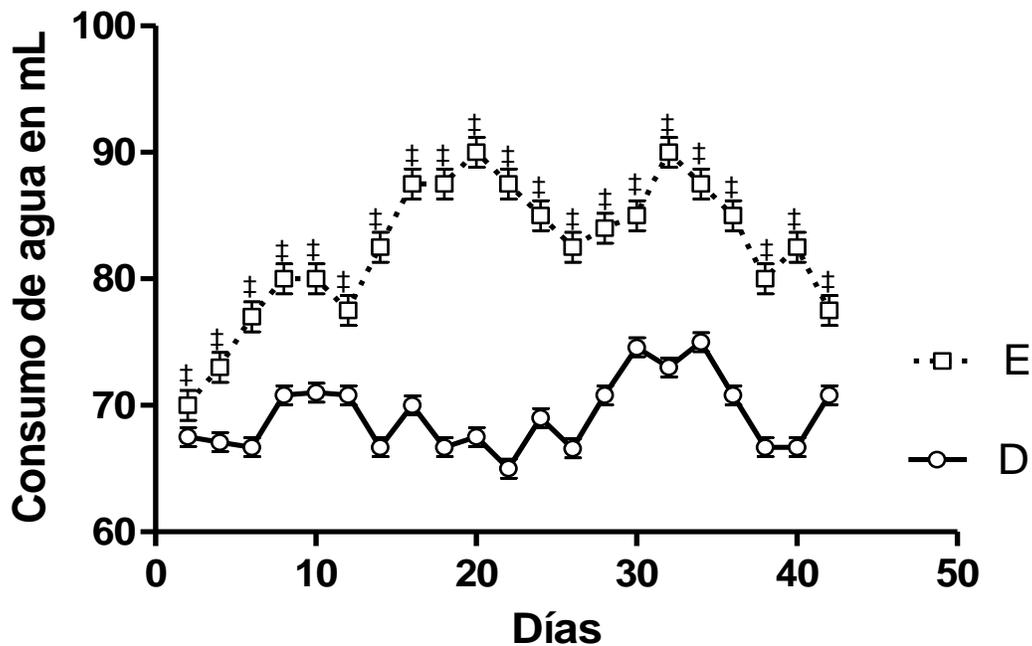


Figura 7. Grafica que muestra el consumo de agua de los grupos D y E. † t de Student $p < 0.001$ vs D.

7.2.1.2 Consumo de alimento

De forma similar, los animales asignados a los grupos experimentales consumieron mayor cantidad de alimento en comparación con los controles (Figuras 8 y 9). El efecto de mayor consumo persiste después de finalizar la administración del extracto (Figura 8). Como sucede con el consumo de agua, la ingesta de alimento presenta un patrón dosis dependiente ya que los animales incluidos en los grupos con mayores dosis mostraron un mayor consumo de alimento.

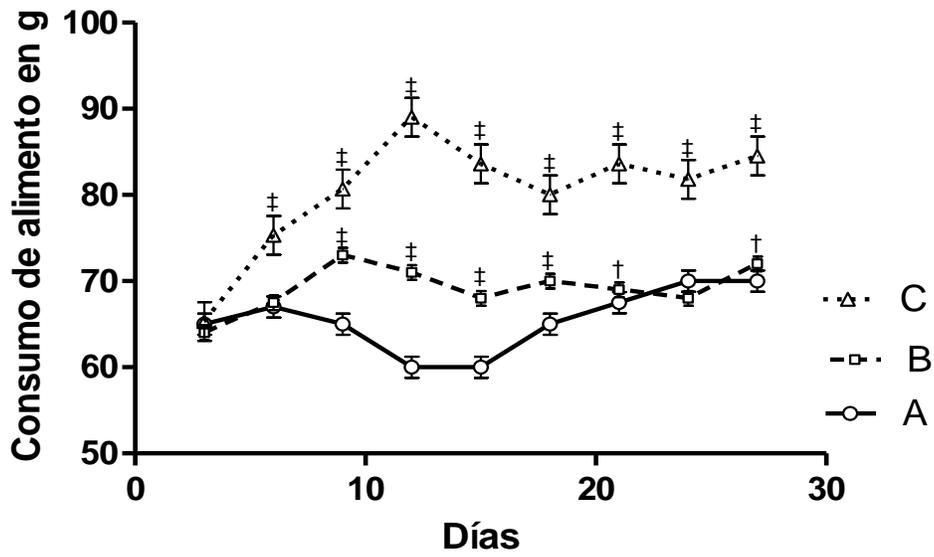


Figura 8. Grafica que muestra el consumo de alimento de los grupos A, B y C. † t de Student $p < 0.01$ vs A, ‡ t de Student $p < 0.001$ vs A.

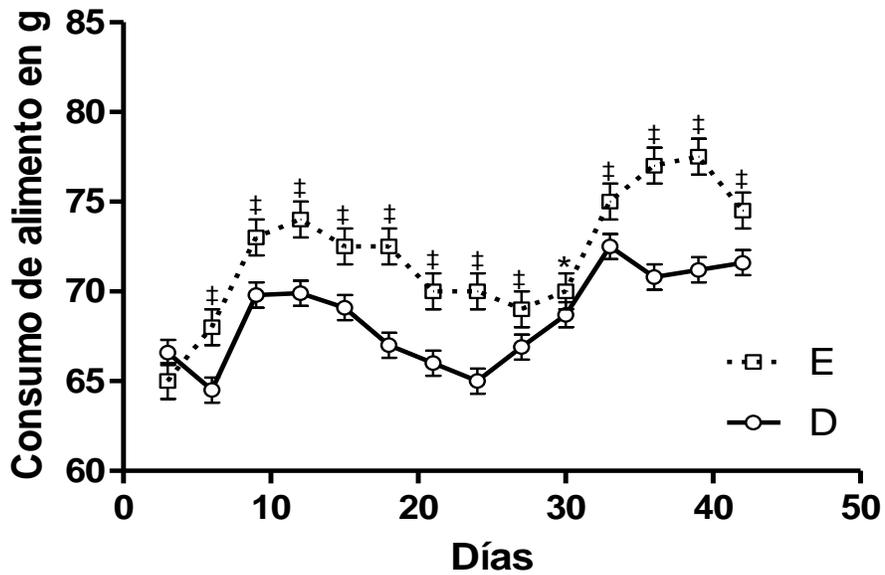


Figura 9. Grafica que muestra el consumo de alimento de los grupos D y E. * t de Student $p < 0.05$ vs D, † t de Student $p < 0.01$ vs D, ‡ t de Student $p < 0.001$ vs D.

7.2.1.3 Peso corporal

En el caso del peso corporal, los grupos que recibieron el extracto aumentaron más de peso. Se observa como a partir de la primera semana los grupos B y C presentan un peso corporal mayor que el grupo A, $p < 0.001$, (Figura 10).

Resultados similares se observaron en el grupo experimental satélite, a partir de la primera semana de administración las ratas que recibieron el extracto mostraron aumentar más de peso corporal en comparación a las ratas asignadas al grupo control satélite, $p < 0.05$, (Figura 11). De forma interesante, esta diferencia en el crecimiento de las ratas se mantuvo después de terminar la administración del extracto.

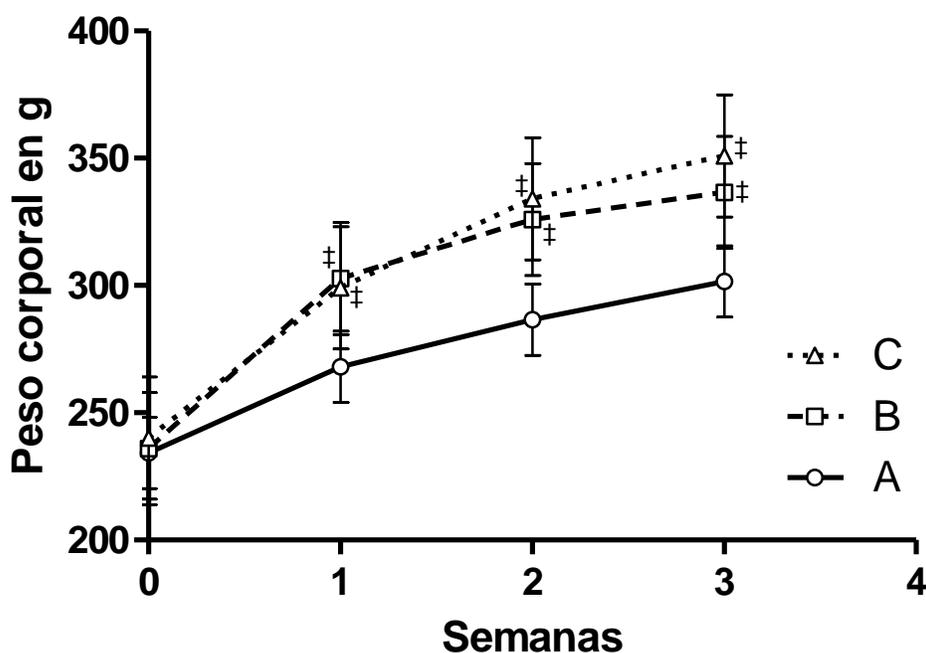


Figura 10. Grafica que muestra el peso de los animales, grupos A y B y C. † t de Student $p < 0.001$ vs A.

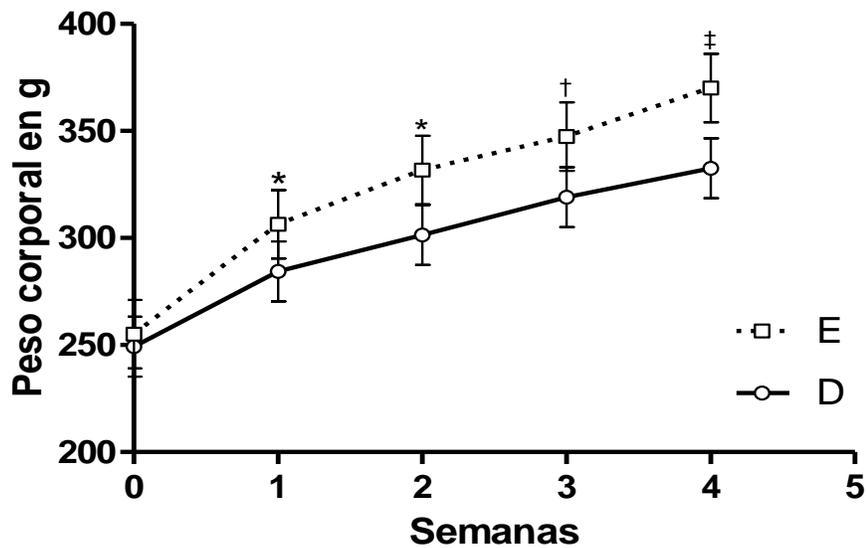


Figura 11. Grafica que muestra el peso de los animales, de los grupos D y E. * t de Student $p < 0.05$ vs D, † t de Student $p < 0.01$ vs D, ‡ t de Student $p < 0.001$ vs D.

7.2.3 Parámetros bioquímicos

7.2.3.1 Biometría hemática y tiempos de coagulación

Los resultados de las determinaciones hematológicas se describen en los Cuadros 1 y 2. No se observaron diferencias en la cuenta de leucocitos, así como en los porcentajes de neutrófilos y linfocitos entre los grupos a 28 días. Los resultados en la serie blanca se reproducen en los grupos satélite.

Dentro de la serie roja, no se observaron diferencias en la hemoglobina, el hematocrito, hemoglobina corpuscular media y en la amplitud de la distribución de eritrocitos. No obstante, la cuenta de eritrocitos y la concentración de hemoglobina corpuscular media fueron mayores en el grupo experimental con una dosis de 1000 mg/kg, mientras que el volumen corpuscular medio fue mayor en el grupo

experimental con una dosis a 100 mg/kg. En el grupo experimental satélite, la hemoglobina corpuscular media fue mayor.

La cuantificación de plaquetas y la amplitud de la distribución de plaquetas fueron mayores en el grupo experimental a dosis de 1000 mg/kg. En el grupo satélite experimental solo la amplitud de la distribución de las plaquetas fue mayor con respecto a su control. En cuanto a los tiempos de coagulación, el TPTa fue menor en el grupo con una dosis de 1000 mg/kg, mientras que en el grupo experimental satélite el TP fue mayor con respecto a su grupo control.

Aunque se observaron diferencias en distintos parámetros hematológicos tanto en los grupos experimentales a 28 días como en los grupos satélite, ninguno de los parámetros se encuentra fuera de los valores de referencia descritos para ratas Wistar.⁴²

7.2.3.2 Química sanguínea

Los resultados de los parámetros bioquímicos evaluados en la química sanguínea se muestran en los Cuadros 3 y 4. Los animales incluidos en los grupos experimentales a 28 días muestran que la administración del extracto eleva los niveles séricos de glucosa en comparación con los animales que no recibieron el extracto ($p < 0.05$). La hiperglucemia inducida por el extracto mostró progresión a pesar al término de la administración del extracto, tal como se observa en el grupo experimental satélite ($p < 0.05$). Otros parámetros bioquímicos que mostraron diferencias significativas fueron triglicéridos y urea para el grupo con dosis de 100 mg/kg, entretanto el colesterol fue menor para el grupo con dosis de 1000 mg/kg.

Cuadro 1. Valores hematológicos entre los grupos A, B y C

Parámetro	A	B	C
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)
Leucocitos, X10 ³ µL	5.03 (2.75)	5.42 (2.02)	5.68 (1.76)
Eritrocitos, X10 ⁶ µL	6.32 (1.23)	6.44 (1.12)	7.35 (0.55)*
Hemoglobina, g/dL	13.45 (2.22)	13.67 (2.27)	14.71(0.75)
Hematocrito, %	40.01 (6.73)	41.10 (7.05)	44.62 (2.86)
VCM, fL	61.83 (2.33)	63.89 (1.08)*	60.86 (1.45)
HCM, pg	20.79 (0.96)	21.27(0.45)	20.11 (0.80)
CHCM, g/dL	33.61 (0.58)	33.30 (0.33)	33.00 (0.61)*
Plaquetas, X10 ³ µL	423.6 (158.3)	559.5 (192.8)	657.1 (151.4)*
Linfocitos, %	77.65 (5.57)	81.07 (5.11)	79.97 (8.65)
Neutrófilos, %	22.35 (5.57)	19.93 (5.11)	20.02 (8.65)
ADE, fL	31.57 (1.06)	31.44 (3.94)	31.99 (2.37)
ADE, %	12.57 (1.14)	12.34 (0.96)	14.01 (1.0)**
ADP, fL	7.43 (0.76)	7.70 (0.64)	8.18 (0.27)**
Tiempos de coagulación			
TP, seg	20.2 (2.3)	19.8 (2.0)	19.0 (2.4)
TTPa, seg	38.8 (1.7)	36.4 (3.5)	31.1 (3.6)***

ADE, amplitud de la distribución de eritrocitos; ADP, amplitud de la distribución de plaquetas; CHCM, Concentración de hemoglobina corpuscular media; HCM, hemoglobina corpuscular media; TP, tiempo de protrombina; TTPa, tiempo de tromboplastina parcial activada; VCM, volumen corpuscular medio. *t de Student $p < 0.05$ vs A, **t de Student $p < 0.01$ vs A, ***t de Student $p < 0.001$ vs A.

Cuadro 2. Valores hematológicos entre los grupos D y E.

Parámetro	D	E
	Media (DE)	Media (DE)
Leucocitos, X10 ³ µL	6.78 (2.17)	4.77 (2.99)
Eritrocitos, X10 ⁶ µL	7.31 (0.39)	6.49 (1.23)
Hemoglobina, g/dL	14.46 (0.81)	13.31 (2.21)
Hematocrito, %	42.61 (2.66)	38.44 (7.35)
VCM, fL	58.26 (0.67)	59.15 (1.31)
HCM, pg	19.76 (0.15)	20.63 (0.89)*
CHCM, g/dL	33.90 (0.27)	34.86 (1.39)
Plaquetas, X10 ³ µL	720.5 (83.9)	513.5 (166.4)*
Linfocitos, %	81.90 (3.58)	84.81 (3.28)
Neutrófilos, %	18.10 (3.58)	15.19 (3.28)
ADE, fL	28.60 (4.61)	32.58 (3.12)
ADE, %	17.01 (5.19)	13.79 (0.09)
ADP, fL	6.98 (0.22)	7.80 (0.48)**
Tiempos de coagulación		
TP, seg	19.0 (1.6)	21.9 (1.6)**
TTPa, seg	33.6 (3.4)	33.4 (2.6)

ADE, amplitud de la distribución de eritrocitos; ADP, amplitud de la distribución de plaquetas; CHCM, Concentración de hemoglobina corpuscular media; HCM, hemoglobina corpuscular media; TP, tiempo protrombina; TTPa, tiempo de tromboplastina parcial activada; VCM, volumen corpuscular medios. *t de Student $p < 0.05$ vs D, **t de Student $p < 0.01$ vs D.

Cuadro 3. Parámetros bioquímicos entre los grupos A, B y C

Parámetro	A	B	C
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)
Creatinina, mg/dL	0.42 (0.07)	0.46 (0.09)	0.43 (0.08)
Triglicéridos, mg/dL	93.70 (22.11)	128.50 (41.06)*	85.5 (21.4)
Glucosa, mg/dL	175.80 (22.81)	225.50 (68.97)*	247.27 (96.7)*
Urea, mg/dL	34.08 (3.98)	40.57 (5.57)**	37.02 (3.87)
Albúmina, mg/dL	4.49 (0.42)	4.52 (0.18)	4.47 (0.47)
Colesterol, mg/dL	95.90 (12.19)	97.60 (10.42)	78.42 (10.22)*
PT, g/Dl	6.20 (0.44)	6.36 (0.32)	6.29 (0.50)
AST, U/L	131.17 (54.21)	100.47 (44.23)	129.60(47.17)
ALT, U/L	50.29 (12.70)	46.12 (10.08)	49.09 (7.25)
CK-MB, U/L	416.48 (192.27)	485.44 (207.48)	574.52 (189.3)
BT, mg/Dl	0.11 (0.03)	0.08(0.06)	0.10 (0.10)
LDH, U/L	647.2 (280.24)	464.6(173.04)	534.52(224.28)

ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; BT, bilirrubina total; CK-MB, creatina cnasa MB; LDH, lactato deshidrogenasa; PT, proteínas totales. *t de Student $p < 0.05$ vs A, **t de Student $p < 0.01$ vs A.

Para los parámetros proteínas totales, urea, creatinina, ácido úrico, AST, ALT, BT, LDH y CK-MB no hubo diferencias entre los grupos a 28 días. En el grupo satélite experimental el colesterol y la ALT fueron mayores con respecto al control, mientras que la creatinina fue menor. Sin embargo, con excepción de la glucosa, ninguno de los parámetros bioquímicos exhibió valores superiores a lo reportado previamente para ratas Wistar.⁴²

Cuadro 4. Parámetros bioquímicos entre los grupos D y E

Parámetro	D	E
	Media (DE)	Media (DE)
Creatinina, mg/dL	0.47 (0.10)	0.37 (0.06)*
Triglicéridos, mg/dL	113.67 (41.43)	170.50 (79.37)
Glucosa, mg/dL	194.33 (13.38)	317.10 (111.73)*
Urea, mg/dL	37.88 (4.72)	36.86 (3.05)
Albúmina, mg/dL	4.28 (0.38)	4.32 (0.31)
Colesterol, mg/dL	75.12 (4.01)	81.20 (5.39)*
PT, g/Dl	5.96 (0.53)	6.31 (0.27)
AST, U/L	94.89(19.03)	147.25(54.18)
ALT, U/L	44.00 (6.02)	59.03 (7.94)**
CK-MB, U/L	374.66 (109.76)	612.66 (247.06)
BT, mg/Dl	0.06 (0.05)	0.07 (0.09)
LDH, U/L	377.43 (133.44)	601.62(248.49)

ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; BT, bilirrubina total; CK-MB, creatina cinasa MB; LDH, lactato deshidrogenasa; PT, proteínas totales. *t de Student $p < 0.05$ vs D, **t de Student $p < 0.01$ vs el D.

7.2.3.3 Efecto hiperglicémico

A continuación se muestra de forma gráfica el efecto hiperglicémico producido por la administración del extracto acuoso-etanólico en los grupos de animales que fueron administrados por 28 días (Figura 12). El efecto hiperglicémico se reproduce en los grupos satélite, mostrando progresión una vez que dejó de administrarse el extracto acuoso-etanólico por 14 días (Figura 13).

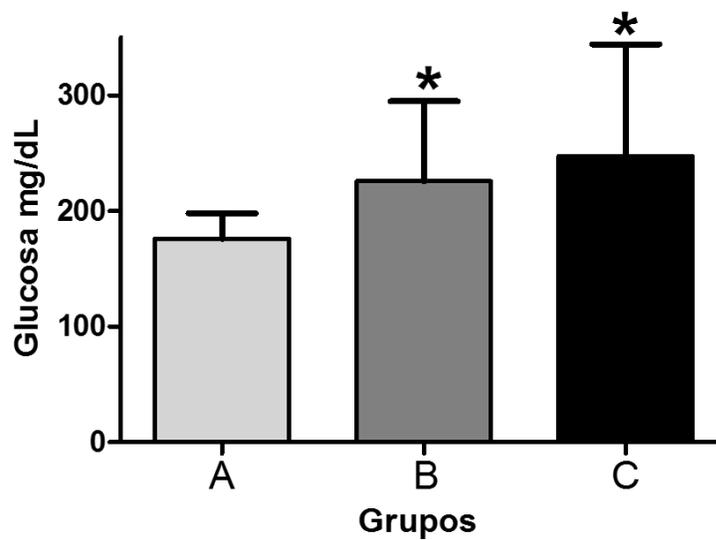


Figura 12. Niveles de glucosa en mg/dL de los grupos A, B y C. *t de Student $p < 0.05$ vs A.

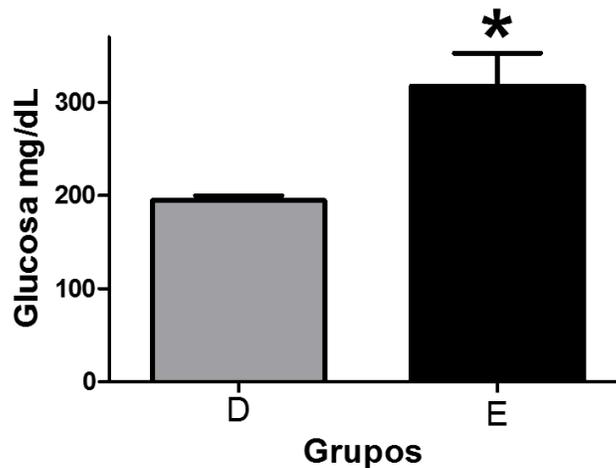


Figura 13. Niveles de glucosa en mg/dL de los grupos D y E. *t de Student $p < 0.05$ vs D.

8. Discusión

La medicina tradicional representa una fuente importante de recursos terapéuticos que contribuyen a mantener y alcanzar el estado de salud. El 80% de la población recurre a su uso como una alternativa de tratamiento a los medicamentos convencionales.^{43,44} Sin embargo, existen pocos reportes sobre los efectos adversos que presentan las plantas medicinales en el organismo.⁴³

A pesar del uso de la corteza de *Mangifera indica L.* en la medicina tradicional para tratar enfermedades gastrointestinales y respiratorias. Además, de las propiedades terapéuticas reportadas, existen pocos estudios que abordan la toxicidad de esta planta, ninguno en nuestro país. En el presente estudio se evaluó la toxicidad del extracto acuso-etanólico de la corteza de mango, por medio de un ensayo subcrónico a 28 días de dosis orales repetidas en ratas Wistar. La administración del extracto no modifico la conducta de los animales, ni causo muertes. En el mismo orden de ideas, estudios reportan que con una dosis única de 5000 mg/kg de la mezcla de corteza y hojas de *Mangifera indica L.* en combinación con otras plantas (*Nefang*), no provocó la muerte a ratones balb/c,³² además, la administración de extracto metanólico de las hojas del árbol de mango en dosis de hasta 1500 mg/kg resulto no ser mortal en conejos.⁴¹

Los marcadores de función hepática evaluados en el presente estudio como las enzimas AST, ALT, proteínas totales, albumina, bilirrubina, total y tiempos de coagulación fueron similares entre los grupos control y experimentales, lo que sugiere que la administración subcrónica del extracto de mango no induce hepatotoxicidad.

En reportes previos se ha comprobado que algunas hierbas o mezclas de hierbas utilizados en la medicina tradicional china ocasionan hepatotoxicidad.⁴⁵⁻⁴⁷ Por ejemplo el consumo de extracto de té verde (*Camellia sinensis*) en el alimento al 1% P/P en ratones C57BL durante 6 semanas causa inflamación del hígado y aumento en las concentraciones séricas de las enzimas AST y ALT, en comparación con el grupo de animales que consumió dieta sin extracto de té verde.⁴⁸ En el caso de América Latina, se han reportado que el uso de algunas plantas tienen propiedades tóxicas.⁴⁹ Así, el uso de la menta (*Mentha spicata*), en un estudio donde fue administrada por medio del consumo de agua (40 g/L) a ratas Wistar, durante treinta días, elevó los niveles a las enzimas AST y ALT de manera significativa.⁵⁰

Los grupos que recibieron el extracto de mango durante el presente ensayo no mostraron daño renal medido mediante las concentraciones séricas de urea y creatinina al compararse con sus respectivos grupos control.

En contraste, el empleo de algunas plantas medicinales se asocia con la aparición de nefrotoxicidad. Estudios realizados en ratas Wistar administradas durante 28 días con extracto etanólico de las hojas de *Caesalpinia Bonduc* (400 mg/kg) y extracto metanólico de la corteza de *Pteleopsis hylodendron* (170 mg/kg), elevaron los niveles de urea y creatinina de manera significativa respecto al grupo de ratas control que no recibió el extracto.^{51,52}

El consumo de azúcares durante un periodo prolongado de tiempo produce un incremento en el peso corporal y porcentaje grasa abdominal en ratas Wistar en

comparación con las que no lo consumen. Así se demuestra en un estudio donde durante 8 semanas un grupo control de ratas Wistar recibió alimento estándar para animales de laboratorio (3.5 kcal/g), en contraste con otro grupo de animales que consumió una dieta enriquecida en fructosa (4 kcal/g), el alimento con fructosa provocó en las ratas un aumento significativo de glucosa, grasa abdominal y triglicéridos en comparación con el grupo control.⁵³ Resultados similares, fueron reportados en ratas Wistar que recibieron por medio del consumo de agua, dieta enriquecida en fructosa (20% P/V) durante 6, 12 y 21 semanas.^{54,55} Asimismo, la administración de agua con fructosa al 10% P/V durante 24 semanas a ratas Wistar ocasionó un aumento en el consumo de agua y la elevación de los niveles de insulina plasmática, a diferencia del grupo de animales que recibió agua sin fructosa.⁵⁶ Esta evidencia, nos hace suponer que el aumento en el peso corporal, las concentraciones séricas de glucosa, el consumo de agua y de alimento en los animales que recibieron el extracto de corteza de *Mangifera indica L.* tiene su origen en el consumo de carbohidratos adicionales presentes en el extracto que inducen cambios metabólicos en las ratas de los grupos experimentales que conllevan a mayor peso corporal y a la hiperglicemia. En apoyo a esta idea, el aumento de la glucosa sérica presentó un patrón dosis-dependiente (Cuadro 3). Se ha reportado que los flavonoides son parte de la composición química de las hojas, semillas, cascara y corteza de *Mangifera indica L* (Figura 2).¹¹ Una evidencia previa demostró que la administración del extracto acuoso de la corteza del árbol de pan (*Artocarpus comunis*), planta que contiene diversos flavonoides, en ratas Wistar se observó un aumento en los niveles de glucosa en la sangre, una disminución en el peso del páncreas, disminución en la concentración de insulina

sérica y pancreática, en comparación con el grupo control que no recibió el extracto.^{57,58} Un efecto similar podría explicar el efecto hiperglucémico del extracto de corteza de mango.

Otros casos reportados de la inducción de un desorden metabólico por parte de la administración de un compuesto de origen natural incluyen al extracto etanólico de la corteza de árbol de nim (*Azadirachta indica*) administrado a ratas Wistar ocasiono en los animales un aumento en su nivel de colesterol.⁵⁹ Resultados similares se reportaron por la administración extracto acuoso de *Bulbine natalensis* al inducir hipercolesterolemia en ratas Wistar.⁶⁰ En contraste, en el ensayo realizado no se observó un cambio en el nivel de colesterol de los animales que pudiera asociarse con la administración del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L.

El extracto etanólico de las hojas del árbol de Perú (*Schinus molle*) administrado a ratones CF9 en dosis de 1000 mg/kg/día, durante 90 días, no modifico los niveles plasmáticos de creatinina, urea, AST, ALT y colesterol, al compararse con grupo control que no recibió el extracto.⁶¹ De la planta llamada cártamo (*Carthamus tinctorius*) se obtuvo el extracto acuoso-etanólico, rico en flavonoides, el cual fue administrado a ratas Sprague Dawley, durante un periodo de 4 semanas en dosis de hasta 500 mg/kg/día, en dicho estudio los parámetros bioquímicos evaluados que no tuvieron diferencia con el grupo de animales control fueron: AST, ALT, bilirrubinas totales, albumina, urea, creatinina, triglicéridos, colesterol y CK. No fue el caso de la glucosa que se elevó de manera significativa en el grupo de animales que recibió el extracto de cártamo.⁶²

Por otra parte, estudios previos que evaluaron el extracto acuoso-etanólico de *Valeriana jatamansi* en ratas Sprague Dawley (1200 mg/kg),⁶³ el extracto acuoso-etanólico de *Ferula gummosa* en ratas Wistar (100 mg/kg),⁶⁴ el extracto acuoso de *Dipsacus asperoides* en ratas F344 (2000 mg/kg)⁶⁵ y el extracto acuoso de *Maydis stigma* en ratones Kunming (10000 mg/kg)⁶⁶ no modificaron los valores de los parámetros bioquímicos AST, ALT, bilirrubinas totales, albumina, urea, creatinina, triglicéridos, colesterol, proteínas totales y albúmina al compararse con el grupo de animales control que no recibió extracto. En el caso del estudio con el extracto acuoso-etanólico de *Ferula gummosa* solo se midió AST, ALT, colesterol, urea, creatinina y bilirrubinas totales.⁶⁴ En los estudios antes citados se reporta que no existe diferencia en los resultados de la biometría hemática entre los grupos de animales que recibieron los distintos extractos y los grupos controles que no lo recibieron.

9. Conclusiones

- A partir de la corteza de *Mangifera indica L.* se obtuvo el extracto con la presencia de azúcares en su composición.
- El extracto acuoso etanólico de corteza de árbol de mango administrado durante 28 días induce mayor consumo de agua y alimento en ratas Wistar, así como el aumento de peso corporal.
- La administración vía oral del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* durante 28 días induce hiperglucemia dosis-dependiente en ratas Wistar.
- La hiperglucemia inducida por el extracto de corteza de mango progresa una vez que deja de administrarse por 14 días.
- Los parámetros hematológicos y bioquímicos de evaluados a excepción de la glucosa no sufrieron modificación a causa de la administración del extracto de corteza de mango, a ratas Wistar.

10. Perspectivas

- Aislar, identificar y caracterizar los posibles compuestos responsables del efecto hiperglucémico del extracto de mango. Además, realizar la evaluación biológica de los compuestos obtenidos.
- Realizar el ensayo de toxicidad subcrónico a 90 días e incluir en los parámetros bioquímicos a evaluar la medición de amilasa pancreática.
- Registrar el peso de algunos órganos seleccionados, entre los cuales se incluya al páncreas y llevar a cabo el análisis histopatológico en busca de signos de daño ocasionado por la administración del extracto de mango.

11. Referencias

1. Biblioteca de la medicina tradicional mexicana 2009 [citado 24 de enero 2017], disponible en: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/intro_atlas.html.
2. Organización Mundial de la Salud. Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la medicina tradicional [citado 24 de enero 2017]. disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s4930s/s4930s.pdf>.
3. Cortez-Gallardo V, Macedo-Ceja JP, Hernández-Arroyo M, Arteaga-Aureoles G, Espinosa-Galván D, Rodríguez-Landa JF. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. *Rev biomed*. 2004; 15: 123-36.
4. Chávez AH. Farmacología general: una guía de estudio, México DF: McGraw-Hill Interamericana; 2014. pp 15-18.
5. Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Portolés A. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 18 Edición. Madrid España: Panamericana; 2008.
6. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico. Guía 420. Ensayo de toxicidad oral aguda de dosis fijas. 2001. [citado 24 de enero 2017], disponible en: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing>.
7. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico. Guía 407. Ensayo de toxicidad oral de dosis repetidas a 28 días en roedores. 2008. [citado 24 de enero 2017], disponible en: <http://www.oecd.org/env/test-no-407-repeated-dose-28-day-oral-toxicity-study-in-rodents-9789264070684-en.htm>.
8. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico. Guía 408. Ensayo de toxicidad oral de dosis repetidas a 90 días en roedores. 1998. [citado 24 de enero 2017], disponible en: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing>.
9. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico. Guía 452. Ensayo de toxicidad crónico. 2009. [citado 24 de enero 2017], disponible en: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing>.
10. Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Social, Pesca y Alimentación. Atlas agroalimentario 2016 [citado 24 de enero 2017]. disponible en: <https://www.gob.mx/siap>.
11. Barreto JC, Trevisan MT, William EH, Erben G, De-Brito E, Pfundstein B, et al. Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark, Kernel, Leaves, and Peel of Mango (*Mangifera indica* L.). *J Agric Food Chem*. 2008; 56:5599–5610.
12. Shaheen N, Lu Y, Geng P, Shao , Wei Y. Isolation of four phenolic compounds from *Mangifera indica* L. flowers by using normal phase combined with elution extrusion two-step high speed countercurrent chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2017; 1046:211-217.

13. Nguyen HX, Van-Do TN, Le TH, Thi-Nguyen MT, Nguyen NT, Esumi H, *et al.* Chemical constituents of *Mangifera indica* and their antiausterity activity against the PANC-1 human pancreatic cancer cell line. *J Nat Prod.* 2016; 1-7.
14. Abdel-Mageed WM, Bayoumi A.H, Chen C, Vavricka CJ, Li L, Malik AM, *et al.* Benzophenone C-glucosides and gallotannins from mango tree stem bark with broad-spectrum anti-viral activity. *Bioorg Med Chem.* 2014; 22(7): 2236-43.
15. Daburr R. Gupta A, Mandal TK, Singh DD, Bajpai V, Gurav AM, Lavekar GS. Antimicrobial activity of some Indian medicinal plants. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2007;4(3):313-8.
16. Engels C, Schieber A, Ganzle MG. Inhibitory spectra and modes of antimicrobial action of gallotannins from mango kernels (*Mangifera indica* L.). *Appl Environ Microbiol.* 2011; 77(7):2215-23.
17. Singh R, Singh SK, Maharia RS, Garg AN. Identification of new phytoconstituents and antimicrobial activity in stem bark of *Mangifera indica* (L.). *J Pharm Biomed Anal.* 2015;105:150-5.
18. Oluwole OG, Esume C. Anti-inflammatory effects of aqueous extract of *Mangifera indica* in Wistar rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2015; 26(3):313-5.
19. Bhadrappura LD, Sudharshan S. The anti-inflammatory activity of standard aqueous stem bark extract of *Mangifera indica* L. as evident in inhibition of Group IA sPLA2. *An Acad Bras Cienc.* 2016; 88(1):197-209.
20. Márquez L, Pérez-Nievas BG, Gárate I, García-Bueno B, Madrigal J, Menchén L, *et al.* Anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract in a model of colitis. *World J Gastroenterol.* 2010; 16(39):4922-31.
21. Garrido G, Lemusa Y, García D, Lodeiro L, Quintero G, Delporte C, *et al.* In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG®). *Pharmacol Res.* 2004; 50(2):143-9.
22. Neelam M, Subhash B, Vinod R. Immunomodulatory activity of alcoholic extract of *Mangifera indica* L. in mice. *J Ethnopharmacol.* 2001; 78(2-3):133-7.
23. García D, Leiro J, Delgado J, Sanmartín ML, Ubeira FM. *Mangifera indica* L. Extract (Vimang) and Mangiferin Modulate Mouse Humoral Immune Responses. *Phytother Res.* 2003; 17: 1182-7.
24. Sa-Nunes A, Rogerio AP, Medeiros AI, Fabris VE, Andreu GP, Rivera DG, *et al.* Modulation of eosinophil generation and migration by *Mangifera indica* L. extract (Vimang). *Int Immunopharmacol.* 2006; 6(9):1515-23.
25. Hernandez P, Rodriguez PC, Delgado R, Walczak H. Protective effect of *Mangifera indica* L. polyphenols on human T lymphocytes against activation-induced cell death. *Pharmacol Res.* 2007; 55(2):167-73.

26. Hernandez P, Delgado R, Walczak H. *Mangifera indica* L. extract protects T cells from activation-induced cell death. *Int Immunopharmacol.* 2006; 6(9):1496-505.
27. Adeneye AA, Awodele O, Aiyeola SA, Benebo AS. Modulatory potentials of the aqueous stem bark extract of *Mangifera indica* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *J Tradit Complement Med.* 2015; 5(2):106-15.
28. Tolosa L, Rodeiro I, Donato MT, Herrera JA, Delgado R, Castell JV, *et al.* Multiparametric evaluation of the cytoprotective effect of the *Mangifera indica* L. stem bark extract and mangiferin in HepG2 cells. *J Pharm Pharmacol.* 2013; 65(7):1073-82.
29. Sultana B, Hussain Z, Asif M, Munir A. Investigation on the Antioxidant Activity of Leaves, Peels, Stems Bark, and Kernel of Mango (*Mangifera indica* L.). *J Food Sci.* 2012; 77(8):849-52.
30. Priya TT, Sabu MC, Jolly CI. Role of *Mangifera indica* bark polyphenols on rat gastric mucosa against ethanol and cold-restraint stress. *Nat Prod Res.* 2011; 25(8):815-26.
31. García D, Escalante M, Delgado R, Ubeira FM, Leiro J. Anthelmintic and Antiallergic Activities of *Mangifera indica* L. Stem Bark Components Vimang and Mangiferin. *Phytother Res.* 2003; 17(10):1203-8.
32. Tarkang PA, Okalebo FA, Ayong LS, Agbor GA, Guantai AN. Anti-malarial activity of a polyherbal product (Nefang) during early and established Plasmodium infection in rodent models. *Malar J.* 2014; 13:456-467.
33. Arrey-Tarkang P, Franzoi KD, Lee S, Lee E, Vivarelli D, Freitas-Junior L, *et al.* In vitro antiplasmodial activities and synergistic combinations of differential solvent extracts of the polyherbal product, Nefang. *Biomed Res Int.* 2014; 1-11.
34. García-Rivera D, Delgado R, Bougarne N, Haegeman G, Berghe WV. Gallic acid, indanone, and mangiferin xanthone are strong determinants of immunosuppressive anti-tumour effects of *Mangifera indica* L. bark in MDA-MB231 breast cancer cells. *Cancer Letters.* 2011; 305:21-31.
35. Lv J, Wang Z, Zhang L.; Wang HL; Liu Y, Li C, *et al.* Mangiferin induces apoptosis and cell cycle arrest in MCF-7 cells both in vitro and in vivo. *J Anim Vet Adv.* 2013; 12:352-9.
36. Gold-Smith F, Fernandez A, Bishop K. Mangiferin and Cancer: Mechanisms of Action. *Nutrients.* 2016; 8.
37. Ganogpichayagrai A, Palanuvej C, Ruangrunsi N. Antidiabetic and anticancer activities of *Mangifera indica* cv. Okrong leaves. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 2017; 8:19-24.

38. Castro-Pantaleón KY. Determinación de la actividad antiproliferativa y citotóxica del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L. En células de cáncer cervicouterino Hela: Universidad Nacional Autónoma de México; 2014.
39. Garrido G, Roderiro I, Hernández I, García G, Pérez G, Merino N, *et al.* In vivo acute toxicological studies of an antioxidant extract from *Mangifera indica* L. (*Vimang*). *Drug Chem Toxicol.* 2009; 32(1):53-8.
40. González JE, Rodríguez MD, Rodeiro I, Morffi J, Guerra E, Leal F, *et al.* Lack of in vivo embryotoxic and genotoxic activities of orally administered stem bark aqueous extract of *Mangifera indica* L. *Food Chem Toxicol.* 2007; 45(12):2526-32.
41. Ngokere AA, Ezeofor PC, Okoye JO, Chukwuanukwu RC. Atheromic and lymphoplasmacytic effects of *Mangifera indica* methanolic leaf extract on the heart of chinchilla rabbits. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2015; 26:539-46.
42. Charles River Laboratories. Baseline Hematology and Clinical Chemistry Values for Charles River Wistar Rats. 1998.
43. Mahady GB. Global harmonization of herbal health claims. *J Nut.* 2001; 131(3):1120-123.
44. Chan K. Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. *Chemosphere.* 2003; 52:1361-1371.
45. Teschke R, Zhang L, Long H, Schwarzenboeck A, Schmidt-Taenzer W, Genthner A, *et al.* Traditional Chinese Medicine and herbal hepatotoxicity: a tabular compilation of reported cases. *Ann Hepatol.* 2015; 14(1):7-19.
46. Teshke R. Traditional Chinese Medicine Induced Liver Injury. *J Clin Transl Hepatol.* 2014; 2(2):80–94.
47. Changxiao L, Huirong F, Yazhuo L, Xiaohe X. Research Advances on Hepatotoxicity of Herbal Medicines in China. *Biomed Res Int.* 2016; 2016: 1-14.
48. Hirsch N, Konstantinov A, Anavi S, Aronis A, Hagay Z, Madar Z, *et al.* Prolonged feeding with green tea polyphenols exacerbates cholesterol-induced fatty liver disease in mice. *Mol Nutr Food Res.* 2016; 60(12): 2542-2553.
49. López-Gil S, Nuño-Lámbarri L, Chávez-Tapia N, Uribe-Varenka M, Barbero-Becerra J. Liver toxicity mechanisms of herbs commonly used in Latin America. *Drug Metab Rev.* 2017; 49(3):338-356.
50. Akdogan M, Ozguner M, Aydin G, Gokalp O. Investigation of biochemical and histopathological effects of *Mentha piperita* Labiatae and *Mentha spicata* Labiatae on liver tissue in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2004; 23(1):21-8.
51. Ogunlana OO, Ogunlana OE, Adeneye AA, Udo-Chijioke O, Dare-Olipede T, Olagunju JA, *et al.* Evaluation of the toxicological profile of the leaves and young

twigs of *Caesalpinia bonduc* (Linn) roxb. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2013 ;10(6):504-12.

52. Nana HM, Ngane RA, Kuate JR, Mogtomo LM, Tamokou JD, Ndifor F, *et al*. Acute and sub-acute toxicity of the methanolic extract of *Pteleopsis hylodendron* stem bark. *J Ethnopharmacol*. 2011; 137(1):70-6.

53. Araujo IC, Andrade RP, Santos F, Soares ES, Yokota R, Mostarda C, *et al*. Early developmental exposure to high fructose intake with NaCl stimulation causes cardiac damage. *Eur J Nutr*. 2015:1-9.

54. Dupas J, Feray A, Goanvec C, Guernec A, Samson N, Bougaran P, *et al*. Metabolic Syndrome and Hypertension Resulting from Fructose Enriched diet in Wistar Rats. *Biomed Res Int*. 2017:1-10.

55. Dupas J, Goanvec C, Feray A, Guernec A, Alain C, Guerrero F, *et al*. Progressive Induction of Type 2 Diabetes: Effects of a Reality-Like Fructose Enriched Diet in Young Wistar Rats. *Journal Pone*. 2016; 11:1-13.

56. Pektas MB, Sadi G, Akar F. Long-Term Dietary Fructose Causes Gender-Different Metabolic and Vascular Dysfunction in Rats: Modulatory Effects of Resveratrol. *Cell Physiol Biochem*. 2015; 37(4):1407-20.

57. Chan SC, Ko HH, Lin CN. New Prenylflavonoids from *Artocarpus communis*. *J Nat Prod*. 2003; 66:427-430.

58. Adewodele SO, Ojewole AO. Hyperglycaemic effect of *Artocarpus communis* Forst (Moraceae) root bark aqueous extract in Wistar rats. *Cardiovasc J Afr*. 2007; 18: 221-227.

59. Anofi-Omotayo TA, Latifat OO, Musa TY. Toxicity profile of ethanolic extract of *Azadirachta indica* stem bark in male Wistar rats. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012; 2(10):811-7.

60. Musa TY, Afolayan AJ. Anabolic and androgenic activities of *Bulbine natalensis* stem in male Wistar rats. *Pharm Biol*. 2010; 48(5):568-576.

61. Brasa C, Domínguez S, Codónc S, Minettib A, Ferreroa A. Consequences of subchronic exposure to ethanolic extract from fruits and leaves of *Schinus molle* var. *areira* L. in mice. *J Ethnopharmacol*. 2010;132(1):321-7.

62. Zhang Z, Liu R, Pu X, Sun Y, Zhao X. Evaluation of the sub-chronic toxicity of a standardized flavonoid extract of safflower in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2017; 85:98-107.

63. Xu K, Lin Y, Zhang R, Lan M, Chen C, Li S, *et al*. Evaluation of safety of iridoids rich fraction from *Valeriana jatamansi* Jones: Acute and sub-chronic toxicity study in mice and rats. *J Ethnopharmacol*. 2015; 172:386-94.

64. Ghorbani A, Mohebbati R, Jafarian AH, Vahedi MM, Hosseini SM, Soukhtanloo M, *et al.* Toxicity evaluation of hydroalcoholic extract of *Ferula gummosa* root. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016; 77:35-41.
65. Han JS, Lee BS, Han SR, Han HY, Chung MK, Min BS, *et al.* A subchronic toxicity study of *Radix Dipsaci* water extract by oral administration in F344 rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016; 81:136-145.
66. Peng KZ, Zhang SY, Zhou HL. Toxicological evaluation of the flavonoid-rich extract from *Maydis stigma*: Subchronic toxicity and genotoxicity studies in mice. *J Ethnopharmacol.* 2016; 192: 61-169.

12. Anexos

12.1 Autorización del Comité Académico de Carrera.



FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"
JEFATURA DE LA CARRERA DE Q.F.B.
OF. No. FESZ/CACQFB/073/16



Dr. Osvaldo Daniel Castelán Martínez
Q. Carlos Salvador Valadés Sánchez
QFB Ángel García Sánchez
Dra. Jazmín De Anda González.
P R E S E N T E.

En la sesión del 29 de abril de 2016, este Comité aprobó el proyecto de investigación **Evaluación de la seguridad del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L: Ensayo de toxicidad oral subcrónica a 28 y 90 días en ratas Wistar.**

Sin otro particular por el momento, estoy a sus órdenes para cualquier aclaración al respecto.

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, Ciudad de México, 18 de mayo del 2016.

DRA. RAQUEL RETANA UGALDE
PRESIDENTA DEL COMITÉ ACADÉMICO
DE CARRERA
retanara@unam.mx
56230766

