

Análisis fitofarmacológico de los frutos de *Luffa acutangula* para determinar su actividad antihepatotóxica

Phytopharmacological screening of Luffa acutangula fruits for its antihepatotoxic activity

MUKERJEE A^{1*}, KAITHWAS G², VISEN PKS³ Y SARAF SA¹

¹. Department of Pharmacy, BBDNITM, Lucknow, U.P., India.

². Department of Pharmaceutical Sciences, F.H.M.S, Allahabad Agricultural Institute-Deemed University, Allahabad, U.P., India.

³. Department of Pharmacology, Central Drug Research Institute, Lucknow, U.P., India.

* Autor de contacto: Tel: +91-9415456913, 0532-2503321. Correo electrónico: alokmukerjee2107@yahoo.co.in

RESUMEN

Se examinó el extracto acuoso y etanólico (100 mg/kg) de *Luffa acutangula* Linn (frutos) para determinar la actividad antihepatotóxica en ratas druckrey mediante la hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono (CCl₄) y paracetamol (PCM). Se demostró que el extracto posee un efecto hepatoprotector significativo, ya que reduce los niveles séricos de transaminasas (SGPT y SGOT), fosfatasa alcalina (ALP) y bilirrubina. La significativa actividad hepatoprotectora de *Luffa acutangula* es comparable a la de la silimarina, agente hepatoprotector estándar, lo que justifica su uso en afecciones del hígado.

PALABRAS CLAVE: *Luffa acutangula*. Tetracloruro de carbono. Paracetamol. Hepatoprotector. Silimarina.

ABSTRACT

The ethanolic and aqueous extract (100mg/kg) of *Luffa acutangula* Linn (fruits) was examined for antihepatotoxic activity in druckrey rats by inducing hepatotoxicity with Carbon tetrachloride (CCl₄) and Paracetamol (PCM). The extract has shown to possess significant hepatoprotective effect by lowering the serum level of transaminases (SGPT & SGOT), Alkaline phosphatase (ALP) and bilirubin. The significant hepatoprotective activity of *Luffa acutangula* is comparable to that standard hepatoprotective agent silymarin, which justify its use in liver affection.

KEY WORDS: *Luffa acutangula*. Carbon tetrachloride. Paracetamol. Hepatoprotective. Silymarin.

Fecha de recepción: 25-10-2007

Fecha aceptación: 19-02-2008

INTRODUCCIÓN

La *Luffa acutangula* (Cucurbitaceae), conocida comúnmente como *kadawi torai*, se encuentra en toda la India, Península occidental y Sri Lanka. Es una planta muy reconocida en el sistema medicinal indio, especialmente en la medicina *Ayurveda*. Se utiliza en el tratamiento de anemias, vitiligo, hemorroides, bronquitis y en complicaciones del hígado¹ Según la medicina popular, en la región de la tribu Madhya Pradesh, el jugo que se obtiene de las hojas y los frutos de *L.*

INTRODUCTION

Luffa acutangula (Cucurbitaceae) commonly known as *kadawi torai*, found through out India, Western Peninsula and Srilanka. The plant is very valuable for the Indian system of medicine particularly *Ayurveda*. It is used in the treatment of anaemia, leucoderma, piles, bronchitis, and liver complication.¹ Juice obtained from the leaves and fruits of *L. acutangula* is dropped in nostrils, for the treatment of jaundice in the tribal area of Madhya Pradesh as folk medicine.² Fruits of

acutangula se introduce en las fosas nasales para el tratamiento de la ictericia². Los frutos de *L. acutangula* contienen cucurbitacina B, junto con otro constituyente importante que ha demostrado su eficacia en el tratamiento de la ictericia¹. También contiene saponina-B, sitosterol y echinatól A y B³. Los frutos son útiles como purgantes, diuréticos y en bazo de tamaño aumentado⁴. La cucurbitacina B y la silimarina han demostrado ser agentes antihepatotóxicos eficaces frente a distintas toxinas en ensayos curativos y de protección. El objetivo del presente estudio es justificar las indicaciones tradicionales mediante la evaluación de su uso en acciones hepatoprotectoras frente a diversas toxinas con la ayuda de modelos animales validados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material de la planta: Los frutos de *Luffa acutangula* se recolectaron en los pueblos de Madhya Pradesh y Uttar Pradesh. El material de la planta se identificó y se autenticó mediante taxonomía en el Instituto Nacional de Investigación Botánica (National Botanical Research Institute), Lucknow, India. Un espécimen de comprobación de la muestra recolectada se depositó en el herbario de la institución para futuras referencias (n° de comprobación: LWG 224813).

Preparación del extracto: El material de la planta, secado a la sombra, se molió, se redujo a polvo y se desengrasó con éter de petróleo (60-80°). A continuación, se secó en un horno a 50 °C. El material seco se extrajo sucesivamente con cloroformo, 70% de alcohol y agua en un aparato Soxhlet. La totalidad del extracto se concentró a presión reducida con un matraz evaporador rotativo.

Análisis fitoquímico preliminar: Los extractos de *L. acutangula* se sometieron a un análisis fitoquímico preliminar realizando las pruebas químicas correspondientes y cromatografía de capa fina frente a un estándar adecuado⁵. El análisis preliminar reveló la presencia de saponinas, antraquinonas y esteroides. El extracto acuoso y etanólico se administró en dosis de 100 mg/kg, por vía oral. El extracto se mezcló de forma homogénea con un 5% suspensión acacia para la dosis oral en ratas druckrey adultas. La silimarina se utilizó como fármaco estándar con un 5% suspensión acacia en dosis de 25 mg/kg, por vía oral.

L. acutangula contain cucurbitacin B with other important constituent which is well reported for the treatment of jaundice.¹ It also contains saponin-B, sitosterol, echinatól A and B.³ Fruits are useful as purgative, diuretic and in enlarged spleen.⁴ Cucurbitacin B and silymarin are well reported antihepatotoxic agent against different toxin in protective and curative assay. The aim of the present paper is to justify the traditional claims by evaluating its use in hepatoprotective action against various toxins with the help of validated animal models.

MATERIAL AND METHODS

Plant material: Fruits of *Luffa acutangula*, were collected from village of Madhya Pradesh and Uttar Pradesh. The plant material was identified and authenticated by taxonomically by, National Botanical Research Institute, Lucknow, India. A voucher specimen of the collected sample was deposited in the institutional herbarium for future reference (Voucher no. LWG 224813).

Preparation of extract: The shade dried plant material was crushed, powdered and defatted by petroleum ether (60-80°) and dried in oven at 50° C. Dried drug was successively extracted with chloroform, 70% alcohol & water in soxhlet apparatus. All the extract was concentrated under reduced pressure using rotatory flask evaporator.

Preliminary phytochemical analysis: Extracts of *L. acutangula* were subjected to preliminary phytochemical screening by suitable chemical test and thin layer chromatography against a suitable standard.⁵ Preliminary screening revealed the presence of saponins, anthraquinones and steroids. The ethanolic and aqueous extract was administered at dose of (100mg/kg p.o.). The extract was homogenously mixed with 5% acacia suspension for the oral dose in Adult druckrey rats. Silymarin was used as standard drug using 5% acacia suspension at a dose of 25mg./kg, p.o.

Animals: Adult druckrey rats (150-200g) of either sex were used for the study. The animals were housed under standard conditions of light /dark with free access to pellet diet and water ad libitum. The animals were weight initially and they were given week's time to get acclimatized with the laboratory condition. All experiments

Animales del grupo de prueba

Animales: Para el estudio se utilizaron ratas druckrey adultas (150-200 g) de ambos sexos. Se alojaron en condiciones estándar de luz/oscuridad con acceso libre a una dieta de bolitas de pienso y agua *ad libitum*. Los animales se pesaron al principio y se les concedió una semana de tiempo para que se aclimataran a las condiciones de laboratorio. Todos los experimentos se realizaron según las indicaciones éticas para animales de laboratorio.⁶

Inducción experimental de daño hepático:

Las ratas se dividieron en nueve grupos: control, toxina, pruebas y grupos estándar, con 6 animales en cada grupo. Según la tabla 1, las ratas del grupo de control (I) recibieron 5% p/p suspensión acacia. El grupo toxina (II y III) se trató con una dosis de toxina (CCl₄ 2,5 ml/kg, por vía oral) en una mezcla de aceite de oliva (1:1) y con una dosis de paracetamol (PCM) (3 gm/kg, por vía oral). Los grupos de prueba (IV y V) se trataron con cuatro dosis (100 mg/kg de peso corporal, por vía oral) de extracto acuoso y etanólico en 5% p/p suspensión acacia a intervalos de 12 horas y toxina (CCl₄) una hora después de la última dosis.⁷ Los grupos VI y VII se trataron con cuatro dosis (100 mg/kg de peso corporal, por vía oral) de extracto acuoso y etanólico en 5% p/p suspensión acacia a intervalos de 12 horas y toxina (PCM) una hora después de la última dosis. Al grupo (VIII y IX), tratado con CCl₄ y PCM como toxina, se le administró el fármaco estándar silimarina 25 mg/kg, por vía oral⁸. Se extrajo sangre del plexo retroorbital mediante punción.

were performed in the according to the guidelines for the laboratory animals and ethics.⁶

Experimental induction of hepatic damage: Rats were divided into nine groups control, toxin, tests and standard groups with 6 animals in each groups. According to the table 1, the rats of control group (I) received 5% w/w acacia suspension. The toxin group (II and III) was treated with one dose of toxin (CCl₄ 2.5ml/kg p.o.) in olive oil mixture (1:1) and one dose of paracetamol(PCM) (3gm/kg, p.o.).Test groups (IV and V) treated with four doses (100 mg/kg b.w. p.o.) of ethanolic and aqueous extracts in 5% w/w acacia suspension at 12 hrs interval and toxin (CCl₄) one hour after the last dose.⁷ Group VI and VII were treated with four doses (100 mg/kg b.w. p.o.) of ethanolic and aqueous extracts in 5% w/w acacia suspension at 12 hour interval and toxin (PCM) one hour after the last dose. The standard drug silymarin 25mg/kg p.o.⁸ was given to group (VIII and IX) treated with CCl₄ and PCM as toxin. Blood was collected by puncturing the retro orbital plexus.

TABLA 1. Distribución de grupos con dosis de fármacos.
TABLE 1. Distribution of groups with dose of drugs.

| Nº de muestra S.No | Nombre del grupo Name of Group | Dosis y vía de administración del fármaco Dose & route of drug |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Grupo I – Control normal <i>Group I - Normal control</i> | 5% p/p suspensión acacia <i>5% w/v acacia suspension</i> |
| 2 | Grupo II – Toxina CCl ₄ <i>Group II – CCl₄ toxin</i> | 2,5 ml/kg, vía oral (en aceite de oliva 1:1) <i>2.5ml/kg,p.o.(in olive oil 1:1)</i> |
| 3 | Grupo III – Toxina PCM <i>Group III – PCM toxin</i> | 3 gm/kg, vía oral <i>3gm/kg, p.o.</i> |
| 4 | Grupo IV – Extracto Acuoso (<i>L. acutangula</i>) + CCl ₄ <i>Group IV - Aq. Extract(L. acutangula) + CCl₄</i> | 100 mg/kg, vía oral + 2,5 ml/kg, vía oral (en aceite de oliva 1:1) <i>100mg/kg, p.o.+2.5ml/kg,p.o.(in olive oil 1:1)</i> |
| 5 | Grupo V – Extracto alcohólico (<i>L. acutangula</i>) + CCl ₄ <i>Group V - Alc. Extract(L. acutangula) + CCl₄</i> | 100 mg/kg, vía oral + 2,5 ml/kg, vía oral (en aceite de oliva 1:1) <i>100mg/kg, p.o.+2.5ml/kg,p.o.(in olive oil 1:1)</i> |
| 6 | Grupo VI - Extracto acuoso (<i>L. acutangula</i>) + PCM <i>Group VI - Aq.Extract(L. acutangula) + PCM</i> | 100 mg/kg, vía oral +3 gm/kg, vía oral <i>100mg/kg, p.o. +3gm/kg, p.o.</i> |
| 7 | Grupo VII - Extracto alcohólico (<i>L.acutangula</i>)+ PCM <i>Group VII - Alc. Extract (L.acutangula)+PCM</i> | 100 mg/kg, vía oral + 3 gm/kg, vía oral <i>100mg/kg, p.o. +3gm/kg, p.o.</i> |
| 8 | Grupo VIII – Silimarina + CCl ₄ <i>Group VIII - Silymarin + CCl₄</i> | 25 mg/kg, vía oral + 2,5 ml/kg, vía oral (en aceite de oliva 1:1) <i>25mg./kg, p.o.+2.5ml/kg,p.o. (in olive oil 1:1)</i> |
| 9 | Grupo IX – Silimarina + PCM <i>Group IX - Silymarin + PCM</i> | 25 mg/kg, vía oral + 3 gm/kg, vía oral <i>25mg./kg, p.o. +3gm/kg, p.o.</i> |

Las muestras de sangre se transfirieron a los tubos de centrifugación y se separó el suero mediante centrifugación a 2.500 rpm durante 30 minutos. Se extrajo el suero y se sometió a estimaciones bioquímicas.

Estimación bioquímica: Se analizó el suero con distintos parámetros bioquímicos, tales como aspartato aminotransferasa (AST)⁹, alanina aminotransferasa (ALT)⁹, fosfatasa alcalina (ALP)¹⁰ y bilirrubina¹¹.

Histopatología: Se extrajeron pequeños pedazos de tejido hepático después de realizar la autopsia en fluido de Bouin. Los tejidos se procesaron para embeberlos en parafina después de fijarlos durante 48 horas en formol al 10%. Se observaron las secciones de 5 µm-10 µm de hígado teñido con hematoxilina y eosina para examinar los cambios histopatológicos bajo microscopio óptico.¹²

Análisis estadístico: Todos los datos se presentaron como el valor medio ± E.S.M. y se analizaron mediante la prueba ANOVA de una dirección, seguida del test de comparaciones múltiples de Students Newman-Keuls para llevar a cabo una posible identificación significativa entre varios grupos¹³. P<0,05 se consideró esta-

Blood samples were transferred to the centrifugation tubes and serum was separated by centrifugation at 2500 rpm for 30 minutes. Serum was collected and subjected to biochemical estimations.

Biochemical estimation: Serum was analyzed for different biochemical parameters like Aspartate aminotransferase (AST)⁹. Alanine aminotransferase (ALT)⁹, Alkaline phosphatase(ALP)¹⁰ and Bilirubin.¹¹

Histopathology: Small pieces of liver tissue were removed after autopsy to Bouin's fluid. The tissues were processed for paraffin embedding after fixing for 48 hr in 10 % formalin. The 5 µm -10 µm section of liver stained with haematoxylin and eosin were observed for histopathological changes under optical microscope.¹²

Statistical analysis: All the data were presented as mean ± S.E.M. and analysed by One way ANOVA followed by Students Newman-Keuls' multiple comparison test for the possible significant identification between the various groups¹³. P<0.05 was considered statistically significant. Statistical analysis was carried out using Graph pad prism 3.0 (Graph pad software, San Diego , CA)

dísticamente significativo. El análisis estadístico se realizó con Graph Pad Prism 3.0 (Graph Pad Software, San Diego, California, EE. UU.).

RESULTADOS

Los niveles de transaminasas séricas (SGOT y SGPT) disminuyeron de forma significativa en los grupos IV, V, VI, y en el grupo VII con respecto al control tóxico. Los grupos VIII y IX se trataron con el fármaco estándar silimarina (25 mg/kg por vía oral) y el nivel de todas las enzimas se redujo significativamente con respecto al control tóxico.

Se observó un importante aumento ($p < 0,001$) del nivel total de bilirrubina sérica en el control tóxico de CCl_4 y PCM con respecto al control normal; no obstante, después del tratamiento con los extractos alcohólico y acuoso de *L. acutangula*, se observaron niveles de bilirrubina significativamente menores.

Se observaron reducciones significativas de los niveles de fosfatasa alcalina después del tratamiento con los extractos alcohólico y acuoso de *L. acutangula* con respecto a los grupos II y III (Tabla 2).

RESULTS

Serum transaminases levels (SGOT and SGPT) were significantly decreased in group IV, V, VI and group VII as compared to the toxic control. Group VIII and IX were treated with the standard drug silymarin (25mg/kg p.o.) and the level of all the enzymes were significantly reduced as compared to the toxic.

Marked ($p < 0.001$) increase in the total serum bilirubin level was reported in the toxic control of CCl_4 and PCM as compared to the normal control, but after the treatment with aqueous and alcoholic extracts of *L. acutangula*, Significant lower levels of bilirubin was observed.

Significant reductions in the levels of the alkaline phosphatase after the treatment of aqueous and alcoholic extract of *L. acutangula* was observed as compared to group II and group III. (Table 2)

TABLA 2. Efecto de la *L. acutangula* en la hepatotoxicidad inducida mediante CCl_4 y PCM en ratas.
TABLE 2. Effect of *L. acutangula* on CCl_4 and PCM induced hepatotoxicity in rat.

| Nº de muestra S.No | Grupo Group | SGOT (Unidad/ml) SGOT (Unit/ml) | SGPT (Unidad/ml) SGPT (Unit/ml) | Fosfatasa alcalina (Unidades K.A.) Alkaline phosphatase (K.A.Units) | Bilirrubina (mg %) Bilirubin (mg %) |
|-----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | Control normal Normal control | 43,95 ±3,89 ^a | 29,99 ±2,73a | 15,55 ±1,21 a | 0,95 ±0,02a |
| 2 | CCl_4 CCl_4 | 176,22 ±2,91 | 97,45 ±6,05 | 131,22 ±7,21 | 2,36 ±0,21 |
| 3 | PCM PCM | 137,50 ±1,27 | 112,35 ±3,67 | 182,67 ±0,79 | 3,42 ±0,17 |
| 4 | Extracto acuoso (<i>L.acutangula</i>)+ CCl_4 Aq. Extract (<i>L.acutangula</i>)+ CCl_4 | 98,71 ±3,29 | 37,61 ±3,17 | 22,80 ±1,78 | 1,6 ±0,16 |
| 5 | Extracto alcohólico (<i>L.acutangula</i>)+ CCl_4 Alc. Extract (<i>L.acutangula</i>)+ CCl_4 | 89,45 ±2,28 | 34,32 ±1,05 | 28,49 ±1,72 | 1,29 ±0,12 |
| 6 | Extracto acuoso (<i>L.acutangula</i>)+PCM Aq.Extract (<i>L.acutangula</i>)+PCM | 69,03 ±0,56 | 41,16 ±4,18 | 35,28 ±2,18 | 1,51 ±0,04 |
| 7 | Extracto alcohólico (<i>L.acutangula</i>)+PCM Alc. Extract (<i>L.acutangula</i>)+PCM | 56,01 ±3,17 | 47,21 ±2,28 | 41,31 ±1,17 | 1,63 ±0,09 |
| 8 | Silimarina + CCl_4 Silymarin + CCl_4 | 55,78 ±2,19 | 34,56 ±1,96 | 16,98 ±1,23 | 1,11 ±0,08 |
| 9 | Silimarina + PCM Silymarin + PCM | 61,21 ±3,01 | 44,56 ±1,98 | 20,19 ±0,98 | 1,19 ±0,12 |

Cada grupo contiene 6 animales

El control normal (grupo I) se comparó con el control tóxico mediante el test de Students Newmans Keuls.

(^a P<0,001, ^b P<0,01, ^c P<0,05)

Each group contains 6 animals

Normal control (group I) was compared to toxic control by students-Newman-Keuls-test.

(^a P<0.001, ^b P<0.01, ^c P<0.05)

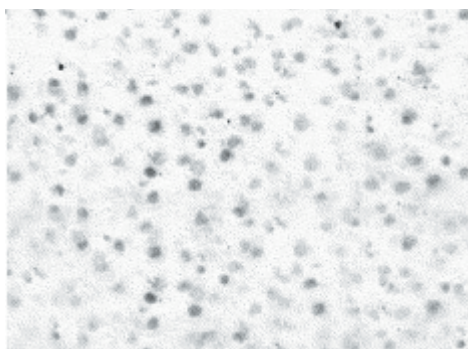
El perfil histopatológico del hígado de ratas tratadas con CCl_4 y PCM reveló una esteatosis degenerativa celular y cambios hidrópicos alrededor de las venas centrales (fotomicrografías b y c). La sección del hígado de la rata tratada con extracto acuoso de *L. acutangula* mostró una mejora significativa de la arquitectura hepatocelular debido a la presencia de cordón hepático, ausencia de necrosis y esteatosis (fotomicrografía d y e).

Los grupos VIII y IX se trataron con el fármaco estándar silimarina (25 mg/kg por vía oral) y el nivel de todas las enzimas se redujo significativamente. El extracto alcohólico y acuoso de *L. acutangula* permitió una recuperación significativa de la toxicidad de CCl_4 y PCM, comparable a la de la silimarina.

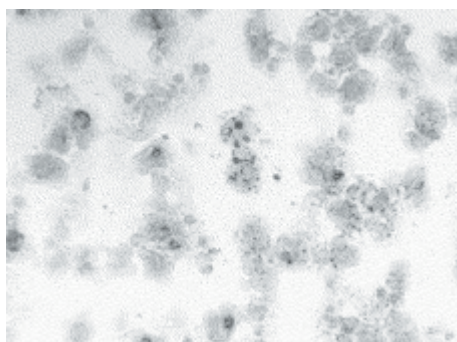
Histopathological profile of liver from CCl_4 and PCM treated rats revealed cellular degeneration steotosis and hydrophic changes more around the central veins (Photomicrograph b and c). The section of liver of rat treated with aqueous extract of *L. acutangula* showed significant improvement of hepatocellular architecture by the presence of normal hepatic cord, absence of necrosis and steotosis (photomicrograph d and e).

Group VIII and IX were treated with the standard drug silymarin (25mg/kg p.o.) and the level of all the enzymes was significantly reduced. Aqueous and alcoholic extract of *L. acutangula* produced significant recovery from CCl_4 and PCM toxicity, comparable to silymarin.

Fotomicrografía (a): Sección de un hígado de rata normal.
Photomicrograph (a): Normal rat liver section.



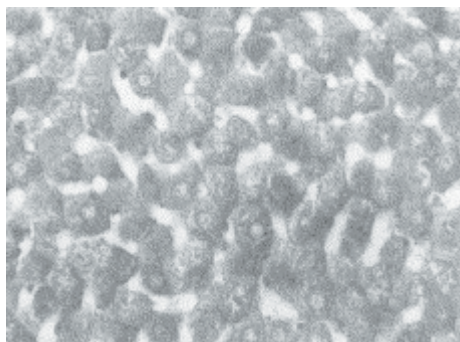
Fotomicrografía (b): Secciones de un hígado dañado por CCl₄.
Photomicrograph (b): CCl₄ damaged liver sections.



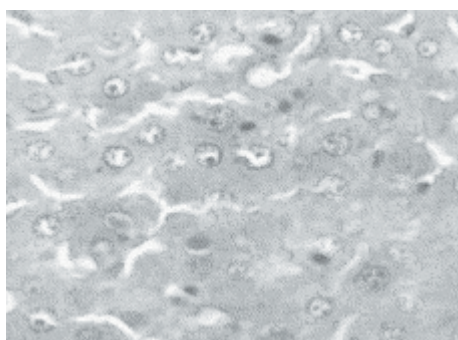
Fotomicrografía (c): Secciones de un hígado dañado por PCM.
Photomicrograph (c): PCM damaged liver sections.



Fotomicrografía (d): Después del tratamiento con extracto alcohólico (*L. acutangula*) en ratas tratadas con CCl_4
*Photomicrograph (d): After treatment with aqueous extract (*L. acutangula*) in CCl_4 treated rats.*



Fotomicrografía (e): Después del tratamiento con extracto acuoso (*L. acutangula*) en ratas tratadas con PCM.
*Photomicrograph (e): After treatment with aqueous extract (*L. acutangula*) in PCM treated rats.*



DISCUSIÓN

El daño hepático ocasionado por PCM y CCl_4 es el modelo común utilizado en el análisis de fármacos hepatoprotectores¹⁴. Tanto el PCM como el CCl_4 se convierten en sus especies reactivas de oxígeno respectivas (ROS), N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI) y radicales libres halogenados (HFR) mediante el citocromo hepático P450. La hepatotoxicidad producida por el CCl_4 se debe a su activación enzimática con respecto al radical libre halogenado (HFR) de CCl_3 mediante el citocromo hepático P_{450} que, a su vez, perjudica la estructura y la función de las macromoléculas de proteínas y lípidos de la membrana.¹⁵

La hepatotoxicidad producida por el PCM implica la activación de metabolito a una especie de oxígeno reactivo fisiológicamente desintoxicada mediante mecanismos protectores como el glutatión para interrumpir el progreso del daño celular.¹⁶ Sin embargo, la producción masiva de la especie de oxígeno reactivo puede ocasionar la disminución de las fracciones fisiológicas

DISCUSSION

Liver damage by PCM and CCl_4 are the common models used for the screening of the hepatoprotective drugs¹⁴. Both PCM and CCl_4 are converted into their respective reactive oxygen species (ROS), N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI) and halogenated free radicals (HFR) by hepatic cytochrome P450s. Hepatotoxicity produced by CCl_4 is due to its enzymatic activation to CCl_3 halogenated free radical (HFR) by hepatic cytochrome P_{450} which in turn disrupt the structure & function of lipid & protein macromolecules in the membrane.¹⁵

Hepatotoxicity due to the PCM involves metabolite activation to a reactive oxygen species which are physiologically detoxified by the protective mechanisms like glutathione to curtail progression of the cellular damage.¹⁶ However the massive production of the reactive oxygen species may lead to depletion of the protective physiological moieties ensuing wide spread propagation of the alkylation as well as per oxidation,

protectoras, a lo que sigue una amplia propagación de la alquilación, así como oxidación, lo que provoca daños en las macromoléculas de las biomembranas vitales de microsomas y mitocondrias. La bioactivación del PCM y el CCl_4 en sus especies reactivas respectivas puede prevalecer sobre el daño hepatocelular.^{17, 18}

La toxicidad producida por el PCM y el CCl_4 puede mejorar de forma eficaz mediante antioxidantes. La actividad hepatoprotectora de la *L. acutangula* se puede atribuir a la presencia de antioxidantes como la cucurbitacina B y la sapogenina-B como compuestos. La administración profiláctica de *L. acutangula* mostró una protección frente al PCM y al CCl_4 frente a daños hepáticos, que se manifestó a través de la reducción del aumento mediado por toxinas de los niveles de SGOT, SGPT, fosfatasa alcalina y bilirrubina. El efecto protector de los extractos alcohólico y acuoso de *L. acutangula* frente al daño hepático inducido por el CCl_4 y el PCM es un indicador de la actividad protectora del hígado.

Los cambios histopatológicos en la sección del hígado también revelan que los extractos acuoso y alcohólico de *L. acutangula* mejoran de forma significativa el proceso de regeneración y reducen la necrosis.

Los resultados muestran claramente que la *L. acutangula* es eficaz frente al daño hepático inducido por CCl_4 y PCM cuando se administra antes de que se activen las toxinas. Es necesario llevar a cabo estudios adicionales para explorar su posible mecanismo de acción y su uso terapéutico en el sistema de la medicina moderna.

causing damage to the macromolecules in vital biomembranes of microsomes and mitochondria. Bioactivation of the PCM and CCl_4 into their respective reactive species can prevail the hepatocellular damage.^{17, 18}

Toxicity due to PCM and CCl_4 can be effectively ameliorated by the antioxidants. Hepatoprotective activity of the *L. acutangula* can be attributed to the presence of the antioxidants like cucurbitacin B and sapogenin B like compounds. Prophylactic administration of *L. acutangula* exhibited the protection against both PCM and CCl_4 against liver injuries as manifested by the reduction in the toxin mediated rise in the levels of SGOT, SGPT, Alkaline phosphatase and Bilirubin. Protective effect of the aqueous and alcoholic extract of *L. acutangula* against CCl_4 and PCM induced liver damage is an indicator of the liver protective activity.

Histopathological changes in the liver section also reveal that alcoholic and aqueous extract of *L. acutangula* significantly enhances the process of regeneration and reduces the necrosis.

The results clearly demonstrate that *L. acutangula* is effective against the both CCl_4 and PCM induced hepatic injury when administered before the activation of toxins. Further studies needs to be explored for its possible mechanism of action and therapeutic use in the modern medicine system.

BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Kirtikar KR, Basu BD. Indian Medicinal Plants, Vol III. Periodical Expert, New Delhi.1984; 1123-1124.
2. Samvatser S, Diwanji VB. Plant sources for the treatment of jaundice in the tribals of western Madhya Pradesh of India. Journal of Ethanopharmacology. 2000;73:313-316.
3. Rastogi RP, Mehrotra BN. Compendium of Industrial Medicinal Plants, Vol-I. CSIR, New Delhi.1960;pp250.
4. Chadda YR. Wealth of India (Raw materials) Vol.VI, CSIR, New Delhi, 1998; 179.
5. Brain KR and Turner TD. The Practical evaluation of Phytopharmaceutical. Wright Scientehnica Bristol, 1975,112-155 respectively.
6. Zimmerman M. Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals. Pain. 1983; 16:109-110.
7. Mukerjee A, Visen PKS, Saraf, SA., Evaluation of Hepatoprotective activity of Citrullus colocynthis roots against CCl_4 induced toxicity in albino rats., Natural Product Sciences.2007;13(1) :23-26.
8. Visen PKS, Saraswat B, Patnaik GK, Agarwal DP Dhawan BN. Protective activity of picroliv isolated from Picrorhiza kurrooa against ethanol toxicity in isolated rats hepatocytes. Ind J Pharmacol. 1996; 28:98-101.
9. Reitman S, Frankel S.A colorimetric method for the determination of SGOT and SGPT. Am. J Clin Pathol. 1957; 28: 53-56.
10. Kind PRN, Kings EJ. Estimation of Plasma Phosphatases by determination of hydrolysed phenol with amino-antipyrine. J Clin Pathol.1954;7: 322-326.

11. Malloy E, Evelyn KA, The determination of Bilirubin with the photoelectric colorimeter. *J Biol Chem.*1937; 119:481.
12. Pathak AK, Saraf S, Dixit, V.K. Hepatoprotective activity of *Tridax procumbens*. *Fitoterapia.*1991; LXII 4: 307-313.
13. Mendehall WS, Introduction to probability & statistics. Belmont, CA Wadsworth publishing co. Inc. 1971.
14. Plaa GI, Hewitt WR. Toxicology of the liver In:(Boyer TD ed). New York Raven press. 1982;103-120.
15. Van de, Straat R de, Varies J, Debets AJJ, Vermueulein NPE. The mechanism of prevention of Paracetamol induced hepatotoxicity by 3,5-dialkyl substitution., *Biochem Pharmacol.* 1987; 36:2065-2070
16. Potter WZ, Thorgession SS, Jollow J, Mitchell Jr. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. V. Correlation of hepatic necrosis covalent binding and glutathione depletion in hamsters. *Pharmacology.* 1974; 12: 129-143.
17. Pesh-imam M, Recknagel R, Lipid peroxidation and the concept of antioxygenic potential: Vitamin E changes in acute experimental CCl₄-, BrCCl₃-, and ethanol-induced liver injury. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1977; 42: 463-475.
18. Aldridge WN, Mechanism of Toxicity, new concept are required in toxicology, *Trends Pharmacol Sci.* 1981; 2:228