



UNAP



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO E HIDROALCOHÓLICO
DE HOJAS Y TALLO DE *Senna occidentalis* EN
NAUPLIOS DE *Artemia franciscana***

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

CHRISTIAN SMITH DEL AGUILA ACOSTA

ASESORES:

**Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mtro.
Ing. VICTOR ERASMO SOTERO SOLIS, Dr.**

**IQUITOS, PERÚ
2024**

ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°001-2024-CGT-FFyB-UNAP

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los 15 días del mes de febrero de 2024, a horas 17:00, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO E HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS Y TALLO DE *Senna occidentalis* EN NAUPLIOS DE *Artemia franciscana*" presentada por el bachiller: **Christian Smith Del Aguila Acosta**, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante **Resolución Decanal N°182-2023-FFyB-UNAP**, está integrada por:

- | | |
|--|------------|
| - Q.F. LUIS DOMINGO NONATO RAMÍREZ, Dr. | Presidente |
| - Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro. | Miembro |
| - Q.F. CLAUDIO ADRIANO APAGÜEÑO ARÉVALO, Mtro. | Miembro |

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: ADECUADAMENTE

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública de la tesis ha sido APROBADO con la calificación BUENA

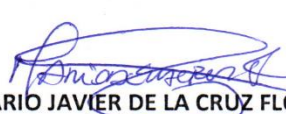
Estando el bachiller apto para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.


Siendo las 18:45 se dio por terminado el acto ACADEMICO


Q.F. LUIS DOMINGO NONATO RAMÍREZ, Dr.
Presidente


Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro.
Miembro


Q.F. CLAUDIO ADRIANO APAGÜEÑO ARÉVALO, Mtro.
Miembro

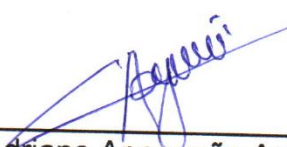

Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mtro.
Asesor


Ing. VÍCTOR ERASMO SOTERO SOLIS, Dr.
Asesor

JURADO Y ASESORES



Q.F. Luis Domingo Nonato Ramírez, Dr.
CQFP N° 05652
Presidente



Q.F. Claudio Adriano Apagueño Arévalo, Mtro.
CQFP N° 16870
Miembro



Ing. Cleto Jara Herrera, Dr.
CIP N° 63042
Miembro



Ing. Víctor Erasmo Sotero Solís, Dr.
CIP N° 15843
Asesor



Q.F. Mario Javier De la Cruz Flores, Mtro.
CQFP N° 13374
Asesor

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

FFB_TESIS_DEL AGUILA ACOSTA.pdf

AUTOR

CHRISTIAN SMITH DEL AGUILA ACOSTA

RECUENTO DE PALABRAS

5673 Words

RECUENTO DE CARACTERES

30402 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

28 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

638.4KB

FECHA DE ENTREGA

Apr 29, 2024 12:12 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Apr 29, 2024 12:13 PM GMT-5

● **17% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 7% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 13% Base de datos de trabajos entregados
- 0% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

DEDICATORIA

A todas las personas que de una y otra forma me apoyaron en la realización de mis estudios.

Christian Smith

AGRADECIMIENTOS

A Dios quien me ha guiado y me ha dado la fortaleza para seguir adelante.

A mis padres que han sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores lo cual me han ayudado a seguir adelante en los momentos difíciles.

A mi familia quienes son mi mayor motivación para nunca rendirme y siempre luchar por ellos.

A los asesores Q.F. Mario Javier De la Cruz Flores, Mtro. e Ing. Víctor Erasmo Sotero Solís, Dr. ya que, sin su paciencia y constancia, este trabajo no lo hubiéramos logrado.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

	Páginas
PUÜVÆÖCE	i
AÔVÆÖÖ SWSVÒP VÆÖI3 P	ii
JWÜÆÖU ÿ ÆSÒSUÜÒS	iii
RÒSWŃVÆÖU ÖÒŠ IPØUÛT Ò ÖÒ SIT IŠIVWÖ	iv
ÖÖÖIÖÆVUÛICE	v
ÆÖÜÆÖÖÖIT IÒP VU	vi
ÍPÖIÖÒ ÖÒŠ ÔU P VÒP IÖU	vii
PÖIÖÒ ÖÒ VÆÖŠÆS	viii
PÖIÖÒ ÖÒ ØIÖWÜÆS	ix
ÜÒSWT ÒP	x
ÆÖSVÜÆÖV	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Bases teóricas	5
1.3 Definición de términos básicos	9
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	11
2.1 Formulación de hipótesis	13
2.2 Variables y su operacionalización	13
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	15
3.1 Diseño metodológico	15
3.2 Diseño muestral	15
3.3 Procedimiento de recolección de datos	16
3.4 Procesamiento y análisis de la información	18
3.5 Aspectos éticos	18
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	19
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	22
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	24
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	25
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	26
ANEXOS	32
Anexo 1. Constancia de certificación de las especies vegetales	32
Anexo 2. Instrumento de recolección de datos	33
Anexo 3. Esquema de dilución del extracto para el experimento	34
Anexo 4. Flujoograma del ensayo de la actividad toxicidad aguda <i>in vitro</i>	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Conteo de nauplios muertos de <i>Artemia franciscana</i>	19
Tabla 2. Cálculo del porcentaje de efecto, valor probit y CL ₅₀	20
Tabla 3. Prueba de normalidad - % de mortalidad de nauplios	20
Tabla 4. ANOVA - % de mortalidad de nauplios	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Recolección de quistes de camarones en salmuera de un estanque de sal	8
Figura 2. Quiste en etapa de rotura. (1) ojo de nauplio	9
Figura 3. Embrión en estadio “paraguas” (izquierda) e estadio I nauplius (derecha). (1) ojo de nauplio; (2) antenula; (3) antena; (4) mandíbula	9
Figura 4. Larva en estadio V. (1) ojo de nauplio; (2) ojo complejo lateral; (3) antena; (4) labrum; (5) gemación de toracópodos; (6) tracto digestivo	10
Figura 5. Cabeza y región torácica anterior del estadio XII. (1) ojo de nauplio; (2) ojo complejo lateral; (3) antenula; (4) antena; (5) exopodito; (6) telopodito; (7) endopodito	11
Figura 6. Cabeza y región torácica de macho joven. (1) antena; (2) telopodito; (3) exopodito	11

RESUMEN

Objetivo: determinar la toxicidad aguda del extracto alcohólico e hidroalcohólico de hojas y tallo de *Senna occidentalis* en nauplios de *Artemia franciscana*. **Metodología:** Los huevos de Artemia fueron adquiridos en el Acuario Fishmen, ubicado en la ciudad de Iquitos, Departamento de Loreto. Estos huevos pasaron por un proceso de eclosión hasta convertirse en nauplios. los huevos de *A. franciscana* fueron incubados en una solución Instant Ocean al 3% durante 48 a 72 horas. Por conveniencia, se recolectaron órganos de las especies de estudio y se utilizaron para preparar ambos extractos a partir de la muestra vegetal micropulverizada; la muestra se maceró con etanol, etanol:agua, luego se filtró, se concentró en rota vapor y posterior eliminación física del solvente, siendo probados a 10, 100 y 1000 ppm sobre nauplios de *A. franciscana*. **Resultados:** La CL₅₀ de los dos extractos estudiados (alcohólico e hidroalcohólico) fueron superior a 1000 ppm. **Conclusión:** Ninguno de los extractos exhibe toxicidad aguda.

Palabras clave: Toxicidad aguda, *Senna occidentalis*, *Artemia franciscana*, nauplios, alcohólico, hidroalcohólico.

ABSTRACT

Objective: to determine the acute toxicity of the alcoholic and hydroalcoholic extract of leaves and stem of *Senna occidentalis* in nauplii of *Artemia franciscana*.

Methodology: The *Artemia* eggs were acquired at the Fishmen Aquarium, located in the city of Iquitos, Department of Loreto. These eggs went through a hatching process until they became nauplii. *A. franciscana* eggs were incubated in a 3% Instant Ocean solution for 48 to 72 hours. For convenience, organs were collected from the study species and used to prepare both extracts from the micropulverized plant sample; The sample was macerated with ethanol, ethanol:water, then filtered, concentrated in rotary steam and subsequent physical elimination of the solvent, being tested at 10, 100 and 1000 ppm on *A. franciscana* nauplii. **Results:** The LC50 of the two extracts studied (alcoholic and hydroalcoholic) were higher than 1000 ppm. **Conclusion:** None of the extracts exhibited acute toxicity.

Key words: Acute toxicity, *Senna occidentalis*, *Artemia franciscana*, nauplii, alcoholic, hydroalcoholic.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales son utilizadas por el ser humano desde la antigüedad; esta práctica es de gran importancia porque amplía el arsenal terapéutico y reduce significativamente la aparición de efectos secundarios. Sin embargo, es necesario determinar la eficacia e inocuidad de las plantas a través de estudios científicos sistematizados (1-2).

El Perú es un país con una alta biodiversidad, el estudio de plantas y extractos es especialmente importante dado que pueden presentar actividad terapéutica significativa. La investigación de la letalidad provocada por los extractos sobre *Artemia sp.* es una de las muchas técnicas que se pueden utilizar para elegir especies vegetales como fuente de principios activos (3-4).

Desde 1982, los "camarones de mar" (*Artemia sp.*) se han utilizado en pruebas biológicas para determinar la toxicidad. Debido a su fuerte correlación con la toxicidad *in vitro* y su uso como método de cribado tóxico para extractos, fracciones y compuestos purificados para identificar muestras altamente tóxicas (5), estos métodos han demostrado ser efectivos para revelar metabolitos secundarios relacionados con actividades biológicas.

Se sabe que las hojas, raíces, tallos, frutos y semillas de la familia Fabaceae contienen una variedad de compuestos bioactivos de diferentes naturalezas químicas. Esta familia ha sido estudiada y reportada para alcaloides, flavonoides y acetogenina (6-7). Las propiedades insecticidas, antitumorales, antibacterianas, antipalúdicas, antihelmínticas y citotóxicas están vinculadas a la bioactividad de los metabolitos de las plantas de la familia Fabaceae (6,8-9).

Las semillas tostadas de *Senna occidentalis* tienen propiedades tradicionales: febrífuga, estomáquica y emenagoga. También se utilizan como diuréticos y como tratamiento para la indigestión, dispepsia y enfermedades de la próstata. Las semillas sin tostar se aplican tópicamente para tratar edemas y afecciones de la piel, tanto como purgante como en cataplasma. La infusión sirve para el tratamiento del asma y para fines febrífugos (10-12). No hubo hallazgos

clínicamente significativos que pudieran relacionarse con el uso del extracto administrado a pollos a 2000 mg/Kg en Colombia, donde se estudió toxicidad oral aguda de extracto etanólico de semilla tostada. Sin embargo, provocó vacuolización renal en un 33 por ciento de los animales, considerándose un cambio patológico provocado por la toxicidad (13).

Cabe señalar que los métodos de terapia tradicionales cuando se usan correctamente, generalmente son seguros. Debido a que la planta seleccionada no presenta estudios que sustenten su efecto tóxico y margen de seguridad (CL_{50}), es importante realizar ensayos que nos brinden esta información (13). Mediante la aplicación del bioensayo de *A. franciscana* se determina de manera cuantitativa que los extractos evaluados de *S. occidentalis*, son capaces de causar la muerte del 50% de los organismos utilizados como bioindicadores, así mismo nos indicará la concentración a la que se presenta mayor y menor toxicidad aguda (13). Por esta razón, se considera que este estudio será de beneficio para el campo científico en beneficio de la salud pública.

Con lo anteriormente descrito, al ser los nauplios de *Artemia franciscana* ampliamente empleadas como una herramienta en pruebas de toxicidad, el presente estudio permitió determinar la toxicidad aguda del extracto alcohólico e hidroalcohólico de hojas y tallo de *S. occidentalis* en nauplios de *A. franciscana*.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

En 2022, se evaluó y revisó el procedimiento de bioensayo de letalidad de *Artemia salina*, también identificada como ensayo de letalidad de Artemia. La investigación mostró información sobre la toxicidad general (considerada como una evaluación preliminar de la toxicidad) de productos naturales. Como resultado de su estudio señala que, *A. salina* se utiliza generalmente como modelo en estudios de letalidad y la prueba se basa en la capacidad de los compuestos bioactivos estudiados para matar los microcrustáceos en su estado larvario (nauplios). El estudio concluyó que el ensayo con *A. salina* representa una herramienta útil para estudios de citotoxicidad, también para la detección de toxicidad general de productos sintéticos, semisintéticos y naturales (14).

En 2019, se llevó a cabo estudio farmacológico y toxicológico sobre *Senna occidentalis*. La investigación se centró en determinar la actividad antiplasmodial *in vitro* sobre *Plasmodium falciparum* (cepa salvaje) de extractos acuoso e hidroetanólico de *S. occidentalis* al 50:50. Según el microtest óptico; la toxicidad preliminar fue sobre *Artemia salina*. En sus resultados, la prueba antiplasmodial demostró que el extracto acuoso tiene actividad moderada contra *P. falciparum* con $IC_{50} = 91,08 \pm 0,61 \mu\text{g/mL}$; el extracto hidroetanólico fue más activo con $IC_{50} = 1,00 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$; las CL_{50} obtenidas son 3310 ppm y 3700 ppm considerándose no citotóxicos ambos extractos. El trabajo concluyó que los resultados combinados justifican el uso de *S. occidentalis* para tratar pacientes que padecen malaria (15).

En 2018, se estudiaron la función renal y efectos histopatológicos en ratas Wistar del extracto acuoso de hojas de *Senna occidentalis* (EASO). Para determinar los metabolitos presentes en el extracto realizaron el screening fitoquímico, y para las pruebas biológicas los extractos fueron administrados por vía oral a concentraciones de 350, 700, 1500 y 3000 mg/kg de peso corporal por 28 días. Las muestras de sangre fueron recolectadas mediante punción cardíaca para análisis bioquímicos de electrolitos, urea y creatina. Los resultados revelaron la presencia de carbohidratos, taninos, triterpenoides, proteínas, saponinas, esteroides,

flavonoides, diterpenoides y glucósidos, pero no se encontraron alcaloides ni antraquinonas. En las pruebas de toxicidad aguda, los animales expuestos a 5000 mg/kg no mostraron un comportamiento alterado ni fallecieron. El trabajo concluyó que EASO durante 28 días no produjo efectos significativos en los riñones de ratas Wistar (16).

En 2017, se evaluó el efecto de pequeñas contaminaciones de *S. occidentalis* en la dieta de gallinas ponedoras sobre la producción de huevos. Fueron evaluadas 48 pollitas de 0 días de vida distribuidas en un grupo control y otro grupo que recibió al 0,2% en la dieta de semillas de *S. occidentalis* tanto tegumento externo como interno (ET/IT) por 42 semanas. La investigación determinó que no se observaron signos clínicos en las gallinas de puesta y tampoco alteraciones en consumo y ganancia de peso; pero, si se observó disminución en la producción de huevos y, en consecuencia, una menor eficiencia alimentaria de los animales que consumieron ET/IT. El trabajo concluyó que se observaron efectos tóxicos en gallinas ponedoras por consumo de semillas de *S. occidentalis* (17).

En 2017, se evaluó el efecto del extracto metanólico crudo de hojas de *Senna occidentalis* (ECSO) sobre biomarcadores de estrés oxidativo en ratas wistar con infección experimental por *Trypanosoma congolense*. Para la evaluación usaron 30 ratas wistar divididas en seis grupos, donde el grupo 1 fue el control neutral; los grupos dos a seis recibieron por vía intraperitoneal *T. congolense* (10^6 tripanosomas/mL de sangre). A los grupos dos, tres y cuatro administraron por vía oral extractos a concentraciones de 100, 400 y 600 mg/kg de p.c. por 10 días. Los resultados mostraron toxicidad aguda ($DL_{50} \geq 5000$ mg/kg); a las concentraciones evaluadas, mostrando un aumento significativo ($p < 0,05$) progresivo en el nivel sérico de glutatión peroxidasa (GPx), catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD). El trabajo concluyó que ECSO no causó toxicidad ni mortalidad (18).

1.2 Bases teóricas

1.2.1 Familia Fabaceae

Morfología vegetativa: anuales, perennes, arbustos y árboles pequeños con nódulos fijadores de nitrógeno en las raíces y hojas alternas, a menudo compuestas, con estípulas. Las estipulaciones a veces se modifican en glándulas o espinas. Las hojas pueden ser trifoliadas, palmeadas compuestas, pinnadas compuestas o con dos folíolos parcialmente fusionados a lo largo de la vena central (19).

Descripción

Las Fabaceae pueden ser desde árboles hasta hierbas anuales. Las sinapomorfias incluyen inflorescencias indeterminadas (a veces reducidas a una flor), un hipantio corto, un solo carpelo con un ginóforo corto y frutos que son leguminosas (20).

Hojas: típicamente alternas y compuestas. Con mayor frecuencia son compuestos pinnados pares o impares, a menudo trifoliados y rara vez compuestos palmeados, y son típicamente bipinnados en Mimosoideae y Caesalpinioideae. Estípulas, que pueden tener forma de hoja, espinosas o apenas perceptibles, siempre están presentes en ellos. A veces, los folletos se convierten en zarcillos. Su margen es entero u ocasionalmente aserrado. Las hojas como los folíolos tienen pulvini arrugado que permiten movimientos násticos. Las hojas de muchas especies han desarrollado características que atraen a las hormigas, las cuales, como insectos depredadores, defienden a la planta de los insectos herbívoros. Las hormigas viven dentro de las estípulas huecas modificadas en algunas Acacias (20).

Las flores tienen cinco sépalos, generalmente fusionados, y cinco pétalos libres. Tienen un hipantio corto en forma de copa y son hermafroditas. Por lo general, tiene diez estambres, un ovario superior alargado y un estilo curvo. Por lo general, se organizan en inflorescencias indeterminadas. Las flores de Fabaceae son frecuentemente llamativas para atraer polinizadores porque son plantas típicamente entomófilas, que son polinizadas por insectos (20). Las flores son siempre cigóticas y tienen una estructura especial. El estandarte es grande y envuelve el resto de los pétalos en capullo. Los dos pétalos adyacentes, las alas, rodean los dos pétalos inferiores. Los dos pétalos inferiores se unen en la parte

superior para formar una estructura en forma de barco llamada quilla (20).

Raíces: muchas Fabaceae tienen estructuras en sus raíces llamadas “nódulos de raíz” que albergan bacterias. Estas bacterias (rizobios) tienen la capacidad de extraer nitrógeno (N₂) del aire y convertirlo en una forma de nitrógeno utilizable para la planta huésped (NO₃⁻ o NH₃) (20).

1.2.2 *Senna occidentalis* (retamilla)

Arbusto conocido como retamilla, la misma que pertenece a la familia Fabaceae Lindl del orden Fabales Bromhead (21). Considerada como una planta pantropical y se desarrolla en todas las regiones tropicales como Argentina, Perú, entre otros (22). Tiene las siguientes sinonimias: *Cassia caroliniana* Walter; *C. ciliata* Raf.; *C. falcata* L.; *Cassia obliquifolia* Schrank; *Senna occidentalis* (L.) Roxb.; *C. planisiliqua* Burm. f.; *C. plumieri* DC., entre otros (22). Presenta hojas alternas, compuestas, paripinnadas; un raquis canalizado con presencia de una glándula en la base; estípulas que son puntiagudas y tienen cordones oblicuos; folíolos que van en pares y miden 3,7cm x 2cm y 7 cm x 3,5 cm); son acuminados, tienen márgenes ciliados y pueden ser glabros o pubescentes. Las flores son completas, zigomorfas, pentámeras, bisexuales, ligeramente irregulares y pedunculadas; las brácteas son delgadas, puntiagudas, blancas con matices rosados, de color amarillo. Cinco sépalos cortos, gamosépalos, pentalobulados, obtusos, glabros forman el cáliz, siendo el sépalo impar es anterior. La corola tiene cinco pétalos que son polipétalos, alternos, subiguales, visiblemente nervados. El androceo tiene 10 estambres libres, de tamaño desigual. También tiene filamentos desiguales, anteras diticas, basífijos, introsos y poros terminales. El fruto es una vaina leñosa dehiscente con 23 a 30 semillas en su interior que mide 12,5 cm x 0,7 cm, es lampiña (22).

Usos:

Hojas: utilizado como adyuvante hepatotóxico. Semillas y hojas tostadas: Antiséptico. Modo de empleo: por vía oral (en té), 1 taza por la mañana y la noche. Tintura (1:10): 3 a 4 mL dos veces por día (23).

Senna occidentalis es un pequeño arbusto pantropical, comúnmente conocido como café Senna (24-25). En algunos países pobres, los granos/semillas maduras secas de *S. occidentalis* se tuestan y se utilizan como sustituto del café (26). Es nativo de las regiones tropicales de América y naturalizado en Australia, África Oriental y el sur y este de los Estados Unidos (27-29). Varias partes de *S. occidentalis* (semillas, raíces, hojas y tallos) se afirman tradicionalmente como útiles en el tratamiento de diferentes infecciones y otros alimentos (30-35). Además, algunos estudios de toxicidad indican el posible uso seguro de diferentes partes de la planta de *S. occidentalis*, como las hojas y los tallos (31). Sin embargo, a pesar de muchas afirmaciones medicinales, se ha informado que principalmente las semillas de *S. occidentalis* son venenosas para muchas especies animales y humanos (24).

Toxicidad ligada a la especie *S. occidentalis*

Los estudios toxicológicos han demostrado potentes efectos tóxicos de *Cassia occidentalis* en animales (36). Los signos de envenenamiento por semillas de *C. occidentalis* en general incluyen independientemente de especies animales: ataxia, debilidad muscular, punzadas y pérdida de peso, que finalmente conduce a la muerte. La degeneración del músculo esquelético es la lesión predominante que se encuentra en la mayoría de los animales intoxicados con *C. occidentalis* (37-38).

Se ha descrito que el mecanismo de toxicidad de *C. occidentalis* se debe al deterioro de función mitocondrial, incluyendo hinchazón, pérdida de mitocondrial matriz, crestas mitocondriales fragmentadas y agotamiento del glucógeno (37-38). Haraguchi *et al.* (39) identificaron diantrona, un compuesto derivado de la antraquinona en las semillas de *C. occidentalis* y demostraron que estas sustancias podrían causar la miopatía mitocondrial característica producida por esta planta.

1.2.3 Artemia sp.

Artemia sp. (Artemiidae), son pequeños crustáceos utilizados en la determinación de la toxicidad de diversos productos (40). Se ha utilizado para detectar micotoxinas

(41), toxicidad de extractos de plantas (42), metales pesados (43), cianobacterias (44), algas (45) y materiales dentales (46). Asimismo, se describió un ensayo en microplaca (47) ya que la misma facilita la prueba de diversos productos diluidos en serie en microplacas de 96 pocillos en un volumen de 200 μL .

BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA DE ARTEMIA

Morfología y ciclo de vida (48)

Los camarones de salmuera forman naturalmente quistes flotantes en la superficie del agua en ciertas épocas del año (Figura 1) y son arrastrados a la orilla por el viento y las olas.



Figura 1. Recolección de quistes de camarones en salmuera de un estanque de sal (49)

Mientras se mantengan secos, estos quistes no continúan creciendo porque están metabólicamente inactivos. Cuando se sumergen en agua de mar, los quistes se hidratan, se redondean y el embrión reanuda su metabolismo interrumpido dentro de la cáscara. La membrana externa del quiste se rompe después de aproximadamente 20 horas, revelando el embrión, que está rodeado por la membrana de eclosión (Figura 2). El desarrollo del nauplio finaliza mientras el embrión está suspendido debajo de la cáscara vacía (también conocida como etapa de "paraguas"), y en poco tiempo la membrana de eclosión estalla para revelar el nauplio nadador que acaba de nacer (Figura 3).

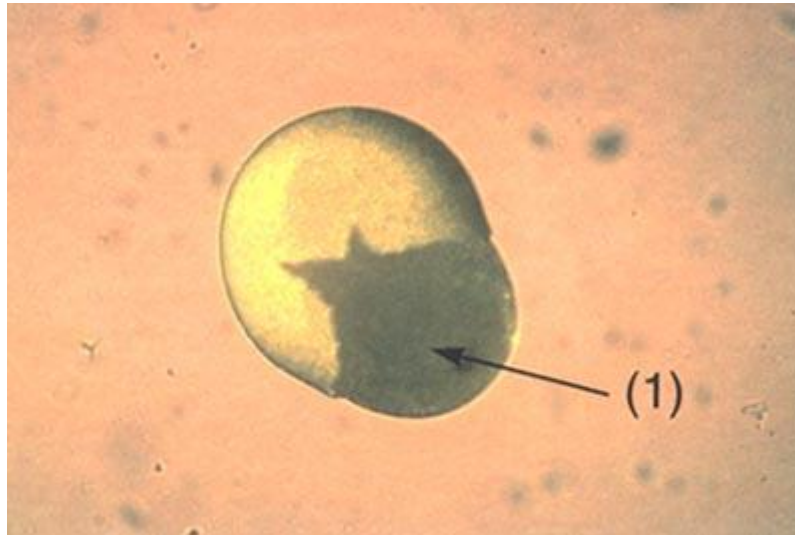


Figura 2. Quiste en etapa de rotura. (1) ojo de nauplio (50)

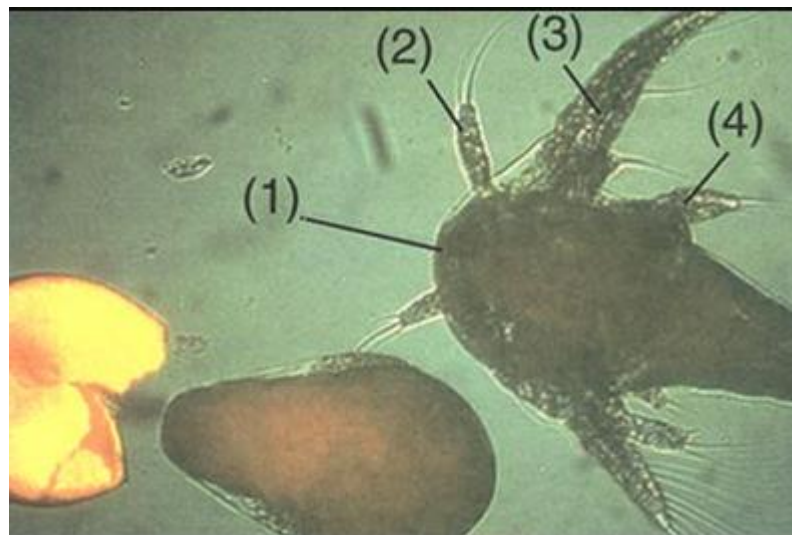


Figura 3. Embrión en estadio "paraguas" (izquierda) e estadio I nauplius (derecha). (1) ojo de nauplio; (2) antenula; (3) antena; (4) mandíbula (51)

El primer estadio larval (estadio I; de 400 - 500 μm de longitud) es de color marrón anaranjado, un ojo de nauplio rojo en la región de la cabeza y tres pares de apéndices: es decir, la primera antena (función sensorial), la segunda antena (función locomotora) + función de alimentación por filtración) y las mandíbulas (función de absorción de alimentos). El lado ventral presenta un gran labrum (absorción de alimentos: transferencia de partículas desde las setas filtrantes hacia la boca). La larva en estadio I no ingiere alimentos ya que su sistema digestivo aún no es funcional; prospera completamente en sus reservas de yema (51).

Después de unas 8 h, el animal mudo al segundo estadio larvario (estadio II). Las pequeñas partículas de alimentos (p. ej., células de algas, bacterias, detritos) que varían en tamaño de 1 - 50 μm es filtrado por la segunda antena y absorbido en el tracto digestivo funcional.

La larva crece y se diferencia a través de unas 15 mudas. Aparecen apéndices lobulares pares en la región del tronco y se diferencian en toracópodos (Figura 4). A ambos lados del nauplio se desarrollan ojos complejos laterales (Figura 5 y 6). A partir del estadio 10 se producen importantes cambios morfológicos y funcionales, es decir, las antenas pierden su función locomotora y se diferencian sexualmente. Las antenas del macho se convierten en ganchos y las antenas de la hembra en apéndices sensoriales. Los toracópodos ahora se diferencian en tres partes funcionales, a saber, los telopoditos y los endopoditos (locomotora y filtradora) y los exopoditos membranosos (branquias).

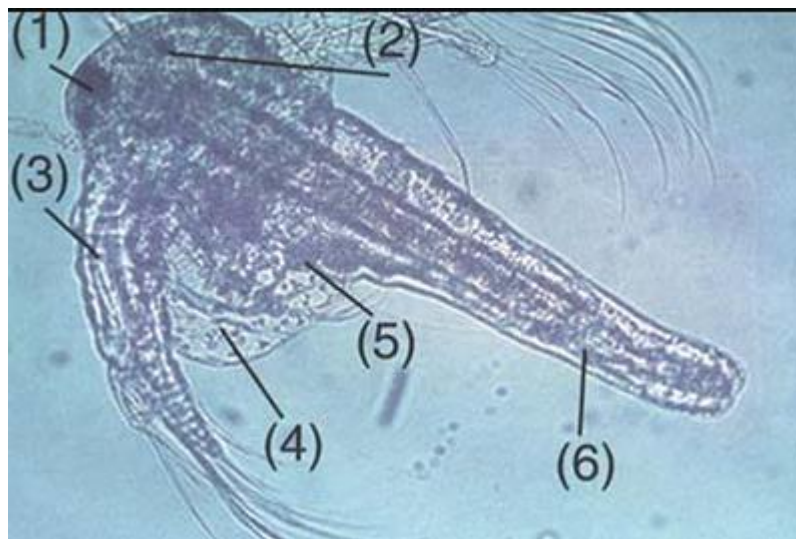


Figura 4. Larva en estadio V. (1) ojo de nauplio; (2) ojo complejo lateral; (3) antena; (4) labrum; (5) gemación de toracópodos; (6) tracto digestivo (52)

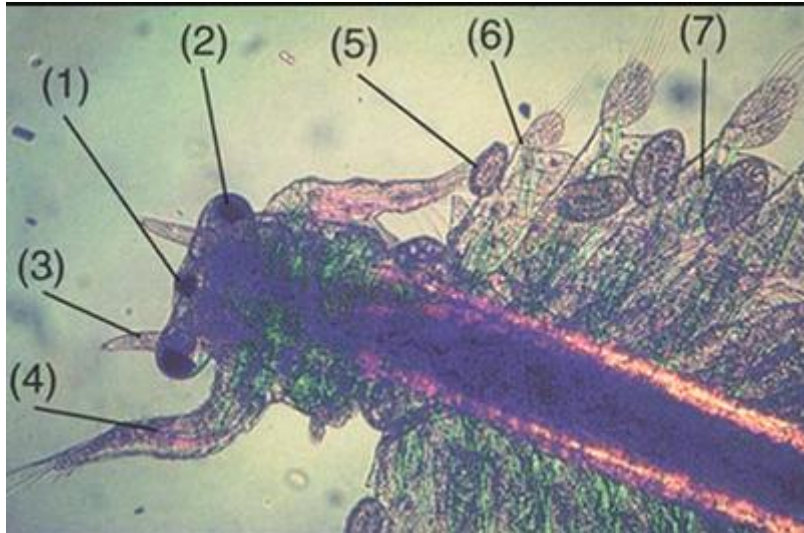


Figura 5. Cabeza y región torácica anterior del estadio XII. (1) ojo de nauplio; (2) ojo complejo lateral; (3) antena; (4) antena; (5) exopodito; (6) telopodito; (7) endopodito (53)

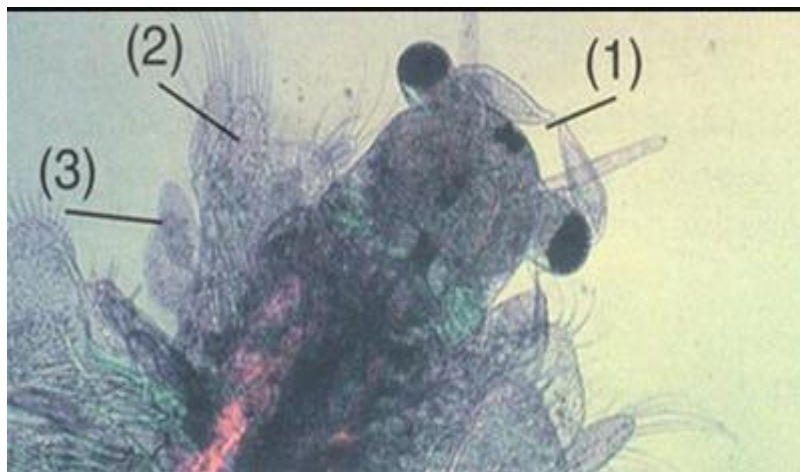


Figura 6. Cabeza y región torácica de macho joven. (1) antena; (2) telopodito; (3) exopodito (54).

1.3 Definición de términos básicos

Ensayo de toxicidad: evaluación del impacto de una sustancia o mezcla en una colección de organismos seleccionados en circunstancias predeterminadas.

Después de la exposición a la muestra, cuantifica la proporción de organismos afectados (efecto cuántico) o califica la gravedad del efecto (55).

Toxicidad aguda: efecto letal en organismos de prueba durante la exposición a una determinada sustancia, normalmente en un corto periodo de tiempo (55).

CL₅₀: utilizada para evaluar la toxicidad de una sustancia; se refiere a la concentración de la sustancia medida a la que el 50% de los organismos mueren durante un tiempo determinado (56).

Bioensayo: prueba en la que la fuerza o potencia de una sustancia se determina por cómo afecta a los seres vivos o a los sistemas vivos (55).

Extracto alcohólico: solución obtenida luego de macerar y filtrar material vegetal deshidratado en presencia de etanol (químicamente puro, grado reactivo) y luego eliminar físicamente el solvente (57).

Extracto hidroalcohólico: solución que se obtiene mezclando muestra seca con el disolvente (etanol:agua, 70:30 v/v), agitando dicha mezcla a 25 °C por 24 horas (58).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1 Formulación de hipótesis

Los extractos alcohólico e hidroalcohólico de hojas y tallo de *S. occidentalis* no presentan toxicidad aguda en nauplios de *Artemia franciscana* a concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm.

2.2 Variables y su operacionalización

2.2.1 Variable independiente: Extracto etanólico de especies vegetales. (EE)

Extracto hidroalcohólico. (EHA)

2.2.2 Variable dependiente: Toxicidad aguda en nauplios de *Artemia franciscana*.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías	Valores de las categorías	Medio de verificación
Independiente Extracto alcohólico e hidrológico de hojas y tallo de <i>S. occidentalis</i>	EE: muestra vegetal micropulverizada sometida a maceración en etanol (químicamente puro) con posterior filtrado, concentrado en rota vapor y posterior eliminación física del solvente (57). EHA: solución que se obtuvo luego de colocar muestra micropulverizada en alcohol etílico:agua destilada por 07 días con posterior eliminación física del disolvente (58).	Cuantitativa	Concentración de extractos	Razón			Hoja de reporte analítico
Dependiente Toxicidad aguda en nauplios de <i>Artemia franciscana</i>	Efecto letal producido en organismos de prueba expuestas a una sustancia, en un corto periodo de tiempo (55).	Cuantitativa	CL ₅₀	Razón	Tóxico No tóxico	1-1000 ppm > 1000 ppm	Hoja de reporte analítico

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Diseño metodológico

Tipo de estudio: experimental, debido a que se recopilaron y analizaron datos de varias fuentes con la ayuda del investigador, las variables se controlaron a propósito para establecer relaciones entre ellas.

Diseño: analítico, dado que se puso a prueba una hipótesis. El área de estudio fue dentro del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana sito en calle Pevas 5ta cuadra, Iquitos, departamento de Loreto.

3.2 Diseño muestral

Población de estudio: todo arbusto de *S. occidentalis* que se encontró en el km 4 de la carretera Iquitos-Nauta.

Muestra: dos kilogramos de hojas y tallo de la especie vegetal en buen estado de conservación. El muestreo se realizó por conveniencia, siendo estos georeferenciados (3° 48' 49" S 73° 19' 3" O).

Criterios de inclusión:

- Arbustos de *S. occidentalis* con hojas enteras y sanas; tallo en buen estado de conservación, procedentes del km 4 de la carretera Iquitos - Nauta.

Criterios de exclusión:

- Hojas rotas y agrietadas.
- Hojas y tallo que evidencien contaminación.

3.3. Procedimiento de recolección de datos

A) Obtención de especies vegetales

- Con la ayuda de tijera podadora, se recolectaron hojas y tallos de la especie a estudiar, guardándose en sobres de manila rotulados hasta su llegada al laboratorio.
- Se limpiaron cada órgano recolectado (hojas y tallos) los mismos que fueron cortados en pequeños fragmentos. Al mismo tiempo se realizó una selección de hojas y tallos sanos de la especie vegetal para su certificación respectiva (realizado por el responsable del Herbario Amazonense de la Universidad Nacional de Amazonia Peruana).
- Después, se procedió al secado correspondiente en un ambiente cerrado a 40 °C. Posterior a ello, se realizó la molienda, quedando en polvo. El micropulverizado se mantuvo en frascos de color ámbar.

B) Obtención de extractos

- b.1) Extracto alcohólico: se agregarán 100 mL de etanol (químicamente puro, grado reactivo) después de haber pesado 10 g de material vegetal. A continuación, se realizó una maceración por siete días. El extracto macerado se filtró, luego concentrado mediante un equipo rotavapor a una temperatura de 40°C y una velocidad de 40 rpm, luego filtrado con la ayuda de una bomba al vacío. El extracto obtenido en rotavapor fue secado en estufa a 40°C y luego refrigerado para ser utilizado en las pruebas correspondientes (57).
- b.2) Extracto hidroalcohólico: se mezclaron 10 g de muestra seca con 100 mL del disolvente (etanol:agua, 70:30 v/v), luego la mezcla se agitó a 25 °C por 24 horas. Posteriormente, El extracto se filtró y el disolvente orgánico se evaporó completamente a presión reducida en rotavapor a 40 °C. Luego, el extracto concentrado se secó en equipo estufa a 40 °C (58).

C) Toxicidad aguda en nauplios de *Artemia franciscana*

c.1) Animales de experimentación

Los huevos de *Artemia* fueron adquiridos en el Acuario Fishmen, ubicado en la ciudad de Iquitos, Departamento de Loreto. Estos huevos pasaron por un proceso de eclosión hasta convertirse en nauplios.

En un vaso precipitado de 1L, se prepararon una solución Instant Ocean al 3%, para ello disolver 30 g de dicha sal en 1L de agua destilada. De dicha solución, se extrajo 30 mL, donde se agregaron 0,1g de huevos de *A. franciscana* dejándolo reposar 15 minutos. Después, se agregaron 0,37 L más de la solución IO para hidratación de los huevos a 25°C durante 60 minutos. Posteriormente, colocamos un pelele de acuario en el vaso precipitado para su aireación respectiva; colocamos dos lámparas de 20W a 5 cm de cada lado del frasco para iluminar de manera uniforme; luego vino la incubación a 25°C por dos días.

c.2) Condiciones ambientales para los quistes de experimentación

Fueron monitoreados mediante un medidor de temperatura en el laboratorio entre 22 - 25 °C, la iluminación fue permanente con dos lámparas de 20W.

c.3) Tratamiento y evaluación de grupos experimentales

Se apagó el motor de acuario (pelele) y una de las lámparas para permitir que los nauplios queden reunidos en esa zona del vaso de precipitado. A continuación, se formaron 05 columnas de tubos de ensayo etiquetados: A, B, C, D, E; con tres filas cada una. Los tubos A1-A3, B1-B3, C1-C3 contuvieron nauplios con el extracto (6mL) para evaluación (estos son los grupos experimentales). Los tubos D1-D3 fueron los controles negativos (ya que sólo contendrán nauplios y la solución IO agregado en la cantidad de 6 mL); los tubos E1-E3 fueron los controles positivos quienes tendrán soluciones de 400 ppm de $K_2Cr_2O_7$ (6mL). Cada concentración se preparó por triplicado y agregarse a cada tubo. Se pipeteó 25 nauplios del vaso de precipitado que los contiene y se agregó la misma cantidad a todos los tubos de ensayo para experimentación; luego se cubrió con papel

aluminio y se colocará lámparas de 20 W en ambos lados durante 24 horas (59).

c.4) Determinación cuantitativa de supervivencia de nauplios

Después de haber expuesto los nauplios al extracto a evaluar durante 24 horas, se deberán contar. El contenido de todos los tubos se transfirió (uno a la vez) a una placa de cultivo de tejidos de 12 pozos; luego el tubo se enjuagó con un poco de agua a fin de asegurar que todos los camarones estén transferidos. Los nauplios se contaron con equipo de video de alta definición a fin de registrar el número de nauplios vivos y muertos (59) (Anexo 2)

3.4. Procesamiento y análisis de la información

Se usó análisis Probit para establecer los resultados de la mortalidad de las larvas de salmuera según el logaritmo de la concentración, en intervalo de confianza del 95% (59-60). Cuando el 50% de nauplios murieron dentro de las 24 horas posteriores a la exposición al extracto probado, presentó actividad biológica.

3.5. Aspectos éticos

No fue aplicable porque esta investigación no involucra a ningún sujeto humano.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

Toxicidad aguda

Tabla 1. Conteo de nauplios muertos de *Artemia franciscana*

Especie vegetal	Tipo de extracto	[]	Nauplios de Artemia	
			Total	Muertos
<i>S. occidentalis</i> - hojas	Alcohólico	10 ppm	75	12
		100 ppm	75	10
		1000 ppm	75	7
		I.O. 3% (-)	75	0
		K ₂ Cr ₂ O ₇		
		400 ppm (+)	75	75
<i>S. occidentalis</i> - hojas	Hidroalcohólico	10 ppm	75	15
		100 ppm	75	12
		1000 ppm	75	9
		I.O. 3% (-)	75	0
		K ₂ Cr ₂ O ₇		
		400 ppm (+)	75	75
<i>S. occidentalis</i> - tallo	Alcohólico	10 ppm	75	17
		100 ppm	75	14
		1000 ppm	75	13
		I.O. 3% (-)	75	0
		K ₂ Cr ₂ O ₇		
		400 ppm (+)	75	75
<i>S. occidentalis</i> - tallo	Hidroalcohólico	10 ppm	75	20
		100 ppm	75	17
		1000 ppm	75	7
		I.O. 3% (-)	75	0
		K ₂ Cr ₂ O ₇	75	75
		400 ppm (+)		

Tabla 1, muestra que el extracto hidroalcohólico de *S. occidentalis* - tallo a 10 ppm presenta la mayor cantidad de nauplios muertos.

Tabla 2. Cálculo del porcentaje de efecto, valor probit y CL₅₀

Especie vegetal según tipo de extracto	[] ppm	Log []	% efecto	Probit	CL ₅₀
<i>S. occidentalis</i> – hojas (alcohólico)	10	-2,00	16	4,01	> 1000 ppm
	100	-1,00	13	3,87	
	1000	0,00	9	3,66	
<i>S. occidentalis</i> – hojas (hidroalcohólico)	10	-2,00	23	4,26	
	100	-1,00	19	4,12	
	1000	0,00	17	4,05	
<i>S. occidentalis</i> – tallo (alcohólico)	10	-2,00	20	4,16	
	100	-1,00	16	4,01	
	1000	0,00	12	3,86	
<i>S. occidentalis</i> – tallo (hidroalcohólico)	10	-2,00	27	4,39	
	100	-1,00	23	4,26	
	1000	0,00	9	3,66	

Tabla 2, muestra que todos los extractos ensayados muestran un CL₅₀ > 1000 ppm, no presentando toxicidad aguda.

Tabla 3. Prueba de normalidad - % de mortalidad de nauplios

Tipo de extracto	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.
Alcohólico	0,976	6	0,930
Hidroalcohólico	0,939	6	0,649

Después de comparar los valores de sig=0,930 (93,00%) y sig= 0,649 (64,90%), ambos mayores que el valor de $\alpha= 0,05$ (5%), la Tabla 3 demuestra que todos los grupos presentan normalidad.

Tabla 4. ANOVA - % de mortalidad de nauplios

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	85,333	1	85,333	3,153	0,106
Dentro de grupos	270,667	10	27,067		
Total	356,000	11			

La tabla 4, muestra que sig.=0,106 siendo mayor al valor $\alpha=0,05$, el % de mortalidad de nauplios no presenta diferencia estadísticamente significativa.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Senna es un arbusto pequeño, perenne y ramificado. Sus hojas y vainas son laxantes comunes, utilizadas ampliamente en medicina y como remedio casero para tratar el estreñimiento en todo el mundo. Las hojas son astringentes, amargas, dulces, acre, termogénicas, catárticas, depurativas, tónicas hepáticas, antihelmínticas, colagogas, expectorantes, febrífugas (61).

Toda especie vegetal es importante estudiarla y la elección del disolvente a usar dependerá del tipo de planta, la parte de la planta que se va a extraer, la naturaleza de la sustancia bioactiva y la disponibilidad del disolvente. Para extraer compuestos polares se suelen utilizar disolventes polares como el agua, el metanol y etanol. El agua existe en todas las combinaciones debido a su alta polaridad y miscibilidad con disolventes orgánicos (62-64).

Los extractos de las plantas evaluados en este estudio se obtuvieron a partir de alcohol puro y alcohol:agua. En este sentido, el primer tipo de extracto utiliza el etanol como disolvente de los metabolitos y requiere un equipo de separación de éste antes de utilizar el extracto. En el caso del extracto hidroalcohólico, este tipo permite la extracción de metabolitos que son solubles tanto en alcohol como en agua. Sin embargo, la eficacia del extracto depende de los metabolitos obtenidos, que a su vez dependen del método utilizado (65). Se encontraron diferencias entre los extractos alcohólico e hidroalcohólico de hoja y tallo de *S. occidentalis*, observándose mayor porcentaje de mortalidad para el extracto hidroalcohólico del tallo a 10 ppm (tabla 1). En ambos casos se detectaron diferencias entre las concentraciones, donde el porcentaje de efecto disminuyó a medida que se incrementaba la concentración, lo que sugiere un efecto no tóxico.

Artemia sp. (Artemiidae) es utilizado para determinar la toxicidad de una amplia variedad de productos. Este ensayo se considera una de las herramientas más útiles para una evaluación preliminar de la toxicidad (40). Según la Tabla 1, se encontró que el extracto hidroalcohólico del tallo de *S. occidentalis* a 10ppm contenía la mayor cantidad de nauplios muertos, concentración considerada como extremadamente tóxica (66).

Según la Tabla 2, todos los extractos evaluados mostraron $CL_{50} > 1000$ ppm y esto demuestra que ninguno de ellos exhibió toxicidad aguda, siendo concordante con lo descrito por Meyer *et al.* (3) “los valores de CL_{50} superiores a 1000 ppm no se consideran bioactivos”. Los resultados obtenidos evidencia que el estudio actual, son concordantes con los resultados obtenidos con la investigación Isah RT, Mohammed MO, *et al.* del 2018 (16) donde ratas wistar recibieron extracto acuoso de hojas de *Senna occidentalis* a 5000 mg/kg en pruebas de toxicidad aguda y estos no mostraron un comportamiento anormal y no murieron. Esto también es relevante con el estudio Santos Filipe M, Isca VMS, *et al* del 2022 (14) donde se evaluó y revisó el procedimiento de bioensayo de letalidad de *Artemia salina* para determinar la toxicidad general de productos naturales. De manera similar, guarda relación con la investigación Esseh K, Afanyibo YG, *et al* del 2019 (15) en el que una proporción 50:50 de los extractos acuoso e hidroetanólico de la planta *Senna occidentalis* dio como resultados valores CL_{50} de 3310 ppm y 3700 ppm, considerándose ambos extractos no citotóxicos.

A pesar de que los estudios toxicológicos han demostrado los potentes efectos tóxicos de semillas u otros órganos de *S. occidentalis* (37-38,62), el presente estudio demostró que los extractos alcohólicos e hidroalcohólicos de *S. occidentalis* (hojas y tallo) evaluados a concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm no produjeron signos de toxicidad en nauplios de *A. franciscana*, indicando una concentración letal del 50% (CL_{50}) por encima de 1000 ppm.

En la tabla 3, se observa que todos los grupos presentan normalidad, después de comparar los valores de sig=0,930 (93,00%) y sig= 0,649 (64,90%), ambos mayores que el valor de $\alpha = 0,05$ (5%), permitiendo con ello aplicar la prueba paramétrica ANOVA, descrita en la tabla 4, donde se puede resaltar que el % de mortalidad de nauplios no presenta diferencia estadísticamente significativa.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- La Tabla 1 muestra que el extracto hidroalcohólico del tallo de *S. occidentalis* dio el mayor porcentaje de nauplios muertos a 10 ppm; esto se debe a que a esta concentración se considera extremadamente tóxica.
- El análisis de varianza (ANOVA) muestra que no existe una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,106$) en ambos extractos, según porcentaje de mortalidad de nauplios.
- Los dos extractos evaluados (alcohólico e hidroalcohólico) por medio del bioensayo de *Artemia* presentaron una CL_{50} superior a 1000 ppm, según el método Probit, lo que indica que no presenta toxicidad aguda.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- Para el cálculo de la dosis aguda por vía oral, será fundamental establecer evaluaciones *in vivo* adicionales utilizando los mismos órganos en otros extractos (cloroformo, N-hexano u otros).
- Será práctico fraccionar los extractos de *S. occidentalis* para identificar el principio activo responsable de otras actividades, entre las que se destacan: antiinflamatoria y antioxidante.
- La prueba de *Artemia* es útil para evaluar extractos de plantas para predecir la toxicidad. Sin embargo, aunque este método ofrece ventajas tales como rapidez, simplicidad y bajo costo, debe probarse junto con otras pruebas, como la toxicidad oral a 60 o 90 días.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Castañeda B, Manrique R, Ibáñez L. Efecto hipoglicemiante y sobre la lipidemia de *Notholaena nivea*, cuti cuti. *Horizonte Médico*. 2004; 4(1):9-22.
2. Day Roberto, A. *Cómo escribir y publicar trabajos científicos*. 2ª ed. Washington: OPS 1995; 217.
3. Meyer BM, Ferrigni NR, Putman JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mc Laughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 1982;45 (1):31-34.
4. Lewan L, Andersson M, Morales P. The use of *Artemia salina* in toxicity. *Testing Alternatives Lab. Anim*. 1992; 20:297-301.
5. Sanabria-Galindo A, Lopez SI, Gualdron R. Estudio fitoquímico preliminar y letalidad sobre *Artemia salina* de plantas colombianas. *Rev. Col. Cienc. Quim. Farm*. 1997; 26 (1):15-19.
6. Leboeuf M, Cave A, Bhaumik PK, Mukherjee B, Mukherjee R. The phytochemistry of Annonaceae. *Phytochemistry*. 1982; 21(12):2783–2813.
7. Ocampo DM. Seguimiento cromatográfico de algunos principios bioactivos presentes en *Annona cherimolioides* (Annonaceae). 2009; 2:103–112.
8. Aubréville A, 1970. Flore du Cameroun. 9 - Légumineuses (Césalpinioïdées). MESRES ed., Yaoundé, Cameroun, pág. 399.
9. Berhaut J, 1975. Flore illustrée du Sénégal. Tome 4. Clairafrique éd., Dakar, Sénégal, pág. 625.
10. Bernal H, Correa J. (1990), *Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello*. Secretaría Ejecutiva del Convenio Andrés Bello (SECAB), Bogotá, pp. 412 – 428.
11. Girón LM, Freire V, Alonso A, Cáceres A. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the caribs of Guatemala. *J. Ethnopharm*. 1991; 34:173-187.
12. Girach RD, Aminuddin G, Siddioui PA, Khan SA. Traditional plant remedies among the Kondh of District Dhenkanal (Orissas), *Int. J. Pharmacol*. 1994; 32:274- 285.
13. Barros CSL, Ilha MRS, Bezerra Jr. PS, Langhor IM, Kommers GD Intoxicação por *Senna occidentalis* (Leg. Caesalpinoideae) em bovinos em pastoreio, *Pesquisa Vet. Brasil*. 1999; 19:68-70.

14. Santos Filipe M, Isca VMS, Ntungwe NE, Princiotta S, Díaz-Lanza AM, Rijo P. Bioensayo de letalidad utilizando *Artemia salina* L. J. Vis. Exp. 2022; 188: e64472. www.jove.com/es/t/64472/lethality-bioassay-using-artemia-salina-l?language=Spanish
15. Esseh K, Afanyibo YG, Idoh K, Koudouvo K, Agbonon A, Gbeassor M. Screening Phytochimique, Étude Toxicologique, Évaluation des Activités Antiplasmodiale et Antiradicalaire de la Tige Feuillée de *Senna occidentalis* Linn (Fabaceae). European Scientific Journal February. 2019; 15(6):411-433.
16. Isah RT, Mohammed MO, Muhammad AT, Sahabi SM, Umar ZU, Mahmud RI, Abubakar U. Effects of Aqueous Leaf Extracts of *Senna occidentalis* on Rat Kidney. Afr. J. Biomed. Res. 2018; 21:225-230.
17. André TG, Mitsue H, Paulo CF, Raspantini M, Dagli LZ and Silvana LG. Toxicidad por semillas de *Senna occidentalis* en gallinas ponedoras y su efecto sobre la producción de huevo. Avian Pathology. 2017; 46:332-337.
18. Muhammad Y, Umar AM, Mohammed H, Ahmed G, Gumel MA and Alhassan M. Effect of Crude Methanol Extract of *Senna occidentalis* on Biomarkers of Oxidative Stress of wistar Rats with Experimental *Trypanosoma congolense* Infection. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2017;6(5): 2699-2705.
19. Fabaceae: The pea family. Disponible en: https://ezcurralab.ucr.edu/sites/default/files/2020-05/10_fabaceae.pdf
20. Fabaceae. Disponible en: <https://www.bionity.com/en/encyclopedia/Fabaceae.html>
21. *Senna occidentalis*. Disponible en: <https://www.tropicos.org/name/13032856>
22. *Senna occidentalis*. Disponible en: <https://antropocene.it/es/2020/08/11/senna-occidentalis/>
23. *Senna occidentalis*. Disponible en: <https://archivo.infojardin.com/tema/hierba-hedionda-o-brusca-senna-occidentalis-cassia-occidentalis-usos-medicinales.375100/>
24. Gebrelibanos M, Periyasamy G, Sintayehu B. *Senna occidentalis* seed: is it health risk or potential medicine? International Journal of Pharmacognosy. 2014;1(3):161–167.

25. Odeja OO, Obi G, Ogwuche CE, Elemike EE, Oderinlo OO. Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of *Senna occidentalis* (L.) leaves. *International Journal of Herbal Medicine*. 2014;2(4):26–30.
26. Hedberg I, Edwards S. *Flora of Ethiopian and Eritrea*. The National Herbarium, Addis Ababa and Uppsala. 1989; 3:57–59.
27. Belay W, Enyew M. Major toxic plants and their effect on livestock: a review. *Advances in Life Science and Technology*. 2016; 45:1–12.
28. Teles AV, Fock RA, Gorniak SL. Effects of long-term administration of *Senna occidentalis* seeds on the hematopoietic tissue of rats. *Toxicol*. 2015; 108:73–79.
29. Tasaka AC, Weg R, Calore E, Sinhorini IL, Dagli ML. Toxicity testing of *Senna occidentalis* seed in rabbits. *Veterinary Research Communications*. 2000;24(8):573–582.
30. Debela H, Zemedede A, Ensermu K. Use of traditional medicinal plants by people of “boosat” sub district, central eastern Ethiopia. *Ethiopian Journal of Health Sciences*. 2006;16(2).
31. Silva GB, Aragão TP, Vasconcelos FB. Acute and sub-acute toxicity of *Cassia occidentalis* L. stem and leaf in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011;136(2):341–346.
32. Moshi MJ, Otieno DF, Weisheit A. Ethnomedicine of the Kagera Region, north western Tanzania: plants used in traditional medicine in Kikuku village, Muleba District. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2012;8(1):1–25.
33. Reta R. Diversity and conservation status of some economically valued indigenous medicinal plants in Hawassa College of Teacher Education Campus, Southern Ethiopia. *International Journal of Advanced Research*. 2013;1(3):308–328.
34. Shittu OB, Olabode OO, Omemu AM, Oluwalana SA, Samuel A, Akpan I. Phytochemical and antimicrobial screening of *Spondias mombin*, *Senna occidentalis* and *Musa sapientum* against *Vibrio cholera*. *International Journal of Current Microbiology*. 2014;3(5):948–961.
35. Genene B, Ramachandra RP. Ethnobotanical study of medicinal plants used to treat human ailments by guji oromo tribes in abaya district, borana, oromia, Ethiopia. *University Journal of Plant Sciences*. 2015;3(1):1–8.

36. Tasaka AC, Weg R, Calore EE, Sinhorini IL, Dagli MLZ, Haraguchi M, Gorniak SL. Toxicity testing of *Senna occidentalis* seed in rabbits. *Veterinary Research Communications*. 2000; 24:573–582.
37. O'Hara PJ, Pierce KR. A toxic cardiomyopathy caused by *Cassia occidentalis*. I. Morphological studies in poisoned rabbits. *Veterinary Pathology*. 1974; 11:97–109.
38. Calore EE, Cavaliere MJ, Haraguchi M, Górnaiak SL, Dagli MLZ, Raspantini PCF, Calore NMP. Experimental mitochondrial myopathy induced by chronic intoxication by *Senna occidentalis* seeds. *Journal of Neurological Sciences*. 1997; 146:1–6.
39. Haraguchi M, Górnaiak SL, Dagli MLZ, Raspantini PCF. Determinação dos constituintes químicos das frações tóxicas de fedegoso (*Senna occidentalis* L.). 1996. In: Proceedings of Annual Meeting of the Brazilian Chemical Society, Poços de Caldas, Brazil.
40. Sam TW. Toxicity testing using the brine shrimp: *Artemia salina*. In: *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation and Structural Determination*, 1st ed. Boca Raton FL, USA. CRC Press 1993; 441-456.
41. Harwing J, Scott PM. Brine shrimp (*Artemia salina* L) larvae as a screening system for fungal toxins. *Appl Microbiol*. 1971; 21:1011-1016.
42. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plants constituents. *Planta Med* 1982; 45:31-34.
43. Sarabia R, Del Ramo J, Varo I, Díaz-Mayans T. Comparing the acute response to cadmium toxicity of nauplii from different populations of *Artemia*. *Environ Toxicol Chem* 2002; 21:437-444.
44. Jaki B, Orjala J, Bürji HR, Sticher O. Biological screening of cyanobacteria for antimicrobial and molluscicidal activity, brine shrimp lethality. *Pharm Biol* 1999; 37:138-143.
45. Caldwell GS, Bentley MG, Olive PJW. The use of brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay to assess the toxicity of diatoms extracts and short chain aldehydes. *Toxicon* 2003; 42:301-306.
46. Pelka M, Danzl C, Distler W, Petscheit A. A new screening test toxicity testing of dental materials. *J Dent* 2000; 28:341-345.

47. Solis PN, Wright CW, Andersen MM, Gupta MP, Phillipson JD. A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (brine shrimp). *Planta Med* 1993; 59:250-252.
48. Stappen GV. Laboratory of Aquaculture & Artemia Reference Center University of Gent, Belgium. Disponible en: <https://www.fao.org/3/w3732e/w3732e0m.htm#b4-4.1.2.1.%20Morphology%20and%20life%20cycle>
49. Recolección de quistes de camarones en salmuera de un estanque de sal. Disponible en: <https://www.fao.org/3/w3732e/w3732e0k.jpg>
50. Quiste en etapa de rotura. (1) ojo de nauplio. Disponible en: <https://www.fao.org/3/w3732e/w3732e0l.jpg>
51. Embrión en estadio “paraguas” (izquierda) e estadio I nauplius (derecha). (1) ojo de nauplio; (2) antenula; (3) antena; (4) mandíbula. Disponible en: <https://www.fao.org/3/w3732e/w3732e0m.jpg>
52. Larva en estadio V. (1) ojo de nauplio; (2) ojo complejo lateral; (3) antena; (4) labrum; (5) gemación de toracópodos; (6) tracto digestivo. Disponible en: <https://www.fao.org/3/w3732e/w3732e0n.jpg>
53. Cabeza y región torácica anterior del estadio XII. (1) ojo de nauplio; (2) ojo complejo lateral; (3) antenula; (4) antena; (5) exopodito; (6) telopodito; (7) endopodito. Disponible en: <https://www.fao.org/3/w3732e/w3732e0o.jpg>
54. Cabeza y región torácica de macho joven. (1) antena; (2) telopodito; (3) exopodito. Disponible en: <https://www.fao.org/3/w3732e/w3732e0p.jpg>
55. Ronco Alicia, Díaz Baez Maria Consuelo, Pica Granados Yolanda. Capítulo 1. Conceptos generales. Disponible en: [https://www.entrierios.gov.ar/ambiente/userfiles/files/archivos/Libro%20Aguas\(1\).pdf](https://www.entrierios.gov.ar/ambiente/userfiles/files/archivos/Libro%20Aguas(1).pdf)
56. Repetto M, Sanz P, Jurado C, López-Artíguez M, Menéndez M, de la Peña E. *Glosario de términos toxicológicos* (1995). Asociación Española de Toxicología. Madrid, España.
57. González Villa AA. *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos* [Trabajo final Tecnología en Alimentos]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia (2014). Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2800/angelaandreaonz>

- [alezvilla.2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y](#) Fecha de acceso: 10 diciembre 2021).
58. Heibatollah S, Mostafa M, Hossein S, Moslem N, Mehrzad J B, Mohammad ST, Fouad Mehraban. *In vivo* anti-inflammatory properties of aerial parts of *Nasturtium officinale*. *Pharmaceutical Biology*. 2014; 52(2):169-174.
59. Liang P, Macrae T. The synthesis of a small heat shock/alphacrystallin protein in *Artemia* and its relationship to stress tolerance during development. *Dev Biol*. 1999; 207:445-456. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10068475> Fecha de acceso: 30 de Abril 2021.
60. Andriolli A, Beraldo H, Santos D, Teixeira S, Teixeira L, Ziolli R. Avaliação do potencial citotóxico de 2-piridiniformamida tiossemicarbazonas e de seus complexos de Fe (III) utilizando *Artemia franciscana*. *Heal. and Environ. J*. 2007; 8:2-10. Disponible en: http://www.puc-rio.br/pibic/relatorio_resumo2007/resumos/QUI/ana_claudia_andriolli_daniell_e_da_s_santos_silvio_cesar_godinho_teixeira.pdf
61. Balasankar D, Vanilarasu K, Selva Preetha P, Rajeswari S, Umadevi M, Bhowmik D. Senna – A Medical Miracle Plant. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2013; 1(3):41-47.
62. Pandey A, Tripathi S. Concepto de estandarización, extracción y estrategias de detección prefitoquímica para medicamentos a base de hierbas. *J Pharmacogn Phytochem*. 2014; 2:115-119.
63. Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Yoga Latha L. Extracción, aislamiento y caracterización de compuestos bioactivos a partir de extractos de plantas. *Afr J Tradit Complemento Altern Med*. 2011; 8:1–10.
64. Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG, Lightfoot DA. Fitoquímicos: Extracción, aislamiento e identificación de compuestos bioactivos a partir de extractos de plantas. *Plantas*. 2017; 6:42.
65. Marcano D, Hasegawa M. 2002. Fitoquímica orgánica. Universidad Central de Venezuela. 588 p.
66. Lizarraga E, Castro F, Fernández F, De Lampasona MP, Catalán CAN. Antioxidant, hemolytic and cytotoxic activities of *Senecio* species used in traditional medicine of northwestern Argentina. *Nat Prod Commun* 2012;7(5):607–608.

ANEXOS

Anexo 1. Constancia de certificación de la especie vegetal



UNAP

Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN BOTÁNICA n.º 027-2023 AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRNA), de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana,

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por **CHRISTIAN SMITH DEL AGUILA ACOSTA** bachiller de la **Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica** de la **Facultad de Farmacia y Bioquímica** de la **Universidad Nacional de la Amazonía Peruana** pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado **"TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO E HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS Y TALLO DE *Senna occidentalis* EN NAUPLIOS DE *Artemia franciscana*"**; ha sido **DETERMINADA** en este centro de investigación y enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ-CIRNA-UNAP**, como se indica a continuación:

Nº	FAMILIA	ESPECIE	AUTOR
01	FABACEAE	<i>Senna occidentalis</i>	(L.) Link

Determinador: Ing. Juan Celidonio Ruiz Macedo

A los cinco días del mes de junio del año dos mil veintitrés, se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard J. Huaranca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense
CIRNA - UNAP



Anexo 2: Instrumento de recolección de datos

HOJA DE TRABAJO
ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA POR *Artemia franciscana*

REGISTRO DE DATOS Y RESULTADOS

FECHA:
H. INICIO:
H. TERMINO:

CANTIDAD DE NAUPLIOS INYECTADAS

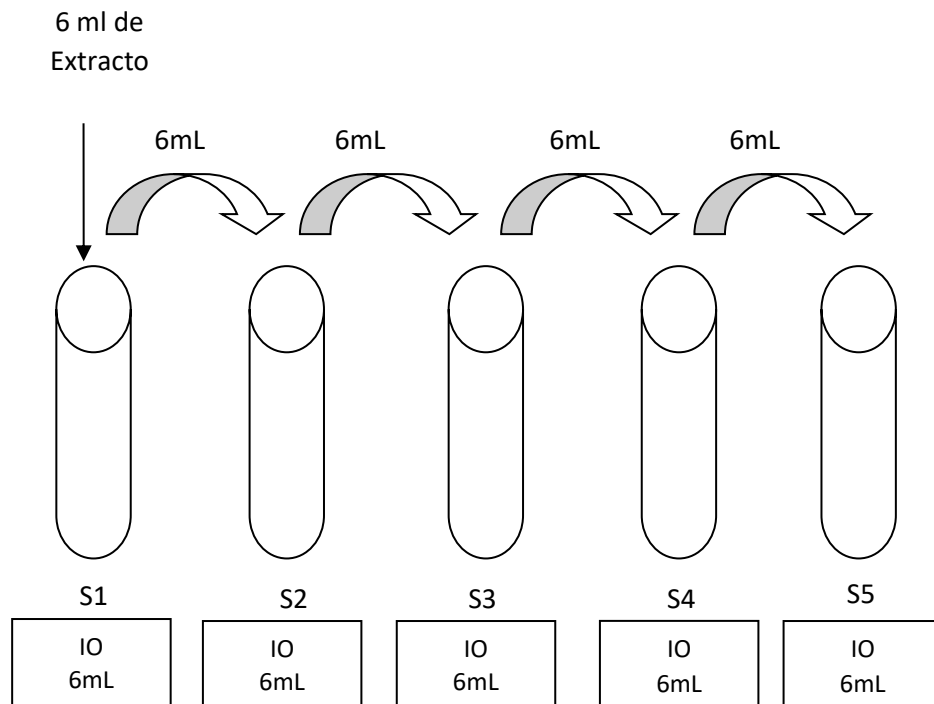
Muestra	Extracto de:						Control (-)		Control (+)	
[c]	S1		S2		S3		S4		S5	
repeticiones	10 ppm		100 ppm		1000 ppm		Sol. IO 3%		400 ppm K ₂ Cr ₂ O ₇	
1° replica	A1		A2		A3		A4		A5	
2° replica	B1		B2		B3		B4		B5	
3° replica	C1		C2		C3		C4		C5	

CONTEO DE NAUPLIOS VIVOS Y MUERTOS DE *Artemia franciscana* EN LAS DISOLUCIONES

FECHA:

Muestra	[c] ug/ml	Repeticiones	Nauplios DE Artemia			
			Total	Vivas	Muertas	% Letal
.....	S1 10 ppm	1° repeticiónA1 2° repeticiónB1 3° repeticiónC1 Total				
.....	S2 100 ppm	1° repeticiónA2 2° repeticiónB2 3° repeticiónC2 Total				
.....	S3 1000 ppm	1° repeticiónA3 2° repeticiónB3 3° repeticiónC3 Total				
.....	S4 (Sol. IO 3%)	1° repeticiónA4 2° repeticiónB4 3° repeticiónC4 Total				
.....	S5 400 ppm K ₂ Cr ₂ O ₇	1° repeticiónA5 2° repeticiónB5 3° repeticiónC5 Total				

Anexo 3. Esquema de dilución del extracto para el experimento



Anexo 4. Flujoograma del ensayo de la actividad toxicidad aguda *in vitro*

