



**UNAP**



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

**TESIS**

**TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO E HIDROALCOHÓLICO  
DE HOJAS Y CORTEZA DE *Artocarpus altilis* EN  
NAUPLIOS DE *Artemia franciscana***

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA**

**PRESENTADO POR:**

**EMILY JAZMIN VALERA PEREIRA**

**ASESORES:**

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

**IQUITOS, PERÚ**

**2024**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°007-2024-CGT-FFyB-UNAP**

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los 27 días del mes de junio del 2024, a horas 13.00., se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO E HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS Y CORTEZA DE *Artocarpus atilis* EN NAUPLIOS DE *Artemia franciscana*" presentado por la bachiller Emily Jazmin Valera Pereira, para optar el Título Profesional de Química Farmacéutica que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°222-2023-FFyB-UNAP, está integrada por:

- Q.F. ROSA DEL CARMEN MILUSKA VARGAS RODRÍGUEZ, Dra. Presidente
- Q.F. CLAUDIO ADRIANO APAGÜEÑO ARÉVALO, Mtro. Miembro
- Q.F. MARTHA MILAGROS MACO LUJÁN, Mtra. 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 ..... aprobada ..... con la calificación ..... Buena .....


Estando el bachiller apta para obtener el Título Profesional de Química Farmacéutica.


Siendo las ..... 14.00. se dio por terminado el acto ..... académico .....

  
Q.F. ROSA DEL CARMEN MILUSKA VARGAS RODRÍGUEZ, Dra.  
Presidente

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

  
Q.F. MARTHA MILAGROS MACO LUJÁN, Mtra.  
Miembro

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

  
Ing. VÍCTOR ERASMÓ SOTERO SOLIS, Dr.  
Asesor

## JURADO Y ASESORES

Q.F. Rosa del Carmen Miluska Vargas Rodríguez, Ph.D.  
CQFP N° 13391  
Presidenta

Q.F. Martha Milagros Maco Luján, Mtra.  
CQFP N° 12594  
Miembro

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

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

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

NOMBRE DEL TRABAJO

**FFB\_TESIS\_VALERA PEREIRA.pdf**

AUTOR

**EMILY JAZMIN VALERA PEREIRA**

RECUENTO DE PALABRAS

**5515 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**29043 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**26 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**782.1KB**

FECHA DE ENTREGA

**Jul 22, 2024 1:16 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Jul 22, 2024 1:16 PM GMT-5****● 23% de similitud general**

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

- 22% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 10% 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)

Dedico esta investigación a mis familiares que me han expresado su amplio apoyo y consideración durante mi etapa de preparación profesional; así como a los docentes de las aulas universitarias quienes me compartieron conocimiento, reforzando mi amor por esta hermosa profesión. Asimismo, a la comunidad científica por hacer que los resultados de este estudio sean la partida de nacimiento en proyectos sucesivos.

*Emily Jazmin*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por permitirme sonreír por todos mis logros, por su amor sincero y por encaminarme hacia un desarrollo profesional pleno.

A mis amados padres Roland y Esther, que con su esfuerzo constante y su amor invaluable guiaron mi camino, velaron mis noches y no me dejaron perecer, son ustedes mi fortaleza, LOS AMO.

A mi novio Junior, gracias por ser mi mejor amigo y mi apoyo incondicional, por siempre darme aliento y demostrarme que siempre estarás para mí, TE AMO AMOR.

A mi hermana Lissy, por ser mi amiga incondicional que me enseñó que el rendirme no es una opción y que siempre se sentirá orgullosa de su hermana pequeña, TE AMO.

A mi Lu, que con sus ocurrencias y alegrías me ayudaban a seguir, espero que siempre te sientas orgullosa de la tía que tienes mi princesa.

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

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	<b>Páginas</b>
Portada	i
Acta de sustentación	ii
Jurado y Asesores	iii
Resultado del informe de similitud	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Índice de contenido	vii
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	ix
Resumen	x
Abstract	xii
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	12
2.2 Variables y su operacionalización	12
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	14
3.1 Diseño metodológico	14
3.2 Diseño muestral	14
3.3 Procedimiento de recolección de datos	14
3.4 Procesamiento y análisis de la información	17
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	18
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	21
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	23
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	24
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	25
ANEXOS	31
Anexo 1. Constancia de certificación de la especie vegetal	31
Anexo 2. Instrumento de recolección de datos	32
Anexo 3. Esquema de dilución del extracto para el experimento	33
Anexo 4. Flujograma del ensayo de la actividad toxicidad aguda <i>in vitro</i>	33

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Tasa de mortalidad de los nauplios de <i>A. franciscana</i>	18
<b>Tabla 2.</b> Cálculo del porcentaje de efecto, valor probit y CL <sub>50</sub>	19
<b>Tabla 3.</b> Prueba de normalidad - % de mortalidad de nauplios	19
<b>Tabla 4.</b> ANOVA - % de mortalidad de nauplios	20



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>A. altilis</i>	7
<b>Figura 2.</b> <i>Artemia</i> adulto: macho (izquierda) y hembra (derecha)	10
<b>Figura 3.</b> Pruebas de toxicidad	10

## RESUMEN

El ensayo de *Artemia* es uno de los bioensayos más utilizados, ya que determina el efecto letal de los materiales en larvas de *Artemia*, y de esta manera se predice un amplio rango de efectos farmacológicos. *Artocarpus altilis*, comúnmente conocido como pan del árbol, contiene grandes cantidades de compuestos fenólicos a quienes se les atribuye una diversa bioactividad. **Objetivo:** determinar la toxicidad aguda del extracto alcohólico e hidroalcohólico de hojas y corteza de *Artocarpus altilis* en nauplios de *Artemia franciscana*. **Metodología:** Órganos de la especie en estudio recolectados por conveniencia, posteriormente utilizado en la preparación de extracto alcohólico e hidroalcohólico evaluados a 10, 100 y 1000 ppm en nauplios de *A. franciscana*. **Resultados:** La CL<sub>50</sub> obtenida es > a 1000 ppm para ambos extractos. **Conclusión:** los extractos alcohólico e hidroalcohólico de hojas y corteza de *A. altilis* no presentan toxicidad aguda en las concentraciones evaluadas.

**Palabras clave:** Toxicidad aguda, *Artocarpus altilis*, *Artemia franciscana*.

## ABSTRACT

The *Artemia* assay is one of the most used bioassays, since it determines the lethal effect of materials on *Artemia* larvae, and in this way a wide range of pharmacological effects is predicted. *Artocarpus altilis*, commonly known as tree bread, contains large amounts of phenolic compounds to which diverse bioactivity is attributed. **Objective:** to determine the acute toxicity of the alcoholic and hydroalcoholic extract of leaves and bark of *Artocarpus altilis* in nauplii of *Artemia franciscana*. **Methodology:** Organs of the species under study collected for convenience, subsequently used in the preparation of alcoholic and hydroalcoholic extract evaluated at 10, 100 and 1000 ppm in nauplii of *A. franciscana*. **Results:** The LC<sub>50</sub> obtained is > 1000 ppm for both extracts. **Conclusion:** the alcoholic and hydroalcoholic extracts of leaves and bark of *A. altilis* do not present acute toxicity at the concentrations evaluated.

**Keywords:** Acute toxicity, *Artocarpus altilis*, *Artemia franciscana*.

## INTRODUCCIÓN

En Perú, la utilización de plantas medicinales se considera una práctica común que se transmite de generación en generación (1). El uso y comercialización de plantas medicinales está siendo estimulado por la industria que busca fuentes naturales de medicamentos debido a los efectos secundarios de las drogas sintéticas. Sin embargo, muchas plantas utilizadas por la población peruana no han sido estudiadas, ni los componentes de su metabolismo secundario han sido identificados y aprobados como medicamentos (2).

En los círculos populares, la creencia en usar plantas medicinales para tratar enfermedades: de tipo respiratorio, cáncer, entre otros; es completamente natural, económico, seguro y efectivo. Sin embargo, el uso de plantas con fines alimentarios y terapéuticos debe limitarse a especies debidamente identificadas y conocidas, ya que algunas especies de plantas pueden causar intoxicaciones (3). Para que una planta sea considerada tóxica, un producto de su metabolismo secundario, inhalado, ingerido o en contacto con humanos, debe causar cambios patológicos, trastornos físicos o incluso la muerte (4).

Los compuestos activos de las plantas utilizadas con fines medicinales pueden ser perjudiciales para el organismo en concentraciones elevadas, debido a la creencia generalizada de que aumentan la potencia, el exceso de confianza, la ignorancia o el descuido (5).

Las plantas medicinales juegan un papel importante no solo en el sistema tradicional de atención de la salud, sino también en el mercado internacional de hierbas y medicamentos (6). En ese sentido, *Artocarpus altilis* es una excelente planta nativa y se usa a menudo en preparaciones de remedios caseros. Los extractos metanólicos de la corteza del tallo y de la raíz, las hojas, frutos y semillas han mostrado actividad antibacteriana de amplio espectro (7), y las decocciones acuosas de hojas han demostrado actividad hipoglucemiante en ratas y humanos (8-9).

Los estudios de toxicidad realizados para evaluar sustancias, incluyen la determinación de la concentración letal (CL<sub>50</sub>) y dosis letal del 50 % (DL<sub>50</sub>) del producto (especies animales de estudio únicamente); además de la obtención de imágenes generadas en el estado agudo de toxicidad. El uso de *Artemia franciscana* se ha extendido a la investigación de toxicología aplicada, debido a la disponibilidad comercial de huevos que se pueden incubar en condiciones estandarizadas en laboratorios de bioensayo de toxicología (10–12).

*A. franciscana* es de gran importancia en la industria acuícola por su consecuente alimentación de larvas de peces y crustáceos (13), pero como sistema de ensayo para determinar la toxicidad de agentes químicos y biológicos, también se utiliza en investigaciones para desarrollar toxicología (14-15). Dado lo anterior, el conocimiento sobre la toxicidad de las plantas medicinales utilizadas por la población, permite colaborar en dilucidar su consumo, efectividad y complicaciones; y, por consiguiente, genera evidencia documentada sobre la toxicidad aguda que puede evidenciar *A. attilis*, razón por la que la investigación reciente permitió determinar la toxicidad aguda del extracto alcohólico e hidroalcohólico de hojas y corteza de *A. attilis* en nauplios de *A. franciscana*.

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1 Antecedentes

En el año 2020, en Indonesia evaluaron la toxicidad en semillas y pulpa del fruto de *Artocarpus odoratissimus* Blanco exponiendo larvas de *Daphnia magna*  $\leq$  24 horas de edad con una solución del grupo experimental y el grupo control durante 48 horas. Los resultados obtenidos del extracto etanólico de semillas fueron  $EC_{50}=3922,301 \text{ ppm} \pm 324,590$  en 24 horas y  $EC_{50}=2964,498 \text{ ppm} \pm 412,498$  en 48 horas de evaluación; para el extracto etanólico de pulpa del fruto fueron  $EC_{50}=12224,514 \text{ ppm} \pm 2186,899$  en 24 horas y  $EC_{50}=6165,235 \text{ ppm} \pm 1940,006$  en 48 horas; el trabajo concluyó que el extracto etanólico de pulpa del fruto de *A. odoratissimus* Blanco no es tóxico para las larvas de *D. magna* (16).

En 2020, en Indonesia evaluaron el potencial antioxidante y tóxico de extractos acuosos de la fruta del pan (*Artocarpus altilis*) y la nuez del pan (*A. camansi*). La investigación determinó que los ensayos de antioxidantes empleados fueron la cantidad total en fenoles y flavonoides, la actividad de eliminación de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), el ensayo de reducción de potencia e inhibición de la peroxidación del ácido linoleico; y, el potencial de toxicidad aguda mediante la inhibición de la bioluminiscencia de *Vibrio harveyi*. En sus resultados el  $EC_{50}$  determinado a partir de la evaluación de toxicidad ( $>2,4 \text{ mg/mL}$ ) fue superior a las concentraciones de todos los extractos utilizados en potencial antioxidante; el trabajo concluyó que la actividad antioxidante más alta y toxicidad relativamente más baja se obtuvieron para hojas de pan, aquenio de pan y hojas de fruta del pan (17).

En el año 2019, en Brasil se evaluó la toxicidad y actividad citotóxica de las semillas de *Artocarpus heterophyllus*. La toxicidad fue probada con el ensayo de letalidad de camarones en salmuera, el ensayo de hemólisis y el efecto de los extractos en las líneas celulares de cáncer T47D, TH29 y B16F10. En sus resultados, la semilla de *A. heterophyllus* no presenta efectos tóxicos en camarones de salmuera, no tiene actividad hemolítica y fue efectiva en todas las líneas celulares de cáncer evaluadas. La  $IC_{50}=46,67 \text{ } \mu\text{g/mL}$  fue del extracto de cloroformo en células T47D;

IC<sub>50</sub>=23,42 µg/mL de extracto etanólico en células HT29 e IC<sub>50</sub>=74,31 µg/mL de extracto etilacético en células B16F10; el trabajo concluyó que las semillas de *A. heterophyllus* no presentan toxicidad y son muy efectivas en líneas celulares cancerosas T47D, TH29 y B16F10 (18).

En el año 2019, en Indonesia se determinó el contenido de metabolitos secundarios, toxicidad y actividad antioxidante del extracto de corteza de *Artocarpus lanceifolius* Roxb. Se utilizaron n-hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol como solventes para obtener los extractos, usadas en pruebas fitoquímicas, de toxicidad mediante la prueba de letalidad en salmuera de camarones (BSLT) y de antioxidantes mediante el método 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Los resultados mostraron que el extracto de n-hexano contenía terpenoides y esteroides, mientras que los de cloroformo, acetato de etilo y metanol contenían compuestos flavonoides y fenólicos. Los valores de toxicidad (CL<sub>50</sub>) para el extracto de n-hexano, cloroformo y acetato de etilo fueron 1,0853 µg/mL; 0,1635 µg/mL; 0,3615 µg/mL respectivamente. El trabajo concluyó que el extracto de corteza de *A. lanceifolius* Roxb mostró una fuerte toxicidad caracterizada por un valor CL<sub>50</sub> muy pequeño (19).

En el año 2015, en la India se investigó el extracto metanólico de hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam. (EMAA) sobre úlceras inducidas por indometacina en ratas albinas suizas y establecer el mecanismo probable de la actividad antiulcerosa, según los parámetros: el pH y la concentración de ácido del contenido gástrico. En sus resultados, EMMA (500 mg/kg p.o.) mostró inhibición de la ulceración gástrica inducida por indometacina, disminución de la concentración de ácido en el contenido gástrico y aumento del pH del contenido gástrico. Según el estudio de toxicidad aguda, no hubo mortalidad tras la aplicación de dosis de extracto superiores a 5000 mg/kg. El trabajo concluyó que la propiedad antiulcerosa probablemente funciona al disminuir la secreción de ácido gástrico (20).

En 1995, en Brasil se evaluó la toxicidad para nauplios de *Artemia* sp. y la digestibilidad *in vitro* de lectinas aisladas de semillas de *Canavalia ensiformis*, *C. brasiliensis*, *Cratylia floribunda*, *Dioclea guianensis*, *D. virgata* y *Artocarpus integrifolia*. Los resultados mostraron que las lectinas aisladas de *C. floribunda*, *D.*

*guianensis* y *D. virgata* fueron las más tóxicas, con DL<sub>50</sub> de 400, 450 y 450 µg/mL respectivamente. El grado de toxicidad disminuyó en presencia de glucosa, mostrando que los sitios de unión específicos de carbohidratos estaban involucrados en el mecanismo tóxico; el trabajo concluyó que no se observó una correlación clara entre la digestibilidad de la lectina y la toxicidad para nauplios de *Artemia* sp. (21).

## **1.2 Bases teóricas**

### **1.2.1 Familia Moraceae**

Considerado como la familia de las moras o de las higueras, con más de 1,000 especies repartidas en 40 géneros. La mayoría son más comunes en zonas tropicales y subtropicales que en las templadas. La única sinapomorfia en las Moraceae es la presencia de laticíferos y savia lechosa en todos los tejidos parenquimatosos, pero generalmente las características de campo útiles incluyen dos carpelos, ocasionalmente con una flor reducida, compuesta, discreta y frutos compuestos (22).

Las plantas de la familia Moraceae contienen un látex lechoso y tienen hojas alternas u opuestas y pequeñas flores masculinas o femeninas sin pétalos. Los frutos de muchas especies son múltiples porque los frutos de diferentes flores se juntan (22).

Algunos géneros producen frutos comestibles, como la morera (*Morus*), el higo (*Ficus carica*), el árbol del pan y la yaca (*Artocarpus*) y el affon o árbol del pan africano (*Treculia*). Otros, como *Antiaris*, *Ficus* y *Castilla*, son importantes por su madera y látex. El látex del árbol upas (*Antiaris toxicaria*) de Java se utiliza como veneno para flechas; el látex del árbol vaca (*Brosimum utile*) de América tropical es dulce y nutritivo (22).

### **1.2.2 Género *Artocarpus***

Las plantas de *Artocarpus* ofrecen ventajas como cultivo multipropósito



rentable para la producción de frutas y madera. El valor medicinal excepcional de *Artocarpus* ha sido reconocido desde hace mucho tiempo y económicamente el género tiene una importancia apreciable como fuente de frutos agregados comestibles; como *A. heterophyllus* (jaca), *A. altilis* (fruta del pan) y *A. chempeden* (Chempedak) y que producen buena madera. Los extractos de las partes aéreas y subterráneas de la planta se han aplicado en la medicina tradicional para el tratamiento de la diarrea, la diabetes, la malaria, la tenia y otras dolencias. Los otros usos incluyen propiedades cicatrizantes, antisifílicas, expectorantes y también para tratar la anemia, el asma y la dermatitis (23).

Estudios farmacológicos *in vitro* e *in vivo*, se centran en las actividades inhibitoras de tirosinasa, 5-lipoxigenasa, 5- $\alpha$  reductasa de especies de *Artocarpus*. La mayoría de los efectos farmacológicos pueden explicarse por los compuestos fenólicos que incluyen flavonoides, estilbenoides, arilbenzofurones presentes en todas las partes de la planta y Jacalin, una lectina presente en las semillas de ciertas especies de *Artocarpus*. Sin embargo, los esfuerzos futuros deben concentrarse más en estudios *in vitro* e *in vivo* y también en ensayos clínicos para confirmar los conocimientos tradicionales a la luz de una fitoterapia racional. Especialmente, la eficacia de Jacalin, una lectina extraída de las semillas de *Artocarpus* en el control de infecciones virales, el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) y la modulación de la respuesta inmune a patógenos debe corroborarse en estudios clínicos (23).

### **1.2.3 *Artocarpus altilis***

Conocida como pandisho, pan del árbol, pertenece a la Familia Moraceae Gaudich, del orden Rosales Bercht. & J. Presl (24). Árbol erguido, que crece hasta 26 m de alto, presenta un tronco de 6 m y un ancho de 0,6 a 1,8 m aproximadamente. Posee un gran número de ramas robustas con abundante follaje, otras largas y esbeltas con follaje arracimado en los extremos; Las hojas son verdes, nacidas de gruesos pecíolos amarillos. El fruto es comestible, de forma redonda u ovalada, grande en comparación

con otros frutos, llegando a pesar en promedio hasta 4 Kg. Presenta corteza verde, gruesa, rugosa, aunque puede volverse amarilla a medida que madura. Todas las partes del árbol, incluida la fruta verde, son ricas en látex gomoso (25).

### **Usos**

**Fruto:** Comerla verde porque no tiene sabor cuando está madura. Hay varias variedades cultivadas y en algunos lugares se aprovechan las semillas para comerse tostadas. Los frutos secos se transforman en harina y en los países de Barbados y Brasil se están estudiando métodos para mejorar la tecnología de producción de harina con miras a utilizarla como sustituto de la harina de trigo en la panificación. Se ha demostrado que esta combinación es más nutritiva que la harina de trigo, ya que la harina de pan tiene niveles significativamente más altos de lisina y otros aminoácidos esenciales que la harina de trigo (25).

**Usos medicinales:** en Trinidad y las Bahamas, se dice que la decocción de las hojas reduce la presión arterial y alivia el asma; el jugo de las hojas trituradas se usa en gotas para los oídos; las cenizas obtenidas luego de quemar las hojas, al igual que el látex se usan para infecciones de la piel; las flores tostadas usadas en frotación de las encías alivian el dolor de dientes (25).



Figura 1. *A. altalis* (26)

### Toxicidad ligada a la especie *A. attilis*

Los compuestos flavonoides y fenólicos encontrados en *A. attilis* han hecho su popularidad. Esta planta se ha utilizado como medicina tradicional en Indonesia para diversas enfermedades. En un ensayo de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difenil tetrazolio (MTT) para determinar el nivel de toxicidad del extracto etanólico de hojas de *A. attilis*, señalaron que el extracto es seguro frente a células RAW 264.7 estimuladas con lipopolisacárido (27).

#### **1.2.4 Pruebas de Toxicidad**

Las pruebas de toxicidad se utilizan para establecer vínculos entre la toxicidad de productos químicos ambientales y efectos ecológicos adversos. La mayoría de las pruebas de toxicidad involucradas en la regulación de la liberación de productos químicos al medio ambiente han utilizado animales como especies de prueba. Estas pruebas suponen que los animales son más sensibles que las plantas a los efectos químicos y que los criterios utilizados para proteger a los animales, generalmente peces e invertebrados, también protegen a las plantas (28).

Se han desarrollado pruebas de toxicidad usando plantas para monitorear concentraciones de contaminantes ambientales, para evaluar la biotransformación de xenobióticos, para evaluar la fitotoxicidad, para estimar la bioacumulación y para ser utilizados como sustitutos para ensayos con animales en el estudio de anomalías genéticas (29). La mayoría de las pruebas de toxicidad han utilizado plantas terrestres, principalmente plantas de cultivo o agua dulce, plantas acuáticas como algas y lentejas de agua. El uso de algas marinas para pruebas de toxicidad ha sido revisado por Walsh (30), Fletcher (31) y Thursby *et al.* (32).

La toxicidad de los remedios a base de hierbas sigue siendo un gran desafío que limita su uso a pesar de que el público en general cree que son seguros y carecen de toxicidades potenciales (33). Las toxicidades comunes son

hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, neurotoxicidad, toxicidad pulmonar, toxicidad cardíaca, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, convulsiones y neumonía eosinofílica aguda (34-35).

La causa de la toxicidad puede deberse a la presencia de metabolitos secundarios tóxicos inherentes, el procedimiento de preparación del producto herbal, la variabilidad en los ingredientes activos y/o tóxicos debido a las condiciones de crecimiento y la química del suelo, la identificación errónea de las hierbas durante la cosecha, la contaminación por hongos patógenos durante el almacenamiento. y transporte, y adulteración (36-37). Por lo tanto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que los remedios a base de hierbas se sometan a rigurosas pruebas científicas tanto de eficacia como de seguridad para proteger al público contra la exposición a fitoquímicos venenosos.

La importancia de las pruebas de toxicidad es proporcionar cambios dependientes de la dosis contra el efecto de la toxicidad, estudiar la seguridad de los componentes de la muestra y autenticar los métodos de investigación de la toxicidad (38).

### **1.2.5 Artemia sp.**

Entre varios invertebrados examinados y evaluados para investigar la sensibilidad a muchas sustancias físicas y químicas, *Artemia* sp. (camarones en salmuera) son extremadamente sensibles a toxicidad, razón por la que destaca como una de las especies de uso frecuente para pruebas de toxicidad (39); además de ser reconocido y catalogado como el organismo de ensayo de toxicidad utilizado por la Agencia de Protección Ambiental - Estados Unidos (40). *Artemia* sp. es un crustáceo, adaptada a condiciones de vida en lagos hipersalinos (41), viven principalmente sobre fitoplancton (42-43) y están estrechamente relacionados con el zooplancton, como copépodos y dafnias (Figura 2).

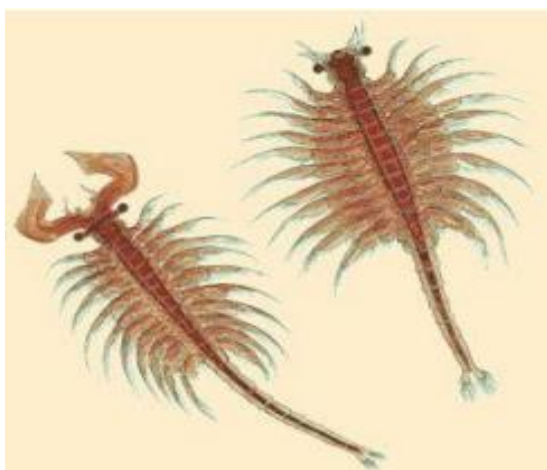


Figura 2. *Artemia* adulto: macho (izquierda) y hembra (derecha) (44)

Normalmente se emplea de forma rutinaria como prueba organismo para estudios ecotoxicológicos. Los niveles moleculares, celulares y fisiológicos de *Artemia* sp. pueden cambiar radicalmente cuando están bajo estrés por contaminación (45). En la actualidad, una variedad de pruebas de toxicidad con *Artemia* sp. se han realizado (aguda a corto plazo y crónica a largo) (Figura 3), siendo el primero siendo el más utilizado.

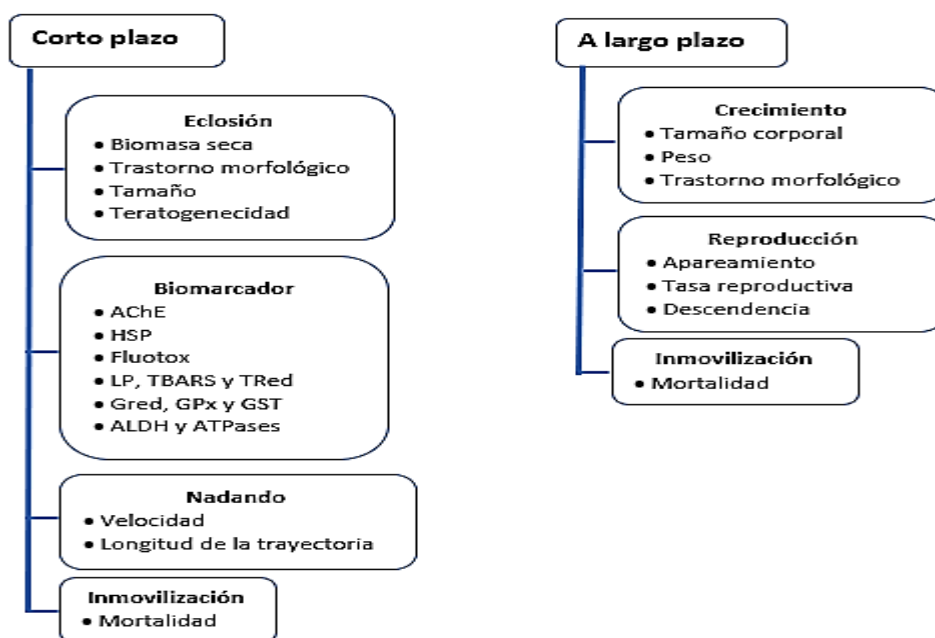


Figura 3. Pruebas de toxicidad (46)

(AChE=Acetilcolinaesterasa; HSP=proteínas del estrés por calor; LP=peroxidación lipídica; TBARS=sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico; TRed=tiorredoxina reductasa; GPx=glutación peroxidasa; GST=glutación S-transferasa; GRed=glutación reductasa; ALDH=aldehído deshidrogenasa y ATPases=Adenosiltrifosfatasa).

La toxicidad aguda evalúa principalmente los efectos a causa de concentraciones relativamente altas (mg/L) de exposición por no más de 96 horas. La concentración letal 50, causa la muerte de la mitad de los animales probados (CL<sub>50</sub>) (47).

### 1.3 Definición de términos básicos

- Ensayos de toxicidad: determina el efecto que posee una sustancia aplicada a un grupo seleccionado de organismos bajo parámetros definidos (48).
- Toxicidad aguda: efectos adversos (mortales o subletales) que se presentan en los organismos a evaluar durante un período de exposición de unos días (48).
- Toxicidad subaguda: efectos adversos que ocurren después de una exposición múltiple o continua entre 24 h y 28 días (49).
- Toxicidad subcrónica: efectos adversos que ocurren después de la administración repetida o continua de una muestra de prueba durante hasta 90 días (49).
- CL<sub>50</sub>: medición del efecto letal de una sustancia, sobre el 50% de los organismos muertos durante un periodo de evaluación determinada (50).
- Bioensayo: prueba en la que la potencia o actividad de una sustancia se mide por la respuesta de organismos vivos o sistemas vivos (48).
- Extracto alcohólico: solución obtenida de material vegetal deshidratado, por inmersión o contacto con alcohol etílico, con posterior eliminación de solvente por un procedimiento físico (51).
- Extracto hidroalcohólico: solución obtenida de material vegetal deshidratado, inmersión o contacto con alcohol etílico más agua, con posterior eliminación de solvente por un procedimiento físico (51).

## CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 2.1 Formulación de hipótesis

Los extractos alcohólico e hidroalcohólico de hojas y corteza de *A. atilis* no presentan toxicidad aguda en nauplios de *A. franciscana* a 10, 100 y 1000 ppm.

### 2.2 Variables y su operacionalización

#### 2.2.1 Variable independiente:

Extracto alcohólico de especies vegetales (EET).

Extracto hidroalcohólico (EHAL).

#### 2.2.2 Variable dependiente:

Toxicidad aguda en nauplios de *A. franciscana*.

## OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición operacional	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías	Valores de las categorías	Medio de verificación
<b>Independiente</b> Extracto alcohólico e hidro alcohólico de hojas y corteza de <i>A. altilis</i> .	EET: solución obtenida por maceración o filtración de material vegetal deshidratado en presencia de alcohol etílico, seguida de eliminación física del solvente (50).  EHAL: solución a base de material vegetal deshidratado obtenido por inmersión en alcohol etílico y agua y eliminación física del solvente (50).	Cuantitativa	Concentración de extractos	Razón			Hoja de reporte analítico
<b>Dependiente</b> Toxicidad aguda en nauplios de <i>A. franciscana</i>	Es una prueba para estimar la toxicidad aguda de un tratamiento en concentración letal (CL <sub>50</sub> ).	Cuantitativa	CL <sub>50</sub>	Razón	Tóxico	1-1000 ppm	
					No tóxico	> 1000 ppm	



## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1 Diseño metodológico

**Tipo de estudio:** experimental, dado que se recopiló y analizaron los datos obtenidos de distintas fuentes con intervención del investigador.

**Diseño:** analítico, ya que se buscó la correlación de las diferentes concentraciones con la toxicidad aguda.

### 3.2 Diseño muestral

La población de estudio: todos los árboles de *A. altilis* presentes en el centro poblado de Quistococha; tamaño de la población de estudio: dos kilogramos de hojas y corteza de la especie vegetal en buen estado de conservación. El muestreo se realizó por conveniencia, los mismos fueron geo-referenciados (3°49'8" S 73°19'53" O).

Criterios de inclusión:

- Hojas enteras y sanas.
- Corteza en buen estado de conservación.

Criterios de exclusión:

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

### 3.3 Procedimiento de recolección de datos

#### A) Obtención de especies vegetales

a.1) Recolección: con tijeras podadoras se cortaron hojas y corteza de *A. altilis*, guardándolos en sobres de manila debidamente rotulados.

a.2) Preparación y limpieza: se limpiaron (ambos órganos recolectados), cortados en trozos diminutos. Asimismo, se seleccionaron hojas y corteza para identificarla y certificarla.

a.3) Certificación de especies vegetales: el responsable del Herbario Amazonense de la UNAP certificó y entregó una constancia de identificación correspondiente.

a.4) Secado y micropulverizado: Después de haber limpiado bien los órganos de las especies vegetales, se secaron en un ambiente a 40 °C. Después del secado, se molieron hasta quedar micropulverizado, la misma que se depositó en frasco ámbar.

## **B) Obtención de extractos**

b.1) Extracto alcohólico: se pesaron 10 g del micropulverizado, se agregaron 0,1 L de alcohol etílico de 96°; la misma que se sometió a maceración por un tiempo promedio de 07 días. Después, la solución obtenida se filtró y concentró en rota vapor a 40 °C y a 40 rpm, esta solución se llevó a la estufa a 40 °C hasta sequedad completa y luego refrigerado (51).

b.2) Extracto hidro alcohólico: se pesaron 10 g del micropulverizado, se agregaron 70mL de etanol 96° más 30 mL de agua destila (7:3). Después, se maceró por un tiempo promedio de 07 días. Después, la solución obtenida se filtró y concentró en rota vapor a 40 °C y a 40 rpm, esta solución se llevó a la estufa a 40 °C hasta sequedad completa y luego refrigerado (51).

## **C) Toxicidad aguda en nauplios de *A. franciscana***

### **c.1) Experimentación**

Huevos de *A. franciscana*, eclosionados a nauplios.

Se hizo una solución Instant Ocean al 3 %, se disolvió 30 g de sal Instant Ocean (IO) en 1 L de agua destilada. Esta solución sirvió como medio de cultivo para los camarones experimentales. Se extrajeron 30 mL de la solución preparada, al que se añadieron 0,1 g de huevos de *A. franciscana* y se dejaron 15 minutos. Con posterioridad, agregamos 370 mL

de IO para hidratación a 25 °C durante 60 minutos. Luego, se colocaron en el vaso de precipitado un pelele de acuario (motor encargado de la aireación), se colocaron dos pequeñas lámparas de 20 W a una distancia no menor de 5 cm por cada lado del frasco para lograr iluminación homogénea, con posterior incubación a 25 °C por 2 días (52).

#### d.2) Condiciones ambientales para los huevos de experimentación

Serán monitoreados con la ayuda de un medidor de temperatura (entre 22 y 25 °C), siendo permanente la iluminación con las lámparas colocadas.

#### d.3) Tratamiento y evaluación de grupos experimentales

Se apagaron 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 (6 mL) para evaluación (estos fueron 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 contenían soluciones de 400 ppm de  $K_2Cr_2O_7$  (6 mL). Cada concentración se preparó por triplicado y se agregó a cada tubo. Se pipetearon 25 nauplios del vaso de precipitado que los contiene y se agregaron la misma cantidad a todos los tubos de ensayo para experimentación; luego se cubrió con papel aluminio y se colocaron lámparas de 20 W en ambos lados durante 24 horas (52).

#### d.4) Determinación cuantitativa de supervivencia de nauplios

Después de haber expuesto los nauplios al extracto a evaluar durante 24 horas, se contaron. 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 (52) (Anexo 2).

#### **3.4. Procesamiento y análisis de la información**

Se usó análisis Probit del software estadístico SPSS para establecer los resultados de la mortalidad de las larvas de salmuera según el logaritmo de la concentración, en intervalo de confianza del 95% (52-53). Cuando el 50% de nauplios murieron dentro de las 24 horas posteriores a la exposición al extracto probado, presentó toxicidad aguda.

#### **3.5. Aspectos éticos**

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

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

### Toxicidad aguda

**Tabla 1.** Tasa de mortalidad de los nauplios de *A. franciscana*

Especie vegetal	Tipo de extracto	[ ]	Nauplios de Artemia	
			Total	Muertos
<i>A. altilis</i> - hojas	Alcohólico	10 ppm	75	5
		100 ppm	75	8
		1000 ppm	75	8
		I.O. 3% (-)	75	0
		K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 400 ppm (+)	75	75
<i>A. altilis</i> - hojas	Hidroalcohólico	10 ppm	75	16
		100 ppm	75	12
		1000 ppm	75	12
		I.O. 3% (-)	75	0
		K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 400 ppm (+)	75	75
<i>A. altilis</i> - corteza	Alcohólico	10 ppm	75	18
		100 ppm	75	5
		1000 ppm	75	5
		I.O. 3% (-)	75	0
		K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 400 ppm (+)	75	75
<i>A. altilis</i> - corteza	Hidroalcohólico	10 ppm	75	19
		100 ppm	75	15
		1000 ppm	75	9
		I.O. 3% (-)	75	0
		K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> 400 ppm (+)	75	75

Como se observa en la Tabla 1, el extracto hidroalcohólico de *A. altilis* - corteza a 10 ppm muestra la mayor tasa de mortalidad de los nauplios.

**Tabla 2.** Cálculo del porcentaje de efecto, valor probit y CL<sub>50</sub>

Especie vegetal según tipo de extracto	[ ] ppm	Log [ ]	% efecto	Probit	CL <sub>50</sub>
<i>A. altilis</i> - hojas (alcohólico)	10	-2,00	19	4,12	> 1000 ppm
	100	-1,00	15	3,96	
	1000	0,00	15	3,96	
<i>A. altilis</i> - hojas (hidroalcohólico)	10	-2,00	16	4,01	
	100	-1,00	11	3,77	
	1000	0,00	11	3,77	
<i>A. altilis</i> - corteza (alcohólico)	10	-2,00	23	4,26	
	100	-1,00	12	3,82	
	1000	0,00	11	3,77	
<i>A. altilis</i> - corteza (hidroalcohólico)	10	-2,00	24	4,29	
	100	-1,00	20	4,16	
	1000	0,00	12	3,82	

Una CL<sub>50</sub> > 1000 ppm en la tabla 2, indica que no se encontró toxicidad aguda en ninguno de los extractos probados.

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

Tipo de extracto	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.
Alcohólico	0,929	6	0,576
Hidroalcohólico	0,869	6	0,222

La Tabla 3 demuestra que todos los grupos exhiben normalidad, luego de comparar los valores de sig=0,576 (57,60%) y sig= 0,222 (22,20%) son mayores que  $\alpha= 0,05$  (5%).

**Tabla 4.** ANOVA - % de mortalidad de nauplios

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,083	1	0,083	0,003	0,955
Dentro de grupos	246,167	10	24,617		
Total	246,250	11			

La tabla 4, muestra que sig.=0,955 siendo mayor al valor  $\alpha=0,05$ , el % de mortalidad de nauplios no presenta diferencia estadísticamente significativa.

## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Las especies de *Artocarpus* son ricas en compuestos fenólicos que incluyen flavonoides, estilbenoides y arilbenzofurones (23).

Las hojas de *A. altilis* (Parkinson) Fosberg, se han utilizado durante mucho tiempo de forma etnomedicinal para tratar la diabetes, la hipertensión y la cirrosis hepática. Los frutos se comen frescos y se cree que la pulpa de la fruta comestible actúa como un tónico para el hígado (23).

El bioensayo con nauplios de *Artemia* sp., un pequeño crustáceo, viene siendo utilizado en la evaluación de la toxicidad de diversas sustancias. La toxicidad para nauplios de *Artemia* sp. (Artemiidae) de extractos alcohólicos de 41 especies de la familia Euphorbiaceae fue evaluada por Meyer *et al.*, que recomienda su uso en la farmacognosia y en la química de productos naturales (54).

Como se observa en la tabla 1, el extracto hidroalcohólico de *A. altilis* – corteza a 10 ppm exhibe una mayor tasa de mortalidad de los nauplios frente al extracto alcohólico; y, una  $CL_{50} > 1000$  ppm en la tabla 2, indica que no se encontró toxicidad aguda para ninguno de los extractos probados. En este sentido, los hallazgos de la investigación son similares con el estudio realizado por **Magglin y col.** en el 2020 (16) donde evaluaron la toxicidad de las semillas y la pulpa del fruto de *A. odoratissimus* exponiendo larvas de *Daphnia magna*  $\leq 24$  horas de edad, encontrándose para el extracto etanólico de semillas un  $EC_{50}=3922,301$  ppm  $\pm 324,590$  en 24 horas y  $EC_{50}=2964,498$  ppm  $\pm 412,498$  en 48 horas de evaluación; para el extracto etanólico de pulpa del fruto fueron  $EC_{50}=12224,514$  ppm  $\pm 2186,899$  en 24 horas y  $EC_{50}=6165,235$  ppm  $\pm 1940,006$  en 48 horas; permitiendo concluir que los órganos evaluados de otra especie del género *Artocarpus* (*A. odoratissimus*) no es tóxico para las larvas de *D. magna*. Asimismo, se relaciona con el estudio del potencial de toxicidad aguda mediante la inhibición de la bioluminiscencia de *Vibrio harveyi* de los extractos acuosos de *A. altilis* y *A. camansi* realizado por **Vianney y col.** en 2020 (17) donde se obtuvo una  $EC_{50} > 2,4$  mg/mL (equivalente a 24000 ppm).



Además, es coincidente con la investigación realizada por **Moura y col.** en 2019 (18), donde el potencial toxicológico de las semillas de *A. heterophyllus* fue probada con el ensayo de letalidad, no presentando efectos tóxicos en camarones de salmuera. De manera similar, es coincidente con el estudio de **Barroso** en 1995 (21), donde se evaluó a toxicidad para nauplios de *Artemia* sp. y la digestibilidad *in vitro* de lectinas aisladas de semillas de *Canavalia ensiformis*, *C. brasiliensis*, *Cratylia floribunda*, *Dioclea guianensis*, *D. virgata* y *Artocarpus integrifolia*. Los resultados mostraron que las lectinas aisladas de *C. floribunda*, *D. guianensis* y *D. virgata* fueron las más tóxicas, con DL<sub>50</sub> de 400, 450 y 450 µg/mL respectivamente.

Sin embargo, es contraria a los resultados obtenidos en el estudio de **Hamsidar y col.** del 2019 (19) donde utilizaron n\_hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol en la preparación del extracto de corteza de *A. lanceifolius* Roxb, donde los valores de toxicidad (CL<sub>50</sub>) para el extracto de n-hexano, cloroformo y acetato de etilo fueron 1,0853 µg/mL; 0,1635 µg/mL; 0,3615 µg/mL respectivamente, permitiendo concluir que los extractos de corteza de *A. lanceifolius* Roxb mostraron una fuerte toxicidad caracterizada por un valor CL<sub>50</sub> muy pequeño.

## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcohólico de *A. altilis* – corteza a 10 ppm muestra la mayor tasa de mortalidad de los nauplios.
- El % de mortalidad de nauplios no presenta diferencia estadísticamente significativa, según la prueba ANOVA.
- Todos los extractos evaluados presentan una  $CL_{50} > 1000$  ppm, lo que indica que no presentan toxicidad aguda ninguno de ellos.

## CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- Dado los resultados, será crucial realizar estudios adicionales *in vitro* e *in vivo* para determinar la toxicidad potencial de la especie *A. atilis*.
- Los componentes químicos presentes en cada órgano de la especie estudiada, pueden ser relevantes para actividades de tipo antiulcerosa, antidiabética, alelopatía u otros, razón por la que se debe realizar otras pruebas farmacológicas.
- El área de investigación denominado “nanoecotoxicología” investiga los efectos de las nanopartículas en los organismos vivos y sus ecosistemas, por lo que recomendamos realizar pruebas con larvas de *A. franciscana* en este campo, por ser considerado como organismo modelo para estudiar la ecotoxicidad de algunas partículas.

## CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Lourenzani AEBS, Lourenzani WL, Batalha MO. Barreiras e oportunidades na comercialização de plantas medicinais provenientes da agricultura familiar. *Info Econôm.* 2004; 34(3):15-25.
2. Berg MEVD. Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático. 2ª ed. Belém, PA: Mus Para Emilio Goeldi. 1993.
3. Campos SC, Silva CG, Campana PRV, Almeida VL. Toxicidade de espécies vegetais. *Rev Bras PI Med.* 2016; 18(1):373-382.
4. Vasconcelos J, Vieira JGP, Vieira EPP. Plantas tóxicas: conhecer para prevenir. *Rev Cient UFPA.* 2009; 7(1):1-10.
5. Bataller R. (2004). *Toxicología clínica.* Valencia: Romeus; pág. 203, 210-212, 216.
6. Sheldon JW, Balick M, Laird S. "Medicinal Plants: Can Utilization and conservation coexist?" *Advances in Economic Botany.* 1997; 12:104.
7. Crane J, Balerdi C. (2015). *La Jaca (A. heterophyllus Lam.) En Florida.* Miami-Dade County.
8. Chanda I, Chanda S, Dutta S. Anti inflammatory Activity of a Protease Extracted from the fruit stem latex of the plant *Artocarpus heterophyllus* Lam. *Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics.* 2009;70-72.
9. Khan M, Omoloso A, Kihara M. Antibacterial activity of *Artocarpus*. *Fitoterapia.* 2003;501-505.
10. Jurado C. (1989). *Toxicología Veterinaria.* (2da edición). Editorial Salvat: Barcelona.
11. Nunes BS, Carvalho FD, Guilhermino LM, Stappen GV. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environmental Pollution.* 2006; 144:453-462.
12. Arencibia-Carballo G, Tizol-Correa RA, Rodríguez O. Toxicidad de nauplios de *Artemia franciscana* a dos piretroides de uso comercial. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras Enero-diciembre.* 2010; 27:41-47.
13. Fuentes MV, Rojas B, Rojas L, Bucarito J, Prin JL. Distribución, comportamiento y toxicidad de metales y azufre en el agua de poro de los sedimentos superficiales del Saco del Golfo de Cariaco, Estado Sucre, Venezuela. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 2011; 27:5-17.

14. Delbare D, Lavens P, Sorgeloos P. Clownfish as a reference model for nutritional experiments and determination of egg/larval quality. In: Larvi'95- Fish and Shellfish larviculture symposium. P Laven, E. jaspers and I. Roelants. 1995; 22-25.
15. Borowitz JL, McLaughlin JL. Evidence for calcium channels in brine shrimp: Diltiazem protects shrimp against cadmium. In: Bull. Environ. Contam. Toxicol. Prudue Univ., Sch Phar. And Pharm. Sci., USA. 1999; 48:435-440.
16. Magglin C, Fikriah I, Kosala K, Kuncoro H. Acute Toxicity Assay from Seeds and Flesh of Tarap Fruit (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) Ethanolic Extract against *Daphnia magna* Larvae. J. Trop. Pharm. Chem. 2020; 5(2):95-98.
17. Vianney YM, Dwi Putra SE, Marianti Purwanto MG. Antioxidant and toxicity activity of aqueous extracts from various parts of breadfruit and breadnut. International Journal of Fruit Science. 2020; 20(53):1639-1651.
18. Moura Burci L, Bezerra da Silva C, Nolasco Rondon J, Mota da Silva L, de Andrade SF, Gomes Miguel O, Gaspari Dias JF, Dallarmi Miguel M. Acute and subacute (28 days) toxicity, hemolytic and cytotoxic effect of *Artocarpus heterophyllus* seed extracts. Toxicology Reports. 2019; 6:1304-1308.
19. Hamsidar H, Nunuk H, Yana MS, Firdaus. Determination of secondary metabolites, toxicity and antioxidant activities of bark extracts of *Artocarpus lanceifolius* ROXB. Hamsidar H *et al.* Int. Res. J. Pharm. 2019;10(2):1-4.
20. Prakash O, Kumar R, Chandra D, Kumar A, Kumar P. Effect of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jackfruit) on Indomethacin-Induced ulcer model in albino rats. Der Pharmacia Lettre. 2015; 7(1):81-85.
21. Barroso Rios FJ. Digestibilidade *in vitro* e toxicidade de lectinas vegetais para náuplios de *Artemia* sp. [Pós-Graduação em Bioquímica]. Brasil: Universidade Federal do Ceará (1995). Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/47539>
22. Mahbubur Rahman AHM, Anamika K. A Taxonomic and Ethno-Medicinal Study of Species from Moraceae (Mulberry) Family in Bangladesh Flora. Research in plant Sciences. 2013; 1(3):53-57.
23. Jagtap UB, Bapat VA. *Artocarpus*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology. 2010; 129(2):142-166.

24. *Artocarpus altilis*. Disponible en: <https://tropicos.org/name/21300472>
25. *Artocarpus altilis*. Edured. Disponible en: [https://www.ecured.cu/Artocarpus\\_altilis](https://www.ecured.cu/Artocarpus_altilis)
26. *Artocarpus altilis*. Disponible en: <https://www.guiadearbolesyarbustos.com/2021/10/arbol-del-pan.html>
27. Fitrya, Muharni, Fatma Sri W, Annisa A. Cytotoxicity and anti-inflammatory activity of ethanol extract of *Artocarpus altilis* (Parkinson ex F.A.Zorn) Fosberg leaf in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. *Journal of pharmacy & pharmacognosy Research*. 2023; 11(3):512-522.
28. Lytle JS, Lytle TF. Use of plants for toxicity assessment of estuarine ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2001; 20(1):68-83.
29. Fletcher J. 1991. Keynote speech: A brief overview of plant toxicity testing. In Gorsuch JW, Lower WR, Wang W, Lewis MA, eds, *Plants for Toxicity Assessment*. 1991; 2:5-11.
30. Walsh GE. Principles of toxicity testing with marine unicellular algae. *Environ Toxicol Chem*. 1988; 7:979–987.
31. Fletcher RL. Marine macroalgae as bioassay test organisms. In Abel PD, Axiak V, eds, *Ecotoxicology and the Marine Environment*. Ellis Horwood, Chichester, West Sussex. 1991; 111–131.
32. Thursby GB, Anderson BS, Walsh GE, Steele RL. 1993. A review of the current status of marine algal toxicity testing in the United States. In Landis WG, Hughes JS, Lewis MA, eds, *Environmental Toxicology and Risk Assessment*. STP 1179. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, pp 362– 377.
33. Informe de la OMS sobre Medicina Tradicional (2019). Informe mundial de la OMS sobre medicina tradicional y complementaria. Luxemburgo: Organización Mundial de la Salud.
34. Ko, RJ. Una perspectiva estadounidense sobre las reacciones adversas de los medicamentos tradicionales chinos. *JCMA*. 2004;67(3):109-116.
35. Obakiro SB, Bunalema L, Gakunga-Nd J, Nyatia E, Waako JP. Potencial Ulcerogénico del Extracto de Hoja de *Eucalyptus Globulus* L. en Ratas Wistar Albinas. *J. Pharmacol. Toxicol*. 2017;13(1):45–51.
36. Anywar G, Kakudidi E, Byamukama R, Mukonzo J, Schubert A, Oryem-Origa H. Una revisión de la toxicidad y la fitoquímica de las especies de plantas

- medicinales utilizadas por los herbolarios en el tratamiento de personas que viven con el VIH/SIDA en Uganda. *Frente. Farmacol.* 2021; 12:1-10.
37. Selamoglu M. Importancia de la Logística de la Cadena de Frío en el Proceso de Comercialización de Productos Acuáticos: Un Estudio de Actualización. *J. Surv. Pez. ciencia.* 2021; 8(1):25–29.
  38. Arome D, Chinedu E, “La importancia de las pruebas de toxicidad”. *Journal of Pharmaceutical and BioScience.* 2014; 4:146-148.
  39. Van Steertegem M, Persoone G. Cyst-based toxicity tests: V. development and critical evaluation of standardized toxicity tests with the brine shrimp (*Anostraca*, *Crustacea*). In: Soares AMVM, Calow P (Eds.). *Progress in Standardization of Aquatic Toxicity Tests.* NewYork: Lewis Publishers. 1993:81–97.
  40. United states environmental protection agency (US EPA). Proceedings of seminar on methodology or monitoring the marine environment. USE PA EPA600/4-74-004. 1983.
  41. Gajardo GM, Beardmore JA. The brine shrimp *Artemia*: adapted to critical life conditions. *Front. Physiol.* 2012; 3:1-8.
  42. Persoone G, Sorgeloos P. General aspects of the ecology and biogeography of *Artemia*. In: Persoone G, Sorgeloos P, Roels PO, Jaspers E (Eds.). *The Brine Shrimps Artemia, 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture.* Belgium: Universa Press. 1980:3–24.
  43. Triantaphyllidis GV, Abatzopoulos TJ, Sorgeloos P. Review of the biogeography of the genus *Artemia* (*Crustacea*, *Anostraca*). *J. Biogeogr.* 1998; 25:213-226.
  44. Zubairi SI, Othman ZS, Sarmidi MR, Aziz RA. Environmental friendly bio-pesticide Rotenone extracted from *Derris* sp.: A review on the extraction method, toxicity and field effectiveness. *Jurnal. Teknologi.* 2016; 78(8): 47-69.
  45. Marigómez I, Soto M, Orbea A, Cancio I, Cajaraville MP. Biomonitoring of environmental pollution along the Basque coast, using molecular, cellular and tissue-level biomarkers: an integrative approach. In: Borja A, Collins M (Eds.). *Oceanography and Marine Environment of the Basque Country.* Amsterdam: Elsevier, p. 335–364. 2004.

46. Libralato G, Prato E, Migliore L, Cicero AM, Manfra L. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp. *Ecological indicators*. 2016; 69:35-49.
47. Pane L, Agrone C, Giacco E, Somà A, Mariottini GL. Utilization of marine crustaceans as study models: a new approach in marine ecotoxicology for European (REACH) regulation 91. Chapter 5, p. 91–107. In: Begum Ghousia (Ed.). *Ecotoxicology*. InTech, Rijeka, Croatia, p. 146. 2012.
48. Ronco Alicia, Díaz Baez Maria Consuelo, Pica Granados Yolanda. Capítulo 1. Conceptos generales. Disponible en: [https://www.entrerios.gov.ar/ambiente/userfiles/files/archivos/Libro%20Aguas\(1\).pdf](https://www.entrerios.gov.ar/ambiente/userfiles/files/archivos/Libro%20Aguas(1).pdf)
49. De Jong WH, Carraway JW, Geertsma RE. *In vivo* and *in vitro* testing for the biological safety evaluation of biomaterials and medical devices. 2012; 120-158.
50. 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.
51. Gonzáles 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/angelaandreaconzalezvilla.2004.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Fecha de acceso: 10 diciembre 2021).
52. 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.
53. 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](http://www.puc-rio.br/pibic/relatorio_resumo2007/resumos/QUI/ana_claudia_andriolli_daniell_e_da_s_santos_silvio_cesar_godinho_teixeira.pdf)



54. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnan JE, Jacobsen LB, Nichols DE, MchAughlin J. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medical Plant Research*. 1982; 45:31-34.

## 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 026-2023 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 **EMILY JAZMIN VALERA PEREIRA** 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 CORTEZA DE *Artocarpus altilis* 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	MORACEAE	<i>Artocarpus altilis</i>	(Parkinson) Fosberg

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 Acóstupa  
Coordinador Herbarium Amazonense  
CIRNA - UNAP



## Anexo 2. Instrumento de recolección de datos

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

**REGISTRO DE DATOS Y RESULTADOS**

FECHA:

H. INICIO:

H. TERMINO:

**CANTIDAD DE LARVAS INYECTADAS**

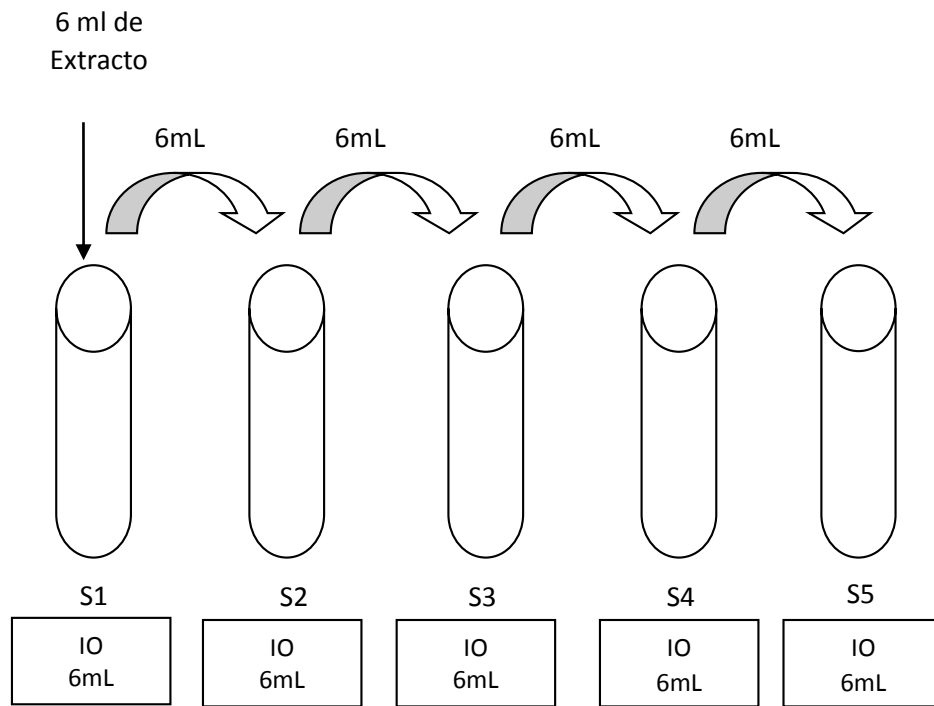
Muestra	Extracto de:						Control (-)		Control (+)	
[c]	S1		S2		S3		S4		S5	
repeticiones	10 ppm		100 ppm		1000 ppm		Sol. IO 3%		400 ppm K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	
1° réplica	A1		A2		A3		A4		A5	
2° réplica	B1		B2		B3		B4		B5	
3° réplica	C1		C2		C3		C4		C5	

**CONTEO DE LARVAS VIVAS Y MUERTAS DE *Artemia franciscana* EN LAS DISOLUCIONES**

FECHA:

Muestra	[c] ug/ml	Repeticiones	LARVAS 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 <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	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*

