



UNAP



**FACULTAD DE ENFERMERÍA
MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**TOXICIDAD AGUDA *in vitro* FRENTE A NAUPLIOS DE *Artemia franciscana*
Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *in vitro* DE TRES
ESPECIES VEGETALES AMAZÓNICAS SOBRE
ERITROCITOS PLASMÁTICOS**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRA EN SALUD
PÚBLICA**

**PRESENTADA POR: DORIS LORENA LOPEZ ALAMA
EVA MARIA RIOS MACEDO**

ASESOR: Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, MTRO.

IQUITOS, PERÚ

2024



UNAP



**FACULTAD DE ENFERMERÍA
MAESTRÍA EN SALUD PÚBLICA**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**TOXICIDAD AGUDA *in vitro* FRENTE A NAUPLIOS DE *Artemia franciscana*
Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *in vitro* DE TRES
ESPECIES VEGETALES AMAZÓNICAS SOBRE
ERITROCITOS PLASMÁTICOS**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRA EN SALUD
PÚBLICA**

**PRESENTADA POR: DORIS LORENA LOPEZ ALAMA
EVA MARIA RIOS MACEDO**

ASESOR: Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, MTRO.

IQUITOS, PERÚ

2024



UNAP

Escuela de Postgrado
"Oficina de Asuntos
Académicos"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
N°162-2024-OAA-EPG-UNAP

En Iquitos en la Escuela de Postgrado (EPG) de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP) a los veinticinco días del mes de octubre de 2024 a las 04:00 p.m., se dió inicio a la sustentación del trabajo de investigación denominada: "TOXICIDAD AGUDA *in vitro* FRENTE A NAUPLIOS DE *Artemia franciscana* Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *in vitro* DE TRES ESPECIES VEGETALES AMAZÓNICAS SOBRE ERITROCITOS PLASMÁTICOS", aprobado con Resolución Directoral N°1736-2024-EPG-UNAP, presentado por las egresadas EVA MARÍA RÍOS MACEDO y DORIS LORENA LÓPEZ ALAMA, para optar el Grado Académico de Maestra en Salud Pública, que otorga la UNAP de acuerdo a la Ley Universitaria 30220 y el Estatuto de la UNAP.

El jurado calificador designado mediante Resolución Directoral N°1613-2023-EPG-UNAP, esta conformado por los profesionales siguientes:

Q.F. Carlos Enrique Calloapaza Valladares, Dr. (Presidente)
Ing. Reyna Gladys Cárdenas Vda. De Reátegui, Dra. (Miembro)
Q.F. Rosa Del Carmen Miluska Vargas Rodríguez, Dra. (Miembro)

Después de haber escuchado la sustentación y luego de formuladas las preguntas, éstas fueron respondidas: de manera satisfactoria

Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y a las sustentantes abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al resultado siguiente:

La sustentación pública y del trabajo de investigación ha sido: aprobada con calificación Muy Buena.

A continuación, el Presidente del Jurado da por concluida la sustentación, siendo las 17:30hs del veinticinco de octubre de 2024; con lo cual, se le declara a las sustentantes aptas, para recibir Grado Académico de Maestra en Salud Pública.

Q.F. Carlos Enrique Calloapaza Valladares, Dr.
Presidente

Ing. Reyna Gladys Cárdenas Vda. De Reátegui, Dra.
Miembro

Q.F. Rosa Del Carmen Miluska Vargas Rodríguez, Dra.
Miembro

Q.F. Mario Javier de la Cruz Flores, Mtro.
Asesor

Somos la Universidad licenciada más importante de la Amazonía del Perú, rumbo a la acreditación

Calle Los Rosales cuadra 5 s/n, San Juan Bautista, Maynas, Perú
Celular: 953 664 439 - 956 875 744
Correo electrónico: postgrado@unapiquitos.edu.pe www.unapiquitos.edu.pe



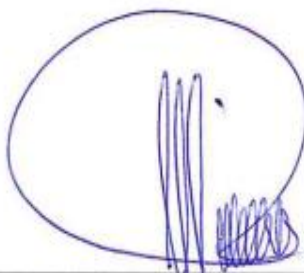
TRABAJA DE INVESTIGACIÓN APROBADO EN SUSTENTACIÓN PÚBLICA EL 25 DE OCTUBRE DEL 2024 EN LA ESCUELA DE POSTGRADO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, EN LA CIUDAD DE IQUITOS - PERÚ.




Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLAOPAZA VALLADRES, DR.
PRESIDENTE



Q.F. ROSA DEL CARMEN MILUSKA VARGAS RODRÍGUEZ. DRA.
MIEMBRO



ING. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, DRA.
MIEMBRO



Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, MTR.
ASESOR

NOMBRE DEL TRABAJO

AUTOR

EPG_MAESTRÍA_TRAB DE INV_LOPEZ A
LAMA_RIOS MACEDO.pdf

LOPEZ ALAMA / RIOS MACEDO

RECuento DE PALABRAS

RECuento DE CARACTERES

7162 Words

37998 Characters

RECuento DE PÁGINAS

TAMAÑO DEL ARCHIVO

37 Pages

523.8KB

FECHA DE ENTREGA

FECHA DEL INFORME

Aug 17, 2023 3:11 PM GMT-5

Aug 17, 2023 3:12 PM GMT-5

● **6% de similitud general**

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

- 5% Base de datos de Internet
- 0% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de Crossref
- Base de datos de contenido publicado de Crossr
- 2% Base de datos de trabajos entregados

● **Excluir del Reporte de Similitud**

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

Dios, nuestro creador que me dio la vida y propicio los medios para ayudarme a conseguir mis sueños, a la familia de dónde vengo y la familia que formé, por su apoyo incondicional en todo momento.

Doris Lorena

A mis padres William y Elizabeth, mi hijo amado Valentino, así mismo a mis hermanos que son mi gran motivación que me impulsan cada día a superarme y a Dios que guía mis pasos.

Eva María

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a Dios por la vida, la salud y ser la luz en nuestro camino.

A la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, por darnos la oportunidad de aprender y seguir creciendo profesionalmente.

A todas las personas que nos han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

Al **Q.F. Mario Javier de la Cruz Flores, Mtro.**, por su tiempo, paciencia, dedicación y la asesoría brindada para el desarrollo de este trabajo de investigación, dándole el respectivo aporte científico.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | Páginas |
|---|----------------|
| Carátula | i |
| Contracarátula | ii |
| Acta de sustentación | iii |
| Jurado | iv |
| Resultado del informe de similitud | v |
| Dedicatoria | vi |
| Agradecimiento | vii |
| Índice de contenido | viii |
| Índice de tablas | ix |
| Índice de figuras | x |
| Resumen | xi |
| Abstract | xii |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO | 3 |
| 1.1. Antecedentes | 3 |
| 1.2. Bases teóricas | 6 |
| 1.3. Definición de términos básicos | 18 |
| CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS | 20 |
| 2.1. Variables y su operacionalización | 20 |
| 2.2. Formulación de hipótesis | 21 |
| CAPÍTULO III: METODOLOGÍA | 22 |
| 3.1. Tipo y Diseño de la investigación | 22 |
| 3.2. Población y muestra | 22 |
| 3.3. Técnicas e instrumentos | 23 |
| 3.4. Procedimientos de recolección de datos | 23 |
| 3.5. Técnicas de procesamientos y análisis de los datos | 26 |
| 3.6. Aspectos éticos | 26 |
| CAPÍTULO IV: RESULTADOS | 27 |
| CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS | 32 |
| CAPÍTULO VI: PROPUESTA | 34 |
| CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES | 35 |
| CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES | 36 |
| CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 37 |
| ANEXOS: | |
| 1. Matriz de consistencia. | |
| 2. Variables y definiciones operacionales | |
| 3. Constancias de las especies vegetales | |
| 4. Instrumento de recolección de datos | |
| 5. Formato de consentimiento informado | |
| 6. Estadística inferencial | |

ÍNDICE DE TABLAS

| | | Páginas |
|------------|--|---------|
| Tabla N° 1 | Mortalidad de nauplios de <i>A. franciscana</i> | 27 |
| Tabla N° 2 | Porcentaje de efecto y CL_{50} | 28 |
| Tabla N° 3 | Actividad antiinflamatoria sobre eritrocitos plasmáticos | 29 |
| Tabla N° 4 | Prueba de normalidad - % de mortalidad de nauplios | 67 |
| Tabla N° 5 | ANOVA - % de mortalidad de nauplios | 67 |
| Tabla N° 6 | Prueba de normalidad - % de inhibición | 68 |
| Tabla N° 7 | ANOVA - % de inhibición | 68 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Páginas |
|---|----------------|
| Figura N°1 <i>Cecropia obtusifolia</i> | 10 |
| Figura N° 2 Hoja seca de <i>C. strigosa</i> Trécul | 11 |
| Figura N° 3 <i>Cecropia peltata</i> L. | 11 |
| Figura N° 4 <i>Piper aduncum</i> L. | 13 |
| Figura N° 5 Embrión en estadio “paraguas” (izquierda) e estadio I nauplius (derecha). (1) ojo de nauplio; (2) antenula; (3) antena; (4) mandíbula | 17 |
| Figura N° 6 Porcentajes de inhibición del extracto de <i>C. strigosa</i> Trécul, según concentraciones evaluadas | 30 |
| Figura N° 7 Porcentajes de inhibición del extracto de <i>P. aduncum</i> L., según concentraciones evaluadas | 30 |
| Figura N° 8 Porcentajes de inhibición del extracto de <i>M. alliacea</i> Lam, según concentraciones evaluadas | 31 |

RESUMEN

En la vida cotidiana, resulta de especial interés estudiar especies vegetales con propiedades etnomedicinales, permitiendo garantizar su inocuidad y seguridad en el uso de los diferentes órganos (hojas, corteza, entre otros). El estudio permitió evaluar toxicidad aguda *in vitro* frente a nauplios de *Artemia franciscana* y actividad antiinflamatoria *in vitro* de corteza de *Cecropia strigosa* Trécul (cetico), hojas de *Piper aduncum* L. (matico) y *Mansoa alliacea* Lam (ajos sacha) sobre eritrocitos plasmáticos. Muestras seleccionadas y recolectadas por conveniencia, procesadas y ensayadas a concentraciones de 10, 100, 1000 y 1500 ppm. Según los resultados de toxicidad aguda, la mayor cantidad de nauplios muertos se encuentra en el extracto hidroalcohólico de *M. alliacea* Lam - hojas a 10 ppm, según la Tabla 1; de acuerdo con la tabla 2, todos los extractos evaluados tienen una $CL_{50} > 1500$ ppm. La tabla 5, *C. strigosa* Trécul - corteza obtuvo el mayor % de inhibición entre las demás especies vegetales. Además, cada uno de ellos exhibe un $IC_{50} > 1500$ ppm. Estos hallazgos permiten concluir que ninguno de los extractos probados exhibió toxicidad aguda y actividad antiinflamatoria en las concentraciones evaluadas.

Palabras clave: Pruebas de Toxicidad aguda, antiinflamatorios, especies vegetales.

ABSTRACT

In daily life, it is of special interest to study plant species with ethnomedicinal properties, allowing to guarantee their safety and security in the use of different organs (leaves, bark, among others). The study allowed the evaluation of acute *in vitro* toxicity against *Artemia franciscana* nauplii and *in vitro* anti-inflammatory activity of *Cecropia strigosa* Trécul (cetico) bark, *Piper aduncum* L. (matico) and *Mansoa alliacea* Lam (ajos sacha) leaves on plasma erythrocytes. Samples selected and collected for convenience, processed and tested at concentrations of 10, 100, 1000 and 1500 ppm. According to the acute toxicity results, the highest amount of dead nauplii is found in the hydroalcoholic extract of *M. alliacea* Lam - leaves at 10 ppm, according to Table 1; according to table 2, all the extracts evaluated have a $CL_{50} > 1500$ ppm. Table 5, *C. strigosa* Trécul - bark obtained the highest % inhibition among the other plant species. Furthermore, each of them exhibits an $IC_{50} > 1500$ ppm. These findings allow us to conclude that none of the extracts tested exhibited acute toxicity and anti-inflammatory activity at the concentrations evaluated.

Keywords: Acute toxicity tests, anti-inflammatories, plant species.

INTRODUCCIÓN

La emergencia de la enfermedad por coronavirus (COVID-19), es en la actualidad un importante problema de salud mundial. El abordaje terapéutico adecuado para los pacientes afectados depende de la identificación precisa de las comorbilidades vinculadas a la presentación clínica grave de COVID-19. A pesar de los numerosos tratamientos farmacológicos y no farmacológicos para el COVID-19, no todas las personas llegan a cumplir con el tratamiento asignado; esto debido a diferentes factores de costo, accesibilidad y tiempo prolongado del mismo, motivo por el que se hace necesario la búsqueda de alternativas naturales y seguros ⁽¹⁾.

Las alternativas naturales, es decir, diferentes plantas son utilizadas para el tratamiento sintomático del COVID-19; esto debido a que poseen una fuente importante de principios activos de uso medicinal ⁽²⁾ gracias a sus constituyentes químicos conocido como metabolitos secundarios ⁽³⁾.

Los metabolitos secundarios: polifenoles, alcaloides o saponinas, pueden influir en la toxicidad de un extracto. Es por esa razón, que para que una planta sea utilizada como medicamento, se debe determinar si tiene un efecto tóxico en un organismo ⁽⁴⁾. Un tipo particular de prueba se denomina bioensayo, que hace uso de seres vivos para determinar la presencia y las consecuencias de una o más sustancias tóxicas; y, uno de los más utilizados es el de *Artemia* ⁽⁵⁾, siendo los nauplios de *A. franciscana* ideales para poder determinar la concentración letal media o CL₅₀ de un extracto ⁽⁶⁾.

El ensayo de letalidad de *Artemia*, fue sugerido por Michael y *et al.* ⁽⁷⁾ con el propósito de evaluar toxicidad a partir de la concentración letal media (CL₅₀) ⁽⁸⁾. Se utiliza para determinar la toxicidad de extractos de plantas, identificar toxinas fúngicas o pronosticar citotoxicidad ⁽⁹⁻¹²⁾. El método de evaluación de citotoxicidad con *Artemia* es de utilidad en el pronóstico de toxicidad aguda en extractos de plantas ⁽¹³⁾ o nanopartículas en biomedicina.

Bajo condiciones experimentales específicas y controladas, los bioensayos son herramientas de diagnóstico útiles en la evaluación del impacto

de los agentes físicos y químicos en los organismos de prueba. Para ello, los parámetros de mortalidad, biomasa, tasa de crecimiento, reproducción, cambios de comportamiento, estimulación o inhibición de sistemas metabólicos o enzimáticos y nutrición, pueden ser considerados al momento de evaluar la actividad biológica ⁽⁶⁾.

Asimismo, conocer la actividad antiinflamatoria que poseen los extractos naturales, genera un interés científico en el campo de la farmacología. Esto se debe a que algunos compuestos presentes en extractos, pueden prevenir la progresión de enfermedades provocadas por procesos inflamatorios ⁽¹⁴⁾, siendo el resultado, en que más personas recurren a estos preparados para controlar su enfermedad ⁽¹⁵⁾.

En la región Loreto, *Cecropia strigosa* Trécul (cetico), *Piper aduncum* L. (matico) y *Mansoa alliacea* Lam (ajos sacha), son usadas de manera empírica en la medicina tradicional para “tratamiento preventivo, paliativo o de soporte para la COVID-19, diabetes, tuberculosis, entre otras más”. Se les atribuye “supuestos efectos benéficos” y las mismas podrían ser identificadas como responsables de diversos efectos con acción terapéutica antiviral, antipirética, antioxidante y antiinflamatoria; que podrían ayudar en el tratamiento de la enfermedad, motivo por el cual es necesario validarlo de forma científica.

En relación de los factores antes mencionados, se buscó evaluar toxicidad aguda *in vitro* frente a nauplios de *Artemia franciscana* y actividad antiinflamatoria *in vitro* de corteza de *Cecropia strigosa* Trécul (cetico), hojas de *Piper aduncum* L. (matico) y *Mansoa alliacea* Lam (ajos sacha) sobre eritrocitos plasmáticos.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

Investigaciones previas de las especies en estudio

En 2023, se investigó la actividad antiinflamatoria, antioxidante y propiedades antiulcerogénicas del extracto de hoja de *Cecropia pachystachya* (CP) en úlceras gástricas inducidas por naproxeno (NPX), a partir del ensayo MTT en células epiteliales intestinales (IEC-6). Se indujo úlcera gástrica en ratones tratados con carboximetilcelulosa al 0,5 % (CMC) o CP (3, 10 y 30 mg/kg reconstituidos en CMC al 0,5 %) por 30 min, con posterior administración de NPX (300 mg/kg). El extracto de CP no afectó la viabilidad de IEC; las lesiones gástricas fueron disminuidas ($p < 0,05$) por el extracto de CP (1, 3 y 10 mg/kg). En conclusión, CP presenta actividad antiinflamatoria y antioxidante contra las úlceras gástricas inducidas por NPX ⁽¹⁶⁾.

En 2022, se revisaron literatura disponible sobre los fitoconstituyentes presentes en plantas de la familia Urticaceae, a partir de valiosos usos medicinales. Los resultados incluyen triterpenos, esteroides, flavonoides, lignanos, sesquiterpenos, alcaloides, compuestos fenólicos simples y compuestos diversos responsables de sus actividades biológicas, como citotóxicas, antimicrobianas (antibacterianas, antifúngicas y antivirales), antiinflamatorias, antidiabéticas y antiprostáticas benignas. hiperplasia, hepatoprotector, antioxidante y cicatrizante de heridas. En conclusión, el género *Urtica* es el más investigado (fitoquímica y biológicamente) de todos los géneros de la familia "Urticaceae" ⁽¹⁷⁾.

Evaluación de toxicidad y actividad antiinflamatoria

A nivel internacional

En 2022, se evaluó el potencial toxicológico *in vitro* del extracto crudo de *Piper aduncum* a 100, 50, 10 y 1 µg/mL, utilizando nauplios de *A. salina*. Los resultados a 10 µg/mL mostraron una letalidad del 56,6% de los nauplios; la fragilidad osmótica de los eritrocitos humanos probó la interacción del extracto crudo de *P. aduncum* con la membrana de los

eritrocitos humanos, midiendo la hemoglobina libre a concentraciones crecientes de NaCl de 0,12% a 0,9%. El análisis llegó a la conclusión de que las concentraciones de extracto crudo de *P. aduncum* no tienen un efecto tóxico sobre la membrana celular, pero sí demostraron un potencial tóxico en el desarrollo celular ⁽¹⁸⁾.

En 2022, se investigó la toxicidad *in vitro* e *in vivo*, la actividad antiinflamatoria y analgésica de una fracción de *Mansoa hirsuta* (MHF). La viabilidad celular *in vitro* se evaluó en células 3T3. *In vivo*, la prueba de toxicidad aguda fue a dosis única de MHF, para toxicidad subcrónica se administraron 03 dosis por 30 días. Se usaron modelos de bolsa de aire inducida por carragenina y edema plantar inducido por zimosa para evaluar la actividad antiinflamatoria. La MHF no causó la muerte ni causó efectos tóxicos en el ensayo de toxicidad aguda; MHF redujo significativamente la migración de leucocitos, edema, producción de MPO y la pérdida de proteínas. En conclusión, MHF tiene potencial antiinflamatorio y analgésico sin causar efectos tóxicos agudos o subcrónicos ⁽¹⁹⁾.

En 2021, se estudiaron los componentes fitoquímicos, potencial antioxidante y acción antiinflamatoria *in vitro* e *in vivo* del extracto acuoso de corteza de *Cecropia hololeuca* (AECh). Se realizaron ensayos *in vitro* en macrófagos murinos J774A.1 para analizar viabilidad celular, producción de NO, TNF- α e IL-1 β y el potencial antiinflamatorio *in vivo* en edema plantar por carragenina en ratones. El resultado mostró disminución en la producción de NO, TNF- α e IL-1 β , sin alterar la viabilidad celular y reducción del grosor de la pata en la 2^a a 4^a hora. El extracto presentó 72% de captación de radicales libres y 0,60% de contenido de flavonoides. En conclusión, el extracto de corteza de *C. hololeuca* mostró una importante actividad antioxidante y antiinflamatoria ⁽²⁰⁾.

En 2020, se estudió toxicidad aguda y subaguda del extracto acuoso crudo de hojas de *Cecropia pachystachya* (CAE-Cp) en modelo *in vivo*, citotoxicidad *in vitro* en ensayo de sulforhodamina B (SRB), genotoxicidad

por el ensayo cometa en células V79 y actividad antioxidante (AA) por DPPH. Se determinó flavonoides (6,52 mg/g EQ), AA ($CE_{50}=62,15$ $\mu\text{g/mL}$). Las evaluaciones mostraron efectos genotóxicos a dosis de 0,31 a 2,5 mg/mL y citotoxicidad en células HT-29 ($IC_{50}=4,43$ $\mu\text{g/mL}$). A los 14 días, los niveles de hemoglobina en ratas Wistar que recibieron una dosis única de CAE-Cp (2000 mg/kg) disminuyeron. A los 28 días, no se observaron signos de toxicidad en los animales. En conclusión, para establecer el uso seguro de CAE-Cp se requiere mayor estudio ⁽²¹⁾.

En 2018, se determinó efectos toxicológicos de los constituyentes químicos de Piper frente a la carga ambiental *Aedes aegypti* y su impacto en la evaluación de toxicidad no diana frente a insectos acuáticos biomonitorizados. El aceite crudo volátil de hojas de gaitero (Pb-CVO) fue probado a 0,25; 0,5; 1,0 y 1,5 mg/L frente *A. aegypti*. Los efectos larvicidas exhibieron mortalidad, siendo mayor con 1,5 mg Pb-CVO/10 g de hojas, con una $CL_{50}=0,63$ mg Pb-CVO/L. Se observaron efectos no tóxicos contra insectos acuáticos beneficiosos, como *Anisops bouvieri* y *Toxorhynchites splendens* a las concentraciones más altas expuestos en 3 H. En conclusión, el Pb-CVO puede contener constituyentes efectivos para desarrollar nuevos agentes de control de vectores contra *A. aegypti* ⁽²²⁾.

A nivel nacional

En 2019, se estudió la toxicidad de un extracto acuoso a base de hojas de *Piper aduncum* L. sobre *Artemia salina*, mediante el método de Miller y Tainter, a concentraciones de 5000; 1250; 312,5; 78,1; 19,5; 4,88 $\mu\text{g/mL}$ durante 24 horas; obteniéndose como resultado una CL_{50} de 2751,11 $\mu\text{g/mL}$. Se concluyó que el extracto acuoso evaluado fue relativamente inocuo o no tóxico ⁽²³⁾.

A nivel regional

De la revisión efectuada, no se evidenció estudios de toxicidad aguda y actividad antiinflamatoria de las especies estudiadas.

1.2 Bases teóricas

1.2.1 Plantas medicinales

Son la forma de medicina más antigua y se han utilizado en la medicina tradicional en muchos países del mundo durante miles de años. El conocimiento empírico sobre sus efectos beneficiosos se ha transmitido dentro de las comunidades humanas durante siglos (24). Los productos naturales desempeñan un papel importante como fuente de compuestos farmacológicos y, actualmente, en la farmacoterapia moderna se utilizan varios fármacos modernos derivados de la medicina herbaria tradicional (25).

Sin embargo, las plantas medicinales todavía tienen un futuro esperanzador, ya que la composición fitoquímica y los posibles beneficios para la salud de muchas especies aún no se han estudiado o aún deben investigarse más profundamente (26).

1.2.2 Toxicidad aguda

Las pruebas de toxicidad aguda son un modelo frecuentemente subestimado. Proporcionan una estimación del margen terapéutico y la seguridad absoluta de un fármaco o sustancia química. Las pruebas de toxicidad aguda tienen el inconveniente de que a menudo no se lleva a cabo un examen detallado, por ejemplo, histopatología, patología clínica y cinética (27).

Las vías de exposición en las pruebas de toxicidad aguda son generalmente similares a la exposición esperada en el hombre, por ejemplo, oral y parenteral, intravenosa o intraperitoneal (27).

1.2.3 Actividad antiinflamatoria

Las plantas medicinales son la principal fuente de medicamentos. En los países desarrollados y en desarrollo, son los medicamentos aceptados por separado y/o junto con las drogas sintéticas debido a su asequibilidad, accesibilidad y aceptabilidad cultural (28) para el tratamiento de dolencias como las enfermedades inflamatorias (29).

Los extractos de plantas medicinales se recomiendan ampliamente como estrategias terapéuticas alternativas para el tratamiento de agentes inflamatorios ⁽³⁰⁾. Los metabolitos secundarios aislados de varias partes de plantas medicinales tratan un amplio espectro de enfermedades inflamatorias ⁽³¹⁾.

Actualmente, muchos productos obtenidos de plantas, ya sea en forma de extractos, se estudian por su potencial tratamiento de trastornos inflamatorios ⁽³²⁾, siendo son los principales responsables de las actividades antiinflamatorias la familia de polifenoles, terpenoides, flavonoides, saponinas y taninos ⁽³³⁻³⁴⁾.

Con lo anterior descrito, la actividad antiinflamatoria *in vitro* sobre eritrocitos plasmáticos permite estimar si el efecto antiinflamatorio de los extractos a ensayar podría ser debido a la estabilización de la membrana de los lisosomas, de forma similar a los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) ⁽³⁵⁾.

1.2.4 Familia Urticaceae

Alrededor de 54 géneros y 2625 especies de hierbas, arbustos, árboles pequeños y algunas enredaderas conforman la familia de las ortigas (orden Rosales), que se encuentra principalmente en áreas tropicales. Los tallos y las hojas de muchas especies tienen tricomas (pelos de plantas) urticantes que causan una erupción dolorosa al contacto. Las fibras largas de los tallos de algunas especies, como el ramio (*Boehmeria nivea*), se utilizan en la industria textil ⁽³⁶⁾.

Descripción botánica

Los miembros de la familia Urticaceae tienen hojas variadas y savia que suele ser acuosa. Las pequeñas flores verdosas a menudo forman racimos en las axilas de las hojas. Tanto las flores masculinas como las femeninas pueden nacer en la misma planta, aunque algunas especies son dioicas (producen flores masculinas en un individuo y femeninas en otro). Los estambres rizados de las flores masculinas se enderezan

rápidamente cuando las flores se abren, liberando el polen. La fruta seca de una sola semilla a menudo está encerrada por el verticilo exterior del racimo de flores ⁽³⁶⁾.

***Cecropia* spp.**

Las cecropias son algunos de los árboles neotropicales más conspicuos, identificables por sus troncos delgados y pálidos y sus hojas grandes y lobuladas. Son propias del bosque secundario, ya que son de crecimiento muy rápido y están adaptadas para colonizar claros de bosques. El género *Cecropia*, anteriormente ubicado en su propia familia Cecropiaceae pero ahora generalmente ubicado en la familia de las ortigas (Urticaceae), contiene más de 60 especies en total, todas del Neotrópico. De estas, 10 especies se encuentran en Panamá y 6 en el centro de Panamá. Distinguir diferentes especies de *Cecropia* a menudo es difícil y puede requerir una inspección minuciosa (36).

***Cecropia strigosa* Trécul (cetico)**

Pertenece a la división Magnoliophyta, género *Cecropia* Loefl ⁽³⁶⁾. Muchas medicinas herbales comerciales han ingresado recientemente al mercado, pero hay muy poco conocimiento de los componentes químicos de estas medicinas. Las plantas del género *Cecropia* (Urticaceae) son un ejemplo representativo de esta situación.

En términos generales, el género *Cecropia* se caracteriza por ser un árbol dioico, poco ramificado, generalmente con un sistema de ramificación en forma de candelabro, tronco hueco, a veces con raíces en zancos, láminas peltadas con uno o dos trichilia en la base de los pecíolos, inflorescencias dispuestas en racimos digitados (o una sola inflorescencia), generalmente envueltas por una espata hasta la antesis, brácteas interflorales ausentes, flores con dos estambres y pequeños frutos secos envueltos por un perianto tubular

verdoso ⁽³⁷⁻³⁸⁾. Este género es un árbol extenso y abundante de crecimiento rápido que se distribuye a lo largo de la selva tropical y subtropical desde México hasta América del Sur y Central bajo los 2600 m sobre el nivel del mar ⁽³⁹⁾. Las plantas de este género comprenden 61 especies ⁽²⁶⁾ y son popularmente conocidas como 'yarumo', 'guarumo', 'guarumbo', 'embaúba', 'ambay', 'torém', 'trompeta', entre otras ⁽⁴⁰⁾.

Las especies de *Cecropia* tienen un significado ecológico relevante; debido a su rápida tasa de crecimiento, son colonizadores primarios de áreas tropicales deforestadas ⁽⁴¹⁾ y actúan como especies invasoras en regiones no nativas ⁽⁴²⁾. La mayoría de las especies de *Cecropia* son plantas-hormiga o mirmecófitas, es decir, viven en una relación mutualista con una colonia de hormigas simbióticas (especialmente del género *Azteca*). Poseen estructuras especializadas para ofrecer refugio, alimento y espacio para habitar a las hormigas a cambio de protección contra los enemigos naturales ⁽⁴³⁻⁴⁴⁾.

Usos tradicionales del género *Cecropia*

La importancia biológica de este género está asociada a sus múltiples reclamos medicinales en varios países de América Latina. Cinco especies medicinales dentro de este género seleccionadas para este trabajo son ampliamente utilizadas como diuréticos, antioxidantes, antitusivos, expectorantes y para el tratamiento de varias enfermedades como tos, asma, hipertensión, diabetes, inflamación y trastornos del sistema nervioso central (ansiedad y depresión) ⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾. Además, han sido reportados por sus propiedades cicatrizantes, analgésicas y antimicrobianas ⁽⁴⁸⁾. La gama de propiedades terapéuticas atribuidas a estas plantas se ha correlacionado con su contenido en flavonoides, proantocianidinas ⁽⁴⁰⁾, terpenoides, esteroides ⁽⁴⁹⁾, ácido clorogénico y cafeico ⁽⁵⁰⁾ y otros compuestos fenólicos ⁽⁴⁵⁾.

***Cecropia obtusifolia* Bertol**

En la medicina popular, las hojas secas de *C. obtusifolia* se usan como infusión principalmente para el tratamiento de la diabetes y como agente antiinflamatorio ⁽⁵¹⁾. La infusión acuosa se prepara con 15 g de hojas secas hervidas en 500 mL de agua. La infusión fría resultante se bebe a lo largo del día ⁽⁵²⁾. En México, las hojas, el tallo, la corteza y la raíz son ampliamente utilizados para el tratamiento empírico de la diabetes tipo 2 ⁽⁵³⁻⁵⁶⁾. Esta planta fue incluida en la Farmacopea Herbal de los Estados Unidos Mexicanos ⁽⁵³⁾. Además, las decocciones de las hojas de esta planta se utilizan en El Salvador como sedante y para el tratamiento de la artritis y el reumatismo ⁽⁵¹⁾. En Costa Rica, esta planta es popularmente utilizada para el tratamiento de la hipertensión arterial y como agente diurético ⁽⁵³⁾. *C. obtusifolia* también se usa tradicionalmente en América Latina para tratar insuficiencia cardíaca, tos, asma, bronquitis, fiebre, trastornos hepáticos y renales, heridas, picaduras de hormigas y escorpiones ^(53,57).



Figura N° 1. *Cecropia obtusifolia* (58)

***Cecropia strigosa* Trécul**

La corteza de cetico contiene una fibra larga y resistente que se utiliza para hacer pulpa de papel y cuerdas comunes. La fabricación de boyas para redes de pesca y chalecos salvavidas se ha realizado utilizando los

tallos huecos. Los troncos se parten por la mitad y se utilizan como canaletas y canales de agua. El asma, la tos y la neumonía se tratan con una decocción de las hojas ⁽⁵⁹⁾.



Figura N° 2. Hoja seca de *C. strigosa* Trécul (60)

***Cecropia peltata* L.**

Las hojas de *C. peltata* se utilizan tradicionalmente como infusión para tratar trastornos cardiovasculares, metabólicos y respiratorios, por sus efectos cicatrizantes y diuréticos ^(61,50). Esta infusión se prepara de forma similar a *C. obtusifolia* (53). En México, Brasil y Trinidad y Tobago las hojas se toman para tratar la diabetes mellitus (62-64). En Brasil y Trinidad y Tobago se utilizan para el tratamiento de enfermedades cardíacas e hipertensión (63-64). En Colombia se utiliza como sedante y antimicrobiano ⁽⁶⁵⁻⁶⁶⁾.



Figura N° 3. *Cecropia peltata* L (67)

1.2.5 Familia Piperaceae

Las Piperaceae, o familia de las pimientos, pertenecen al orden Piperales dentro del clado Magnoliidos. Esta familia incluye alrededor de 13 géneros y 3600 especies, distribuidas en regiones tropicales y subtropicales, especialmente en América. Las plantas pueden ser herbáceas, arbustivas o trepadoras, muchas veces aromáticas, con haces vasculares dispersos. Los tallos suelen estar cubiertos por una vaina estipular, y las hojas, en su mayoría alternas, son asimétricas y nervadas. Las flores son muy pequeñas, bisexuales o unisexuales, y están organizadas en espigas o umbelas, opuestas a las hojas o en las axilas. Carecen de perianto, y sus estambres varían de 1 a 10. El fruto es generalmente una drupa o nuez, y las semillas contienen perispermo almidonado ⁽⁶⁸⁾.

El género *Piper* constituye una clase importante de plantas medicinales utilizadas para controlar el dolor y los trastornos inflamatorios en la práctica folclórica. *P. guineense*, *P. betle* y *P. capense* se usan para tratar el dolor, las enfermedades respiratorias y la tos en la mayoría de las comunidades donde se encuentran. La búsqueda de literatura sobre estudios para validar estas actividades en el género *Piper* ha resultado infructuosa. Hay estudios realizados sobre el género *Piper* de otras regiones fuera de África, particularmente en India, como se informó en una revisión ⁽⁶⁹⁾. Estudios recientes realizados con el aceite esencial de *P. guineense* de Nigeria mostraron interesantes potenciales analgésicos y antiinflamatorios comparables a los de las drogas estándar ⁽⁶⁹⁾.

***Piper aduncum* L. (matico)**

Árbol arbustivo tropical de hoja perenne perteneciente a la familia de plantas conocidas como "pimientos". Sus usos populares para el tratamiento de enfermedades incluyen efectos antimicrobianos, antiinflamatorios, antihelmínticos y analgésicos. El interés en el aprovechamiento de esta especie está especialmente relacionado con su ocurrencia espontánea,

siendo incluso considerada invasora en lugares alterados por la acción antrópica ⁽⁶⁹⁾.

Arbusto perenne de hojas alternas, simples, pecioladas, coriáceas, ásperas y pentanervadas, que puede crecer hasta 5 m. de altura y tienen un tallo nudoso leñoso. Pequeñas flores sésiles que no se pueden ver a simple vista; inflorescencia terminal o axilar en espigas de 15 cm de largo promedio; olor característico ⁽⁷⁰⁾. En suelo peruano se encuentra ampliamente disperso en lugares como Amazonas, Cajamarca, Lima, Loreto, Piura, entre otros; también está presente en Brasil ⁽⁷¹⁾.

Aplicaciones etnomedicinales: resfriados, bronquitis, inflamaciones, tos, infecciones urinarias y hepáticas se tratan con hojas frescas preparadas en forma de infusión. Los frutos se usan como diuréticos, para tratar la cistitis y para tratar la gonorrea ⁽⁷⁰⁾. Las hojas secas se usan para lavar heridas (porque se cree que tiene propiedades curativas). La raíz se aplica tópicamente para tratar amigdalitis, cálculos renales, reumatismo, expectoración y astringencia ⁽⁷²⁾.



Figura N° 4. *Piper aduncum* L (73)

1.2.6 Familia Bignoniaceae

Contiene alrededor de 110 géneros y más de 800 especies de árboles, arbustos y, más comúnmente, enredaderas, principalmente de América tropical, África tropical y la región Indo-Malaya. Forman una parte importante de los ecosistemas de bosques tropicales debido a sus numerosas enredaderas. Algunos se encuentran en regiones templadas, en particular el árbol catalpa (Catalpa), la enredadera de trompeta (Campsis) y la enredadera cruzada (Bignonia) ⁽⁷⁴⁾.

La familia se caracteriza por hojas bicompuetas en pares opuestos y flores bisexuales en forma de campana o embudo. Las flores presentan un cáliz y una corola de cinco lóbulos, dos estambres largos y dos cortos que surgen del tubo de la corola y un pistilo colocado en un disco sobre el punto de unión de las otras partes de la flor. El ovario consta de dos carpelos fusionados que contienen óvulos que encierran dos (rara vez una) cámaras que contienen muchos óvulos unidos a lo largo del eje central. Las semillas suelen ser planas y aladas y generalmente nacen en una cápsula de fruta ⁽⁷⁴⁾.

Usos tradicionales y locales de *Mansoa* spp.

***M. alliacea*:** La infusión de las partes aéreas secas de *M. alliacea* se ha utilizado en Surinam como vermífugo, para tratar la fiebre y los dolores reumáticos. El uso de las hojas secas en Perú incluye el tratamiento de resfriados, neumonía y malaria, como insecticida y antirreumático. En Brasil, las infusiones de las hojas de *M. alliacea* se han utilizado para tratar resfriados y fiebres, como condimento y como analgésico para el dolor de cabeza ⁽⁷⁵⁻⁷⁶⁾.

***M. hymenaea*:** se utiliza como planta ornamental en Tailandia debido a sus atractivas flores rosadas grandes. Se utilizan como relajante muscular y como tratamiento para la artritis reumatoide en Sudáfrica ⁽⁷⁷⁾.

***M. hirsuta*:** Se reporta como una planta antifúngica, antihipertensiva, diurética y antitumoral y se utiliza en el tratamiento de la diabetes ⁽⁷⁸⁾.

***M. standleyi*:** La decocción de los tallos se ha utilizado para un lavado externo para tratar la fatiga y la cojera o lumbago en las Guayanas

(Guyana, Surinam y Guayana Francesa); los Wayapi de la Guayana Francesa utilizan los tallos macerados como insecticida contra las hormigas; los Tikuna de Colombia usan la hoja para tratar síntomas febriles y dolor de cabeza, mientras que los Waorani (Ecuador) usan los tallos y las hojas para la artritis, la fiebre y dolores musculares. También se utiliza en el estado de Pará, en el norte de Brasil, como planta ornamental ⁽⁷⁹⁾.

1.2.7 *Artemia* sp.

Artemia sp. (Artemiidae), comúnmente conocida como camarón de salmuera, es un pequeño crustáceo utilizado para determinar la toxicidad de una amplia variedad de productos. Para una evaluación rápida de la toxicidad, este ensayo se considera uno de los instrumentos más útiles ⁽⁸⁰⁾.

Son utilizados en la detección de toxinas fúngicas y para determinar la toxicidad de extractos de plantas, metales pesados, cianobacterias, algas y materiales dentales. Además, se ha descrito un ensayo en microplaca. Este micrométodo facilita la prueba de diversos productos diluidos en serie en microplacas de 96 pocillos y volúmenes de 200 µl; en el primer método se utilizan viales individuales de 5 mL ⁽⁸¹⁻⁸²⁾.

Taxonomía

El género *Artemia* es un complejo de especies hermanas y superespecies, definido por el criterio del aislamiento reproductivo. Los primeros taxónomos asignaron nombres de especies a poblaciones con diferentes morfologías, recolectadas a diferentes temperaturas y salinidades. Más tarde, se abandonó la profusión de nombres y todos los camarones de salmuera se denominaron *A. salina* Linnaeus 1758. Algunos autores continúan con esta práctica en la actualidad. En general, se asignan diferentes nombres a poblaciones aisladas reproductivamente o grupos de poblaciones: ⁽⁸³⁾

- *A. salina* Linnaeus 1758: Lymington, Inglaterra (ahora extinta), área mediterránea;
- *A. tunisiana* Bowen y Sterling 1978 sinónimo de *A. salina*;

- *A. sinica* Yaneng 1989: Asia central y oriental;entre otros.

Es posible la coexistencia de dos especies en el mismo hábitat salino: se han descrito mezclas de poblaciones partenogenéticas y cigogenéticas en las salinas mediterráneas. Además, las empresas comerciales de acuicultura han sembrado salinas con quistes importados en muchas ocasiones; *A. Franciscana* se está introduciendo en Asia, Australia y América del Sur durante los últimos 20 años. Debido a que constantemente se caracterizan nuevas poblaciones, se insta a los científicos a utilizar la denominación *Artemia* sp. a menos que tengan suficiente evidencia bioquímica, citogenética o morfológica para identificar el nombre de la especie ⁽⁸³⁾.

La distribución mundial del camarón de salmuera en una variedad de hábitats aislados, cada uno caracterizado por sus propias condiciones ecológicas, ha resultado además en la existencia de numerosas cepas geográficas o poblaciones genéticamente diferentes dentro de la misma especie hermana; en particular, la *Artemia* partenogenética con sus poblaciones di-, tri-, tetra- y pentaploides muestra una amplia variación genotípica. Entre estas cepas se ha observado un alto grado de variabilidad genética, así como una diversidad única en varias características cuantitativas. Algunas de estas características (es decir, el valor nutricional de los nauplios recién nacidos) son fenotípicas y cambian de un año a otro o de una estación a otra. Sin embargo, otros (es decir, el diámetro del quiste, la tasa de crecimiento, la resistencia a altas temperaturas) son específicos de la cepa y permanecen relativamente constantes (es decir, se han vuelto genotípicos como resultado de adaptaciones a largo plazo de la cepa a las condiciones locales) ⁽⁸³⁾.

La larva de primer estadio (etapa I; longitud de 400 a 500 μm) es de color marrón anaranjado con tres pares de apéndices: es decir, la primera antena (función sensorial), la segunda antena (función de locomoción + alimentación por filtración) y las mandíbulas (función de absorción de alimentos). Un labrum considerable cubre el lado ventral (absorción de alimentos: transferencia de partículas desde las setas filtrantes a la boca). La larva en etapa I sobrevive únicamente con sus reservas de yema porque su sistema digestivo aún se está desarrollando ⁽⁸⁴⁾.

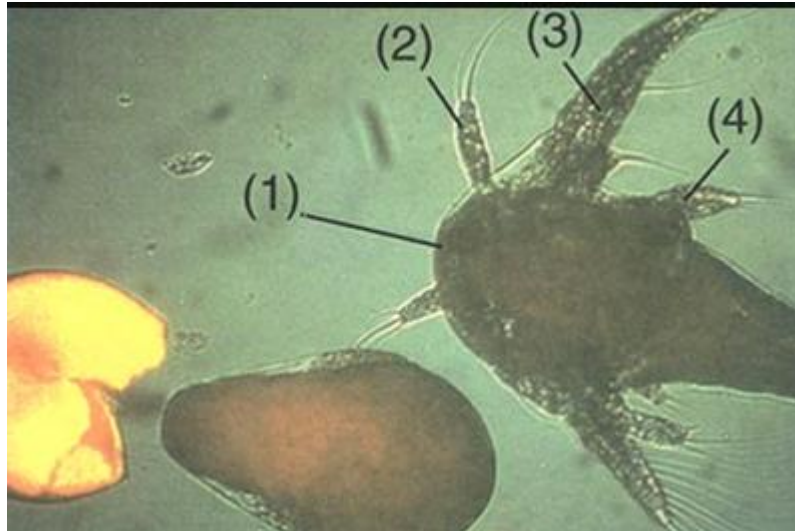


Figura N° 5. Embrión en estadio “paraguas” (izquierda) e estadio I nauplius (derecha). (1) ojo de nauplio; (2) antenula; (3) antena; (4) mandíbula (85)

1.2.8 Inflamación

El aumento de la permeabilidad vascular contribuye a la primera etapa de la inflamación al permitir que la sangre se filtre al espacio intersticial; la segunda por la infiltración de leucocitos de la sangre a los tejidos y la tercera por la formación de granulomas ⁽⁸⁶⁾.

En consecuencia, las pruebas antiinflamatorias deben dividirse en aquellas que miden la inflamación aguda, la inflamación subaguda y los procesos de reparación crónica. En algunos casos, la selección se dirige a compuestos de prueba para aplicación local ⁽⁸⁶⁾.

Métodos para determinar actividad antiinflamatoria

- Estabilización de membrana de glóbulos rojos humanos: La membrana HRBC actúa de manera similar a la membrana lisosomal ⁽⁸⁷⁾. Si se estabiliza usando el extracto, también estabiliza la membrana lisosomal
- Prueba de edema de la pata inducida por carragenina ⁽⁸⁸⁾.
- Prueba de edema de la oreja inducida por xileno ⁽⁸⁸⁾
- Prueba de formalina y contorsiones inducidas por ácido acético ⁽⁸⁸⁾.

1.3. Definición de términos básicos

Toxicología: es el estudio de las consecuencias nocivas causadas por agentes químicos o físicos en los organismos vivos ⁽⁸⁹⁾.

Toxicidad aguda: Capacidad de una sustancia para causar efectos nocivos inmediatos o agudos en un organismo después de una única exposición o dosis breve ⁽⁹⁰⁾.

Instant Ocean: cuidadosamente formulado para crear el ambiente marino ideal; también conocida como sal marina ⁽⁹¹⁾.

Nauplio de *Artemia franciscana*: Estadío larval del crustáceo *A. franciscana*, ampliamente utilizado en ensayos de toxicidad debido a su sensibilidad a diferentes agentes químicos y condiciones ambientales ⁽⁸⁵⁾.

Actividad antiinflamatoria: capacidad de una sustancia para reducir o modular la respuesta inflamatoria del organismo, disminuyendo la inflamación y sus síntomas asociados ⁽⁹²⁾.

Regresión lineal: utiliza un modelo matemático llamado regresión lineal, también conocido como ajuste lineal, para aproximar la relación de dependencia de una variable dependiente y la(s) variable(s) independiente(s).

Eritrocitos humanos: glóbulos rojos presentes en la sangre humana, responsables del transporte de oxígeno a los tejidos y susceptibles a cambios en su función en respuesta a estímulos externos, como agentes antiinflamatorios ⁽⁹³⁾.

In vitro: término que se refiere a experimentos realizados fuera del organismo vivo, en un ambiente controlado de laboratorio ⁽⁹⁴⁾.

Fitocompuestos: compuestos químicos presentes en las plantas que pueden tener efectos biológicos y terapéuticos, como alcaloides, flavonoides, terpenoides, entre otros ⁽⁹⁵⁾.

Modelo experimental: sistema utilizado en investigación para simular condiciones biológicas específicas y estudiar los efectos de diferentes variables o tratamientos en un entorno controlado ⁽⁹⁶⁾.

CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS

2.1 Variables y su operacionalización

➤ Variables.

- a) Extracto alcohólico e hidroalcohólico.
- b) Toxicidad aguda *in vitro* sobre *A. franciscana*.
- c) Actividad antiinflamatoria *in vitro* sobre eritrocitos plasmáticos.

➤ Definiciones conceptuales.

- a) Extracto alcohólico e hidroalcohólico: EA: solución creada al macerar o filtrar material vegetal deshidratado en presencia de alcohol etílico y luego eliminar físicamente el solvente. EHA: solución elaborada a partir de material vegetal deshidratada que se obtiene por maceración en etanol y agua, posterior eliminación física del disolvente.
- b) Toxicidad aguda *in vitro* sobre *A. franciscana*: efecto desfavorable (letal) en organismos de prueba por un período de exposición a una determinada sustancia, normalmente unos pocos días.
- c) Actividad antiinflamatoria *in vitro* sobre eritrocitos plasmáticos: ensayo que permite evaluar un tratamiento en términos de % de inhibición e IC₅₀.

➤ Definiciones operacionales.

- a) Variable independiente (X): extracto alcohólico e hidroalcohólico.
- b) Variable dependiente (Y): toxicidad aguda *in vitro* sobre *A. franciscana*.
- c) Variable dependiente (Y): actividad antiinflamatoria *in vitro* sobre eritrocitos plasmáticos.

➤ Indicadores.

- a) [] de extracto.
- b) CL₅₀.
- c) % inhibición, IC₅₀.

➤ Índices.

- a) Presenta / no presenta actividad.

- b) Tóxico (1 – 1000 µg/mL) / no tóxico (>1000 µg/mL)
- c) %, mg/mL.

2.2 Formulación de la hipótesis

Los extractos de corteza de *C. strigosa* Trécul (cetico), hojas de *P. aduncum* L. (matico) y *M. alliacea* Lam (ajos sachá) generan efectos de toxicidad aguda *in vitro* sobre nauplios de *Artemia franciscana* y muestran actividad antiinflamatoria *in vitro* sobre eritrocitos humanos.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de la investigación

Tipo: experimental, donde los grupos experimentales se manejaron de forma que permitieron estudiar el comportamiento de las variables.

Diseño de investigación: prospectivo, porque la información fue registrada en la medida que los datos de las variables de estudio se recolectaron.

3.2 Población y muestra

Población de Estudio

Corteza de *C. strigosa* Trécul (cetico), hojas de *P. aduncum* L. (matico) y *M. alliacea* Lam (ajos sachá), recolectadas del centro poblado de Quistococha.

Tamaño de muestra de estudio

Dos (02) kg de corteza y hojas de las especies ensayadas.

Tipo de Muestreo y procedimiento de selección de la muestra

Tipo de muestreo: No probabilístico.

Procedimiento de selección de la muestra: Por conveniencia.

Criterios de Selección

Criterios de Inclusión

Material vegetal georreferenciado que ha sido identificado.

Material vegetal en buen estado de conservación.

Criterios de Exclusión

Material vegetal no perteneciente al lugar de recolecta.

3.3 Técnicas e instrumentos

Las técnicas de recolección de datos se llevaron a cabo mediante la evaluación toxicológica y farmacológica de cada especie vegetal estudiada, utilizando como herramientas metodologías de análisis toxicológico y farmacológico. Nos basamos en reactivos, materiales de laboratorio, instrumentos de medición y programas estadísticos para procesar los resultados de todas las especies vegetales en términos de toxicidad aguda y antiinflamatoria.

Este trabajo de investigación se desarrolló en etapas de revisión bibliográfica de fuentes, trabajo de campo, laboratorio y análisis de los resultados obtenidos.

La investigación y revisión bibliográfica aportó conocimientos teóricos para la realización del estudio.

3.4 Procedimiento de recolección de datos

3.4.1 Procedimiento

Obtención de las muestras vegetales

1. La recolecta de especies vegetales se llevó a cabo utilizando tijeras podadoras, las mismas que permitieron cortar los órganos (corteza y hojas) de las especies vegetales seleccionadas para el estudio.
2. Una vez llegado el material vegetal al laboratorio, se limpiaron y se cortaron en pequeños fragmentos. En paralelo, se seleccionaron corteza y hojas de las especies vegetales para elaborar exsiccatas con la finalidad de proceder a su certificación por el responsable del Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de Amazonia Peruana – UNAP.
3. Luego, se procedió al secado de las muestras a 40 °C por una semana, Posteriormente, realizamos la molienda (hasta quedar micropulverizada) y posterior guardado en frascos de vidrio.

3.4.2 Ensayos experimentales

A. Evaluación de la toxicidad aguda

Animales de experimentación:

Los huevos de *A. franciscana* pasaron por un proceso de eclosión para transformarse en nauplios. En un vaso de precipitado de 1 litro, se preparó una solución al 3% de Instant Ocean (IO). Se tomaron 30 mL de esta solución y se añadieron 0,1 g de huevos de *A. franciscana*, dejándolos reposar durante 15 minutos. Luego, se incorporaron 0,37 L adicionales de la solución IO para la hidratación de los huevos, manteniéndolos a 25°C durante 60 minutos. Después, se colocó un aireador de acuario en el vaso de precipitado para proporcionar aireación. La incubación se llevó a cabo durante dos días a 25°C, utilizando dos lámparas de 20 W colocadas a 5 cm de cada lado del frasco para asegurar una iluminación uniforme.

Condiciones ambientales para los huevos de experimentación:

Se monitorearon en el laboratorio a una temperatura que oscilaba entre 22 y 25° C.

Tratamiento y evaluación de grupos experimentales:

Se apagó el aireador de acuario y una lámpara para que los nauplios se reunieran en una zona específica del vaso de precipitados. Luego, se organizaron los tubos en grupos: A1-A3, B1-B3, C1-C3, y D1-D3 contenían nauplios y 6 mL del extracto para su evaluación (grupos experimentales). Los tubos E1-E3 sirvieron como controles negativos, conteniendo solo nauplios y 6 mL de la solución IO. Los tubos F1-F3 fueron los controles positivos, con 6 mL de una solución de 400 ppm de K₂Cr₂O₇. Cada concentración se preparó por triplicado y se pipetearon 25 nauplios del vaso de precipitados a cada tubo de ensayo. Los tubos se cubrieron con papel aluminio y se colocaron lámparas de 20 W a ambos lados durante 1 día ⁽⁹⁷⁾.

Determinación cuantitativa de supervivencia de nauplios:

Después de exponer los nauplios al extracto durante 24 horas, se transfirió el contenido de cada tubo de ensayo a una placa de cultivo de tejidos de 12 pozos. Luego, el tubo se enjuagó con agua para asegurarse de que todos los camarones fueran transferidos. Los nauplios fueron contados utilizando un equipo de video de alta definición para registrar el número de nauplios vivos y muertos ⁽⁹⁷⁾ (Anexo 3).

B. Determinación de la actividad antiinflamatoria

Solución de glóbulos rojos humanos:

A un donante se le extrajeron 20 ml de sangre venosa. 5 mL de la sangre extraída fueron divididos en cuatro tubos de ensayo, se mezclaron con una cantidad igual de solución Alsever (mezcla de Dextrosa 2%, cloruro de sodio 0,42%, citrato de sodio 0,8% y ácido cítrico 0,05%) (98), se homogeneizaron por inmersión y luego se centrifugaron durante 15 minutos a 3000 rpm. Después de eliminar el sobrenadante (suero) y la fibrina (proteína), el plasma resultante fue lavado con NaCl 0,9% y centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos (tres veces). Se preparó una solución de glóbulos rojos al 10% v/v con el paquete de células (plasma) y se mantuvo entre 2 y 8°C (99).

Preparación del tubo de experimentación:

La evaluación consistió en 0,5 mL de extracto etanólico de corteza de *C. strigosa* Trécul (cetico), hojas de *P. aduncum* L. (matico) y *M. alliacea* Lam (ajos sacha), a diferentes concentraciones en varios tubos (1500, 1000, 100, 10 ppm); 1 mL de Buffer fosfato (0,15 M pH=7,4); 2 mL de solución hiposalina (0,36%) y 0,5 mL de la suspensión de glóbulos rojos; utilizándose hidrocortisona como control positivo. A otro tubo se agregó 2 mL de solución hiposalina, con 1 mL de Buffer fosfato (0,15M pH=7,4) y 0,5 mL de la suspensión de glóbulos rojos, la misma

considerada como estándar. Todos los tubos se incubaron a temperatura ambiente y centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos. La hemoglobina contenida en la solución sobrenadante fue valorada en el espectrofotómetro a 540 nm.

El porcentaje de estabilidad de la membrana de glóbulos rojos fue calculado:⁽¹⁰⁰⁾.

$$(\%Inh) = \frac{Abs\ control - Abs\ muestra}{Abs\ control} \times 100$$

Instrumento:

- Hoja de reporte analítico

3.5 Procesamiento y análisis de los datos

Se utilizó el análisis Probit en SPSS (v. 25) para evaluar la mortalidad de larvas de salmuera según el logaritmo de la concentración, con un intervalo de confianza del 95% (97,101). La toxicidad aguda se determinó cuando el 50% de los nauplios murieron en 24 horas. Para la actividad antiinflamatoria, se consideró el porcentaje de inhibición para calcular el IC50. En ambos ensayos (toxicidad aguda y actividad antiinflamatoria), se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de los datos, y ANOVA para detectar diferencias significativas.

3.6 Aspectos éticos

No aplica, porque en la presente investigación no se involucraron seres humanos.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

TOXICIDAD AGUDA

Tabla N° 1. Mortalidad de nauplios de *A. franciscana*.

| Especies vegetales | [] ppm | | | | I.O. | K ₂ Cr ₂ O ₇ |
|-------------------------------------|---------|-----|------|------|-----------|---|
| | 10 | 100 | 1000 | 1500 | 3% (-) | 400 (+) |
| <i>C. strigosa</i> Trécul - corteza | 15 | 15 | 5 | 0 | 0 | 75 |
| <i>P. aduncum</i> L. – hojas | 16 | 11 | 1 | 0 | 0 | 75 |
| <i>M. alliacea</i> Lam - hojas | 25 | 13 | 6 | 4 | 0 | 75 |

Fuente: Elaboración propia

La mayor cantidad de nauplios muertos se encuentra en el extracto hidroalcohólico de *M. alliacea* Lam - hojas a 10 ppm, según la Tabla N° 1.

Tabla N° 2. Porcentaje de efecto y CL₅₀

| Especies vegetales | [] ppm | Log [] | % efecto | Probit | CL ₅₀ |
|---|---------|---------|----------|--------|------------------|
| <i>C. strigosa</i> Trécul - corteza | 10 | -2,00 | 20 | 4,16 | > 1500 ppm |
| | 100 | -1,00 | 20 | 4,16 | |
| | 1000 | 0,00 | 4 | 3,25 | |
| | 1500 | 0,18 | 0 | 0,00 | |
| <i>P. aduncum</i> L. - hojas | 10 | -2,00 | 21 | 4,19 | > 1500 ppm |
| | 100 | -1,00 | 15 | 3,96 | |
| | 1000 | 0,00 | 3 | 3,12 | |
| | 1500 | 0,18 | 3 | 3,12 | |
| <i>M. alliacea</i> Lam - hojas | 10 | -2,00 | 33 | 4,56 | > 1500 ppm |
| | 100 | -1,00 | 17 | 4,05 | |
| | 1000 | 0,00 | 8 | 3,59 | |
| | 1500 | 0,18 | 5 | 3,36 | |

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo con la tabla N° 2, ninguno de los extractos probados exhibe toxicidad aguda, ya que presentan una CL₅₀ > 1000 ppm.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Tabla N° 3. Actividad antiinflamatoria sobre eritrocitos plasmáticos

| Especies vegetales | Concentraciones (ppm) | Media del % de inhibición | Desviación estándar del % de inhibición |
|--|-----------------------|---------------------------|---|
| <i>C. strigosa</i> Trécul - corteza | 10 | 27,85 | 10,30 |
| | 100 | | |
| | 1000 | | |
| | 1500 | | |
| <i>P. aduncum</i> L. - hojas | 10 | 24,15 | 6,42 |
| | 100 | | |
| | 1000 | | |
| | 1500 | | |
| <i>M. alliacea</i> Lam - hojas | 10 | 20,52 | 3,08 |
| | 100 | | |
| | 1000 | | |
| | 1500 | | |

Se observa que el extracto de *M. alliacea* Lam – hojas, tiene una media y desviación estándar menores que los extractos de *P. aduncum* L. – hojas y *C. strigosa* Trécul – corteza, respectivamente.

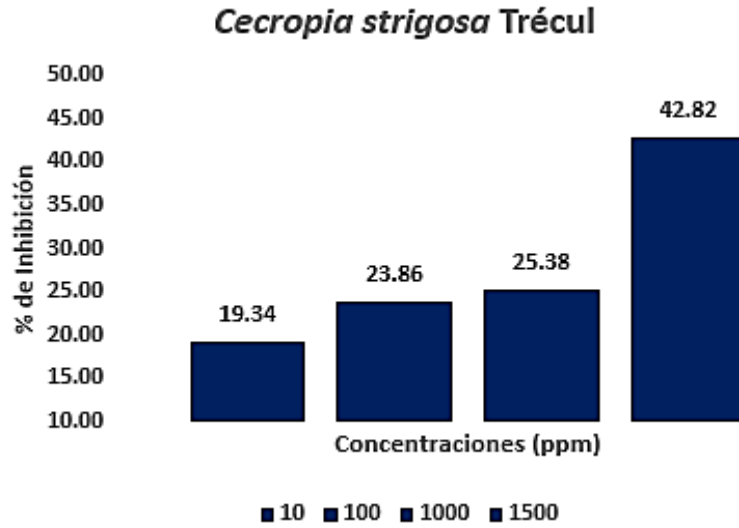


Figura N° 6. Porcentajes de inhibición del extracto de *C. strigosa* Trécul, según concentraciones evaluadas

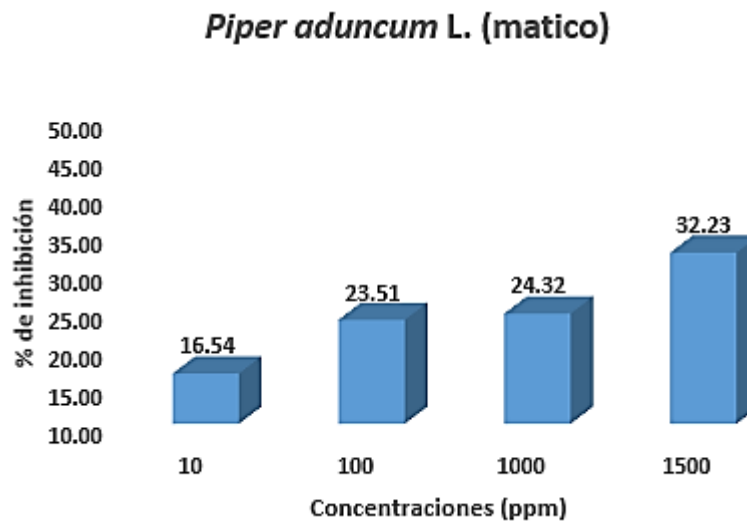


Figura N° 7. Porcentajes de inhibición del extracto de *P. aduncum* L., según concentraciones evaluadas

Mansoa alliacea Lam (ajos sacha)

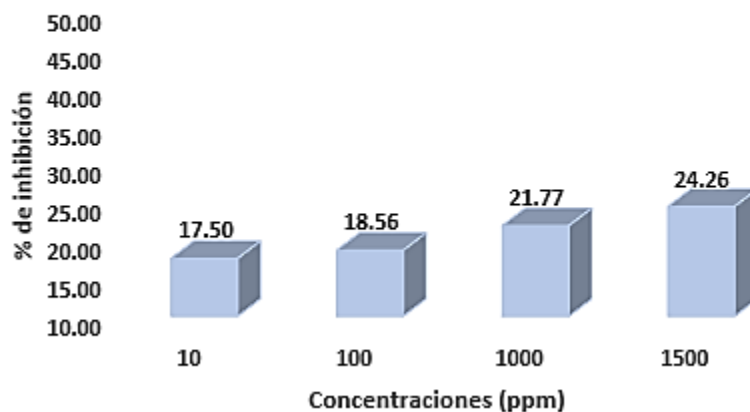


Figura N° 8. Porcentajes de inhibición del extracto de *M. alliacea* Lam, según concentraciones evaluadas

Las especies vegetales evaluadas (descritas en Figura 6, 7 y 8) mostraron cierta capacidad de inhibir la hemólisis de los glóbulos rojos en solución hipotónica. Esto se debe a que la actividad antiinflamatoria *in vitro* aumentó al incrementar la concentración, existiendo así una dependencia de la concentración.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La toxicidad aguda es la actividad tóxica específica y concreta de una sustancia que está relacionada con su composición química y es exógena al organismo (conocida como xenobiótico) como resultado de su interacción con moléculas endógenas (conocidas como receptor) ⁽¹⁰¹⁾.

La Tabla N° 2 muestra que ninguno de los extractos ensayados presenta toxicidad aguda, con una $CL_{50} > 1000$ ppm. Estos resultados son coherentes con la investigación de 2020 (21), en la que se evaluaron la toxicidad aguda y subaguda del extracto acuoso crudo de hojas de *Cecropia pachystachya* (otra especie del género *Cecropia*) en un modelo in vivo, y la citotoxicidad in vitro mediante el ensayo de sulforhodamina B. En este estudio, el extracto mostró citotoxicidad en células HT-29 ($IC_{50}=4,43$ µg/mL), y tras 28 días no se observaron signos de toxicidad en los animales.

Asimismo, estos resultados son consistentes con lo realizado en 2022 (18), donde el extracto crudo de *Piper aduncum* no mostró toxicidad sobre la membrana celular, pero sí evidenció potencial tóxico en el desarrollo celular utilizando nauplios de *Artemia salina*. Además, guardan relación directa con el estudio del 2019 (23), que concluyó que el extracto acuoso de hojas de *P. aduncum* no fue tóxico para *A. salina*. Sin embargo, estos hallazgos contrastan con los del 2018 (22), donde se identificaron efectos tóxicos de los compuestos químicos de *Piper* sobre *Aedes aegypti*. En ese estudio, el aceite crudo volátil de hojas de gaitero (Pb-CVO) mostró una alta mortalidad, especialmente con una dosis de 1,5 mg Pb-CVO/10 g de hojas, con una $CL_{50}=0,63$ mg Pb-CVO/L.

También, al hacer comparaciones entre nuestros hallazgos y los del 2022 (19), donde se encontró que una fracción de *Mansoa hirsuta* (del género *Mansoa*), no redujo significativamente la viabilidad celular en el ensayo de citotoxicidad y no mostró efectos tóxicos o muerte en el ensayo de toxicidad aguda.

Debido a estímulos nocivos como patógenos, irritantes y células dañadas, se produce una respuesta del tejido vascular a la que denominamos inflamación (102). La inflamación, que es un esfuerzo preventivo del organismo para eliminar los estímulos nocivos junto con la inflamación, inicia una señal para el proceso de curación. El término antiinflamatorio se refiere al atributo de una sustancia química junto con un tratamiento que puede reducir la inflamación (103).

El equilibrio funcional de las células depende del estado de las membranas. Los glóbulos rojos expuestos a soluciones hipotónicas sufren lisis de membrana asociada con procesos oxidativos, lo que resulta en hemólisis. El efecto hemolítico de las soluciones hipotónicas se produce debido a la acumulación de líquido dentro de las células, provocando la rotura de membranas (104).

La estabilización de las membranas lisosomales previene la liberación de mediadores químicos leucocitarios y limita el proceso inflamatorio. Debido a las similitudes entre las membranas lisosomales y los glóbulos rojos, la estabilización de esta última puede interpretarse como un factor estabilizador de la membrana lisosomal y como un posible efecto antiinflamatorio (104).

De acuerdo a la tabla 5, *C. strigosa* Trécul - corteza obtuvo el mayor % de inhibición entre las demás especies vegetales, presenta una $IC_{50} > 1500$ ppm. Al respecto, nuestro estudio es consistente con el 2023 (16), en el cual el extracto de hoja de *Cecropia pachystachya* (CP) demostró actividad antiinflamatoria.

Asimismo, es contraria con lo realizado en el 2022 (19) donde una fracción de *Mansoa hirsuta*, demostró poseer potencial antiinflamatorio y analgésico; y, muestra diferencia con lo estudiado en el 2021 (20) donde el extracto de corteza de *Cecropia hololeuca* mostró una importante actividad antiinflamatoria.

CAPÍTULO VI: PROPUESTA

- Para recolectar información relevante, será ventajoso evaluar el mayor número de especies vegetales que habitan dentro del área geográfica de la región Loreto, permitiendo así conocer las características y usos etnomédicos de cada una de ellas. Esto garantizará que los residentes de la región Loreto utilicen los respectivos productos de una manera adecuada y segura; ya que las especies vegetales suelen utilizarse para la curación de enfermedades y preparación de remedios.

CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

- Según los resultados de toxicidad aguda, la mayor cantidad de nauplios muertos se encuentra en el extracto hidroalcohólico de hojas de *M. alliacea* Lam a la menor concentración evaluada.
- Ninguno de los extractos probados presentó toxicidad aguda, ya que en todos los casos se obtuvo una Concentración letal 50 mayor a 1500 ppm (valor considerado como no tóxico).
- En cuanto a la actividad antiinflamatoria, el extracto de corteza de *C. strigosa* Trécul logró la mayor tasa de inhibición en comparación con las demás especies vegetales estudiadas. Del mismo modo, todos los extractos no presentan actividad antiinflamatoria, ya que el IC₅₀ obtenido supera los 1500 ppm.

CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES

1. Teniendo en cuenta los resultados de la prueba de toxicidad aguda, será propicio llevar a cabo otros estudios, como el de toxicidad a dosis única en ratas, para evaluar las características macroscópicas de los órganos parenquimales de los animales expuestos a los extractos hidroalcohólicos de los órganos de las especies vegetales estudiadas.
2. De manera similar, será necesario replicarse el presente estudio de toxicidad aguda para otros tipos de extractos, concretamente los extractos en cloroformo y metanol, para encontrar diferencias significativas.
3. Los resultados de la actividad antiinflamatoria nos permitieron conocer el potencial etnofarmacológico de cada especie estudiada. Es por ello que recomendamos replicarlo en estudios *in vivo* tales como: edema plantar inducido por carregenina, edema auricular inducido por acetato de 12-O-tetradecanoil-forbol (TPA).

CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cuffari B. How has the COVID-19 Pandemic Impacted Global Health? [Internet]. 2022 [citado 12 de abril de 2024]. Disponible en: <https://www.news-medical.net/health/How-has-the-COVID-19-Pandemic-Impacted-Global-Health.aspx>
2. Farnsworth NR, Akerele O, Bingel AS, D Soejarto D, Guo Z. Las plantas medicinales en la terapéutica. In: Plantas Medicinales de México, introducción a su estudio. 4ª edición. Estrada L., E. (ed.). Universidad Autónoma Chapingo. México. 1992; 295–312.
3. Bye R, Estrada L, Linares E. Recursos genéticos en plantas medicinales de México. In: Plantas medicinales de México, introducción a su estudio. 4ª edición. Estrada L., E. (ed.). Universidad Autónoma Chapingo, México. 1992; 362–370.
4. Jaramillo C, Jaramillo A, Armas H, Troccoli L, Rojas L. Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra *Artemia salina*. Revista de Biología Tropical. 2016; 25:1172–1173.
5. Lozano L, García C, Alvaríño L, Lannacone J. Toxicidad aguda 67 de tres enjuagues bucales a base de *Plantago major*, *Uncaria tomentosa* y *Eucalyptus globulus* en el camarón salino *Artemia franciscana*. The Biologist. 2017; 47:438–439.
6. Ortuño BL, Rosa UES, Guzmán ADG. Ejecución de bioensayos y asistencia en estudios de impacto ambiental. Educación en Ciencia y Tecnología del Mar. Guía de aprendizaje. 2009.
7. Michael AS, Thompson CG, Abramovitz M. *Artemia salina* as a test organism for bioassay. Science. 1956;123(3194):464.
8. Fernandez-Calienes A, Mendiola J. Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. Rev Cubana Med Trop. 2009; 61(3):254-258.
9. Lima L, Barreto L, Lopes R, et al. Evaluation of the larvicidal potential of the essential oil pogostemon cablin (Blanco) Benth in the control of *Aedes aegypti*. Pharmaceuticals (Basel). 2019;12(2): 53.
10. Mashjoor S, Yousefzadi M, Zolgharnein H, Kamrani E, Alishahi M. Phyco-linked vs chemogenic magnetite nanoparticles: Route selectivity in nano-

- synthesis, antibacterial and acute zooplanktonic responses. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;102: 324-340.
11. An HJ, Sarkheil M, Park HS, Yu IJ, Johari SA. Comparative toxicity of silver nanoparticles (AgNPs) and silver nanowires (AgNWs) on saltwater microcrustacean, *Artemia salina*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2019; 218:62-69.
 12. Kachenton S, Jiraungkoorskul W, Kangwanransan N, Tansatit T. Cytotoxicity and histopathological analysis of titanium nanoparticles via *Artemia salina*. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019;26(15):14706-14711.
 13. Lagarto A, Silva R, Guerra I, Iglesias L. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD₅₀ value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine.* 2001; 8(5):395-400.
 14. Céspedes C, Ávila J, Martínez A, Serrato B, Calderón J, Salgado R. Antifungal and antibacterial activities of Mexican Tarragon (*Tagetes lucida*). *J Agric Food Chem.* 2006; 54 (10): 3521-3527.
 15. Loice BK, Mathiu PM, James MM, Gathumbi PK, Stephen GK. Knowledge and demand for medicinal plants used in the treatment and management of diabetes in Nyeri County, Kenya. *Journal of Ethnopharmacology.* 2016; 189:218-229.
 16. Santos Martins D, Silva Costa DV, da Silva Martins C, Pascoal Silva AMH, Viana Pequeno AL, Lemos Quintela A, Marques Canuto K, Castro Brito GA, Gomes Duarte AS. *Cecropia pachystachya* Improves Naproxen-induced Gastric Ulcers in Mice Through its Potent Anti-inflammatory, Antioxidant, and NO Production Activities. *Research square.* 2023; 1:1-24.
 17. Hamdy KA, Alaa MN, Ahmed EA, Ashraf NEH, Mohamed SK. Fitoquímica y actividad biológica de la familia "Urticaceae": una revisión (1957-2019). *Revista de Ciencias Biomédicas y Farmacéuticas Avanzadas.* 2020; 3(3):150-176.
 18. Rodrigues KM, da Silva JFM, do Nascimento GN. Evaluation of the *in vitro* toxicological potential of crude *Piper aduncum* extract. *Journal of medicinal plants research.* 2022.
 19. Rodrigues Pereira J, Gonçalves da Fonseca A, de Sena Fernandes LL, Alves Furtado A, Costa da Silva V, da Veiga Júnior VF, Goulart Sant'Ana AE, Nunes Oliveira C, Bernardo Guerra GC, Fernandes-Pedrosa MdeF,

- Gavioli EC, Oliveira-Costa JF, Pereira Soares MB, Neves de Lima AA, de Melo Silva D, Araújo Moura TM. Toxicological and pharmacological effects of pentacyclic triterpenes rich fraction obtained from the leaves of *Mansoa hirsuta*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022; 145:112478.
20. Machado EG, Cardoso O, Lima NM, Carvalho PE, Barbosa AD, Guilherme FS, Duarte JF, Coelho LR, Soares PP, Orneles AG, Santos AC, Santos K, Castro SB, Souza Alves CC. *Cecropia hololeuca*: A new source of compounds with potential anti-inflammatory action. *Natural Product Research*. 2021; 35:2772-2777.
21. De Mendonça Pereira ED, da Silva J, da Silva Carvalho P, Grivicich I, Nascimento Picada J, Salgado Júnior IB, Jouglard Vasques G, da Silva Pereira MA, Reginatto FH, Falcão Ferraz AdeB. *In vivo* and *in vitro* toxicological evaluations of aqueous extract from *Cecropia pachystachya* leaves. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 2020; 83:659-671.
22. Vasantha-Srinivasan P, Thanigaivel A, Edward E, Ponsankar A, Senthil-Nathan S, Selin-Rani S, Kalaivani K, Hunter WB, Duraipandiyar V, Al-Dhabi NA. Al-Dhabi NA. Toxicological effects of chemical constituents from Piper against the environmental burden *Aedes aegypti* Liston and their impact on non-target toxicity evaluation against biomonitoring aquatic insects. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018; 25(11):10434-10446.
23. Vaca Meza ET. Evaluación de la toxicidad en *Artemia salina* del extracto acuoso de las hojas de *Piper aduncum* L. [Tesis de grado para optar el título de Químico Farmacéutico]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo (2019). Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/13077/Vaca%20Meza%20Eveleny%20Tirsa.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Fecha de acceso: 16 Marzo 2021.
24. Khan H. Plantas medicinales a la luz de la historia: modalidad terapéutica reconocida. *J. Evid. Integral basado. Medicina*. 2014; 19:216–219.
25. Patwardhan B, Vaidya A, Chorghade M, Joshi S. Farmacología inversa y enfoques de sistemas para el descubrimiento y desarrollo de fármacos. *actual. Bioact. compd*. 2008; 4:201–212.
26. Jamshidi-Kia F, Lorigooini Z, Amini-Khoei H. Plantas medicinales: Historia pasada y perspectiva futura. *J. Herbmed Pharmacol*. 2018; 7:1–7.

27. Harlemann JH. CHAPTER 7 - The Mouse in Preclinical Safety Studies. En: Hedrich HJ, Bullock G, editores. The Laboratory Mouse [Internet]. London: Academic Press; 2004. p. 111-4. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123364258500601>
28. Mutuma GG, Ngeranwa J, Kin GMA, Kiruki S. Phytochemical and AntiInflammatory Analysis of Prunus Africana Bark Extract. Res. J. Pharmacogn. 2020; 7:31–38.
29. Cooper EL, Ma MJ. Alzheimer Disease: Clues from Traditional and Complementary Medicine. J. Tradit. Complement. Med. 2017; 7:380–385.
30. Tasneem S, Liu B, Li B, Choudhary MI, Wang W. Molecular Pharmacology of Inflammation: Medicinal Plants as Anti-Inflammatory Agents. Pharmacol. Res. 2019; 139:126–140.
31. Gonfa YH, Beshah F, Tadesse MG, Bachheti A. Phytochemical Investigation and Potential Pharmacologically Active Compounds of Rumex nepalensis: An Appraisal. Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci. 2021; 10:1–11.
32. Paun G, Neagu E, Albu C, Savin S, Radu GL. *In Vitro* Evaluation of Antidiabetic and Anti-Inflammatory Activities of Polyphenolic-Rich Extracts from Anchusa officinalis and Melilotus officinalis. ACS Omega. 2020; 5:13014–13022.
33. Azab A, Nassar A, Azab AN. Anti-Inflammatory Activity of Natural Products. Molecules. 2016; 21:1–13.
34. Bunte K, Hensel A, Beikler T. Polyphenols in the Prevention and Treatment of Periodontal Disease: A Systematic Review of in Vivo, Ex Vivo and in Vitro Studies. Fitoterapia. 2019; 132:30–39.
35. Jainul MA, Chowdhury A, Al Mamun A, Rahman S, Azam S, Shams K. Human red blood cell membrane stability testing for the estimation of antiinflammatory activity of methanolic extract of Millettia pachycarpa benth leaves. Int J Pharm Sci Res. 2013;4(12):4587–90.
36. Britannica, The Editors of Encyclopaedia. "Urticaceae". Encyclopedia Britannica (2022). Disponible en: <https://www.britannica.com/plant/Urticaceae>
37. *Cecropia strigosa* Trécul. Disponible en:

<https://tropicos.org/name/21300485>

38. Berg C, Akkermans R, Van Heusden E. Cecropiaceae: *Coussapoa* and *Pourouma*, with an introduction to the family. *Flora Neotrop.* 1990; 51:1–208.
39. Berg C, Roselli P. Cecropia. *Flora Neotrop.* 2005; 94:1–230.
40. Franco-Rosselli P, Berg CC. Distributional patterns of *Cecropia* (Cecropiaceae): a panbiogeographic analysis. *Caldasia.* 1997; 19:285–296.
41. Luengas-Caicedo PE, Braga FC, Brandão GC, De Oliveira AB. Seasonal and intraspecific variation of flavonoids and proanthocyanidins in *Cecropia glaziovi* Sneth. leaves from native and cultivated specimens. *Z Naturforsch C.* 2007; 62:701–709.
42. Monro A. 2009. Neotropical Urticaceae In: Milliken W, Klitgård B, Baracat A. Neotropikey – Interactive key and information resources for flowering plants of the Neotropics.
43. Conn BJ, Hadiah JT, Webber BL. The status of *Cecropia* (Urticaceae) introductions in Malesia: addressing the confusion. *Blumea J Plant Taxon Plant Geogr.* 2012; 57:136–142.
44. Dejean A, Leroy C, Corbara B, Céréghino R, Roux O, Hérault B, Rossi V, Guerrero RJ, Delabie JH, Orivel J, *et al.* A temporary social parasite of tropical plant-ants improves the fitness of a myrmecophyte. *Naturwissenschaften.* 2010; 97:925–934.
45. Oliveira KN, Coley PD, Kursar TA, Kaminski LA, Moreira MZ, Campos RI. 2015. The effect of symbiotic ant colonies on plant growth: a test using an Azteca-*Cecropia* system.
46. Costa GM, Ortmann CF, Schenkel EP, Reginatto FH. An HPLC-DAD method to quantification of main phenolic compounds from leaves of *Cecropia* species. *J Braz Chem Soc.* 2011; 22:1096–1102.
47. Gazal M, Ortmann CF, Martins FA, Streck EL, Quevedo J, de Campos AM, Stefanello FM, Kaster MP, Ghisleni G, Reginatto FH. Antidepressant-like effects of aqueous extract from *Cecropia pachystachya* leaves in a mouse model of chronic unpredictable stress. *Brain Res Bull.* 2014; 108:10–17.
48. Pacheco NR, Pinto NC, da Silva JM, Mendes RF, da Costa JC, Aragão DM, Castañon MC, Scio E. *Cecropia pachystachya*: a species with expressive *in vivo* topical anti-inflammatory and *in vitro* antioxidant

- effects. *Biomed Res Int*. 2014;1–10.
49. Souccar C, Cysneiros RM, Tanae MM, Torres LM, Lima-Landman MT, Lapa AJ. Inhibition of gastric acid secretion by a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth and underlying mechanism. *Phytomedicine*. 2008; 15:462–469.
 50. Ospina Chávez J, Rincón Velandá J, Guerrero Pabón M. Perfil neurofarmacológico de la fracción butanólica de las hojas de *Cecropia peltata* L [Neuropharmacological profile of the butanolic fraction obtained from leaves of *Cecropia peltata* L.]. *Rev Colomb Cienc Quím Farm*. 2013; 42:244–259.
 51. Müller SD, Florentino D, Flach C, Amélia F, Gainski L, Michels M, de Souza Constantino L, Petronilho F, Reginatto FH. Anti-inflammatory and antioxidant activities of aqueous extract of *Cecropia glaziovii* leaves. *J Ethnopharmacol*. 2016; 185:255–262.
 52. Pérez-Guerrero C, Herrera MD, Ortiz R, Alvarez De Sotomayor M, Fernández MA. A pharmacological study of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extract. *J Ethnopharmacol*. 2001; 76:279–284.
 53. Andrade-Cetto A, Vázquez RC. Gluconeogenesis inhibition and phytochemical composition of two *Cecropia* species. *J Ethnopharmacol*. 2010; 130:93–97.
 54. Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos [FHEUM]. 2001. [Herbal Pharmacopeia of the United Mexican States] - Secretaría de Salud. *Cecropia obtusifolia* Bertol. (1840). First Ed. Spanish. Mexico.
 55. Revilla-Monsalve MC, Andrade-Cetto A, Palomino-Garibay MA, Wiedenfeld H, Islas-Andrade S. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extracts on type 2 diabetic patients. *J Ethnopharmacol*. 2007; 111:636–640.
 56. Alonso-Castro AJ, Miranda-Torres AC, González-Chávez MM, Salazar-Olivo LA. *Cecropia obtusifolia* Bertol and its active compound, chlorogenic acid, stimulate 2-NBDglucose uptake in both insulin-sensitive and insulin-resistant 3T3 adipocytes. *J Ethnopharmacol*. 2008; 120:458–464.
 57. Aarland RC, Peralta-Gómez S, Sánchez CM, Parra-Bustamante F, Villa-Hernández JM, de León-Sánchez FD, Pérez-Flores LJ, Rivera-Cabrera F, Mendoza-Espinoza JA. A pharmacological and phytochemical study of medicinal plants used in Mexican folk medicine. *Indian J Tradit*

- Knowl. 2015; 14:550–557.
58. Guerrero EI, Morán-Pinzón JA, Gabriel L, Olmedo D, López-Pérez JL, San Feliciano A, Gupta MP. Vasoactive effects of different fractions from two Panamanians plants used in Amerindian traditional medicine. *J Ethnopharmacol.* 2010; 131:497–501.
59. *Cecropia obtusifolia*. Disponible en: <https://colombia.inaturalist.org/taxa/160255-Cecropia-obtusifolia>
60. Morales, L. 2008. Dendrología de la Familia CECROPIACEAE. Universidad Nacional de Colombia. [En línea]: Conservación, <http://www.conservacion.unalmed.edu.co/documentos/doc9.pdf+cecropiaceae>.
61. *Cecropia strigosa* Trécul. Disponible en: <https://www.gbif.org/tools/zoom/simple.html?src=//api.gbif.org/v1/image/cache/occurrence/3762889537/media/3e52e1db3bed124e5c252dc2f5b10732>
62. Nayak BS. *Cecropia peltata* L. (Cecropiaceae) has wound-healing potential: a preclinical study in a Sprague Dawley rat model. *Int J Low Extrem Wounds.* 2006; 5:20–26.
63. Andrade-Cetto A, Heinrich M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *J Ethnopharmacol.* 2005; 99:325–348
64. Lans CA. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. *J Ethnobiol Ethnomed.* 2006; 2:45.
65. Agra M, de F, De Freitas PF, Barbosa-Filho JM. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in northeast of Brazil. *Braz J Pharmacog.* 2007; 17:114–140.
66. Rojas JJ, Ochoa VJ, Ocampo S, Munoz JF. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: a possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. *BMC Complement Altern Med.* 2006; 6:2.
67. Ospina Chávez J, Rincón Velandá J, Guerrero Pabón M. Perfil neurofarmacológico de la fracción butanólica de las hojas de *Cecropia peltata* L [Neuropharmacological profile of the butanolic fraction obtained from leaves of *Cecropia peltata* L.]. *Rev Colomb Cienc Quím Farm.* 2013; 42:244–259.
68. *Cecropia peltata* L. Disponible en:

<https://www.gbif.org/es/occurrence/4028891873>

69. Xu Z, Deng M. Piperaceae. In: Identification and Control of Common Weeds. 2017; 2:115-118.
70. Fazolin M, Estrela JLV, Catani V, Costa CR. Potencialidades da pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.): características gerais e resultados de pesquisa. Embrapa Documentos. 2006; 103:53.
71. Mostacero J, Castillo P, Mejía F, Gamarra O, Charcape J, Ramírez R. Plantas Medicinales del Perú: Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica. 1raed. Trujillo: Asamblea Nacional de Rectores Fondo Editorial. 2011; 472-473.
72. Mostacero J, Mejía F, Gamarra O. Taxonomía de los fanerógamos útiles del Perú. 1ra ed. Trujillo: editora normas legales S.A.C. 2002; 2:232.
73. Agapito T, Sung I. Fitomedicina 1100 Plantas Medicinales. 1ra ed. Lima: Editorial Isabel I.R.L. 2010; 2:321-322.
74. *Piper aduncum* L Disponible en: <https://www.tramil.net/es/plant/piper-aduncum>
75. Bignoniaceae. plant family. Animals & Nature. Disponible en: <https://www.britannica.com/plant/Bignoniaceae>
76. Hasrat JA, De Backer JP, Vanquelin G, Vlietinck AJ. Medicinal plants in Suriname: screening of plant extracts for receptor binding activity. Phytomedicine. 1997; 4:59-65.
77. Desmachelier C, Repetto M, Coussio J, Llesuy S, Ciccía G. Total reactive antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity (TAR) of medicinal plants used in Southwest Amazonia (Bolivia and Peru). Int J Pharmacog. 1997; 35:1-9.
78. Chirunthorn R, Supavita T, Intaraksa N, Kummee S, Junkong N, Chisorn B, Itharat A. Study on biological activities of *Mansoa hymenaea* (DC.) A. Gentry leaf extracts. J Sci Technol. 2005; 27(2):489-495.
79. Luna LE. The healing practices practices of a Peruvian shaman. J Ethnopharmacol. 1984; 11:123-133.
80. DeFilipps RA, Maina SL, Crepin J. 2007. Medicinal plants of the Guianas (Guyana, Surinam, French Guiana). <http://www.mnh.si.edu/biodiversity/bdg/medicinal/MedPlantsGui1.pdf>
81. 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.
82. Harwing J, Scott PM. Brine shrimp (*Artemia salina* L) larvae as a screening system for fungal toxins. *Appl Microbiol.* 1971; 21:1011-1016.
 83. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plants constituents. *Planta Med.* 1982; 45:31-34.
 84. 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>
 85. 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>
 86. Daniel V. Anti-inflammatory Activity. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays.* 2014; 1-37.
 87. Chou C. The Antiinflammatory effect of an extract of *Tripterygium wilfordii* hook F on adjuvant-induced paw Oedema in rats and Inflammatory mediators release. *Phyther Res An Int J Devoted to Med Sci Res Plants Plant Prod.* 1997; 11:152–154.
 88. Nasiara K, Inamullah K, Waheed K, Imran K, Ajmal K, Sobia AH, Hizbullah K, Javid H, Ahmed A. Anti-nociceptive and Anti-inflammatory Activities of Asparacosin A Involve Selective Cyclooxygenase 2 and Inflammatory Cytokines Inhibition: An *in-vitro*, *in-vivo*, and in-silico Approach. *Frontiers in Immunology.* 2019; 10(581):1-11.
 89. Introduction to Toxicology. *Children's Health and the Environment.* Disponible en: https://ec.europa.eu/health/ph_projects/2003/action3/docs/2003_3_09_a2_1_en.pdf
 90. What is acute toxicity?. *Science courses.* Disponible en: <https://study.com/learn/lesson/acute-vs-chronic-toxicity-differences-overview.html>
 91. Instant ocean. Concepto. Disponible en: <https://www.instantocean.com/>
 92. Antiinflamatory. Concept. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/antiinflammatory#:~:text=Antiinflammatory%20agents%20are%20mediators%20that,may%20develop%20to%20treat%20inflammation.>

93. Ingley E, Klinken SP. ERYTHROCYTES. En: Laurent GJ, Shapiro SD, editores. Encyclopedia of Respiratory Medicine [Internet]. Oxford: Academic Press; 2006. p. 142-6. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0123708796001411>
94. Lynne Eldridge, MD. In Vivo vs. In Vitro: ¿Cuáles son las diferencias? [Internet]. 2024 [citado 18 de abril de 2024]. Disponible en: <https://www.verywellhealth.com/what-does-in-vivo-and-in-vitro-mean-2249118>
95. Dineshkumar G, Rajakumar R. GC-MS Evaluation of bioactive molecules from the methanolic leaf extract of *Azadirachta indica* (A. Juss). Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology. 2015; 5(2):64-69.
96. Mathews KL, Crossa J. Experimental Design for Plant Improvement. En: Reynolds MP, Braun HJ, editores. Wheat Improvement: Food Security in a Changing Climate [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2022. p. 215-35. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-030-90673-3_13
97. 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.
98. Alsever JB. A new method for the preparation of dilute blood plasma and the operation of complete transfusion service. NY State J. Med. 1941; 41:126.
99. Gandhisan R, Thamarachelvan A. Baburaj: Anti-inflammatory action of *Lanea coromandelica* HRBC membrane stabilization. Fitoterapia. 1991; 62:82–83.
100. Shinde UA, Phadke AS, Nair AM, Mungantiwar AA, Dikshit VJ, Saraf VO. Membrane stabilizing activity—a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. Fitoterapia. 1999; 70:251–257.
101. 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.
102. Cordero M. Introducción a la Toxicología. 2018. Disponible en: <https://cutt.ly/KwnhdYf>
103. Ferrero-Miliani L, Nielsen OH, Andersen PS, Girardin SE. Chronic

inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation.
Clin Exp Immunol. 2007; 147:227–235.

104. Roper D, Layton M. Investigation of the hereditary haemolytic anaemias: membrane and enzyme abnormalities, en LEWIS SM, BAIN BJ, BATES I. *Dacie and Lewis Practical Haematology*, 10.^a ed., Philadelphia, Churchill Livingstone Elsevier, 2006, p. 205-237.

ANEXOS

Anexo N° 01: Matriz de consistencia

| Título de la Investigación | Problema de Investigación | Objetivos de la Investigación | Hipótesis | Diseño y tipo de estudio | Población de estudio y procesamiento | Instrumento de recolección |
|---|---|--|---|--|---|----------------------------------|
| <p>Toxicidad Aguda <i>in vitro</i> frente a nauplios de <i>Artemia franciscana</i> y Actividad Antiinflamatoria <i>in vitro</i> de tres especies vegetales amazónicas sobre eritrocitos plasmáticos</p> | <p>¿En qué medida la corteza de <i>Cecropia strigosa</i> Trécul (cetico), las hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (matico) y de <i>Mansoa alliacea</i> Lam (ajos sacha), presentan toxicidad aguda <i>in vitro</i> frente a nauplios de <i>Artemia franciscana</i> y actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> sobre eritrocitos plasmáticos?</p> | <p>GENERAL Evaluar toxicidad aguda <i>in vitro</i> frente a nauplios de <i>Artemia franciscana</i> y actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> de corteza de <i>Cecropia strigosa</i> Trécul (cetico), hojas de <i>Piper aduncum</i> L. (matico) y <i>Mansoa alliacea</i> Lam (ajos sacha) sobre eritrocitos plasmáticos.</p> <p>ESPECÍFICOS Determinar toxicidad aguda <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>C. strigosa</i> Trécul, hojas de <i>P. aduncum</i> L. y <i>M. alliacea</i> Lam a concentraciones de 10, 100, 1000 y 1500 ppm.</p> <p>Calcular la CL₅₀ <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de corteza de <i>C. strigosa</i> Trécul, hojas de <i>P. aduncum</i> L. y <i>M. alliacea</i> Lam sobre <i>A. franciscana</i>, vía análisis Probit.</p> <p>Cuantificar los parámetros de actividad: porcentaje de inhibición (%inh) y la concentración inhibitoria media (IC₅₀) para actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> de los extractos etanólicos de corteza de <i>C. strigosa</i> Trécul, hojas de <i>P. aduncum</i> L. y <i>M. alliacea</i> Lam sobre eritrocitos plasmáticos.</p> | <p>Los extractos de corteza de <i>C. strigosa</i> Trécul (cetico), hojas de <i>P. aduncum</i> L. (matico) y <i>M. alliacea</i> Lam (ajos sacha) no presentan toxicidad aguda <i>in vitro</i> frente a nauplios de <i>Artemia franciscana</i> ni actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> sobre eritrocitos plasmáticos.</p> | <p>Experimental: donde los grupos experimentales se manejaron de forma que permitieron estudiar el comportamiento de las variables.</p> <p>Tipo de estudio Prospectivo, porque la información fue registrada en la medida que los datos de las variables de estudio se recolectaron.</p> | <p>Corteza de <i>C. strigosa</i> Trécul (cetico), hojas de <i>P. aduncum</i> L. (matico) y <i>M. alliacea</i> Lam (ajos sacha), procesamiento de datos en el software de SPSS v. 25</p> | <p>Hoja de reporte analítico</p> |

ANEXO 2: Variables y su Operacionalización

| Variable Independiente | Definición conceptual | Definición operacional | Indicador | Índice | Instrumento |
|---|--|---|--------------------------------------|--|---------------------------|
| Extracto alcohólico e hidro alcohólico | EA: solución creada al macerar o filtrar material vegetal deshidratado en presencia de alcohol etílico y luego eliminar físicamente el solvente. EHA: solución elaborada a partir de material vegetal deshidratada que se obtiene por maceración en etanol y agua, posterior eliminación física del disolvente. | Material vegetal seco que ha sido micropulverizado y mezclado con etanol y agua (7:3), luego se macera durante siete días, se filtra, se concentra en rota vapor, se seca en estufa a 40 °C y luego se coloca en el refrigerador. - | [] de extracto | Presenta actividad No presenta actividad | Hoja de reporte analítico |
| Toxicidad aguda in vitro sobre Artemia franciscana | Efecto desfavorable (letal) en organismos de prueba por un período de exposición a una determinada sustancia, normalmente unos pocos días. | Se pipetea 25 nauplios, los mismos que se colocan en tubos de ensayo que contienen el extracto a evaluar durante 24 horas. Después, el contenido de todos los tubos se transfiere (uno a la vez) a una placa de cultivo de tejidos de 12 pozos. Los nauplios son contados con un equipo de video de alta definición a fin de registrar el número de nauplios vivos y muertos. | CL50 | Tóxico: 1 – 1000 µg/mL. No tóxico: >1000 µg/mL. | |
| Actividad antiinflamatoria in vitro sobre eritrocitos plasmáticos | Ensayo que permite evaluar un tratamiento en términos de % de inhibición e IC50. | Mezcla que contiene 0,5 mL del extracto a evaluar, 1 mL de buffer fosfato (0,15 M pH=7,4), 2 mL de solución hiposalina (0,36%) y 0,5 mL de una suspensión de glóbulos rojos; posterior incubación a T° ambiente y centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos. La hemoglobina contenida en la solución sobrenadante debe medirse en UV-Visible a 540 nm. | Porcentaje de inhibición IC50 | % mg/mL | |

ANEXO 3: Constancia de las especies vegetales



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 029-2023 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, las muestras botánicas presentadas por EVA MARIA RIOS MACEDO Y DORIS ELENA LOPEZ ALAMA estudiantes de la **Maestría en Salud Pública** de la **Escuela de Post Grado "José Torres Vásquez"** de la **Universidad Nacional de la Amazonía Peruana** pertenece al proyecto de tesis titulado **"TOXICIDAD AGUDA *in vitro* FRENTE A NAUPLIOS DE *Artemia franciscana* Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *in vitro* DE TRES ESPECIES VEGETALES AMAZÓNICAS SOBRE ERITROCITOS PLASMÁTICOS."**; han sido **DETERMINADAS** en este centro de investigación y enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ-CIRNA-UNAP** como se indica a continuación:

| Nº | FAMILIA | ESPECIE | AUTOR | NOMBRE COMÚN |
|----|--------------|--------------------------|--------------------|--------------|
| 01 | URTICACEAE | <i>Cecropia strigosa</i> | Trécul | "cetico" |
| 02 | PIPERACEAE | <i>Piper aduncum</i> | L. | "matico" |
| 03 | BIGNONIACEAE | <i>Mansoa alliacea</i> | (Lam.) A.H. Gentry | "ajos sachá" |

Determinador: Ing. Juan Celidonio Ruiz Macedo

A los seis 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 4: 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 LARVAS INYECTADAS

| Muestra | Extracto de: | | | | Control (-) | | Control (+) | |
|--------------|--------------|---------|----------|----------|-------------|--|---|--|
| [c] | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | | S6 | |
| repeticiones | 10 ppm | 100 ppm | 1000 ppm | 1500 ppm | Sol. IO 3% | | 400 ppm K ₂ Cr ₂ O ₇ | |
| 1° replica | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | | A6 | |
| 2° replica | B1 | B2 | B3 | B4 | B5 | | B6 | |

CONTEO DE LARVAS VIVAS Y MUERTAS DE *A. 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 ₂ Cr ₂ O ₇ | 1° repeticiónA5 2° repeticiónB5 3° repeticiónC5 Total | | | | |

ANEXO 5: Formato de consentimiento informado

| | |
|---|----------------|
| CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EXTRACCIÓN DE SANGRE | ELB_001 |
| | VER: 01/7/2021 |
| | PAG: 1/2 |

HOJA DE INFORMACIÓN

Este documento sirve para que el donante autorice la extracción de sangre, muestra que será utilizada ÚNICAMENTE con fines académicos, para la tesis TOXICIDAD AGUDA *in vitro* FRENTE A NAUPLIOS DE *Artemia franciscana* Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *in vitro* DE TRES ESPECIES VEGETALES AMAZONICAS SOBRE ERITROCITOS PLASMATICOS.

La venopunción es la técnica por lo cual se perfora una vena por vía transcutánea con una aguja o catéter; el objetivo de este procedimiento es la extracción de sangre para su posterior análisis.

El protocolo de recolección de muestra de sangre se lo realiza en una vena visible o palpable en la región del antebrazo, procediendo a la extracción de la sangre con debidas medidas de asepsia y antisepsia.

En algunas ocasiones se pueden producir algunos riesgos con este procedimiento como son:

- Un ligero sangrado, será necesario esperar a que cese.
- Aparición de un ligero hematoma (acumulación de sangre debajo de la piel), lo que comúnmente se denomina "morado", el mismo que se resolverá sin tratamiento a cabo de algunos días.
- Riesgo leve de infección.
- En casos difíciles de extracción de sangre serán necesarias otras punciones adicionales.
- La cantidad total de sangre que se extraiga estará a criterio del investigador responsable.

| | |
|---|----------------|
| CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EXTRACCIÓN DE SANGRE | ELB_001 |
| | VER. 01 / 2021 |
| | PAG. 2 / 2 |

Certificado de consentimiento

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA

Fecha:de.....20.....

Investigador responsable:

Nombre del donante:

Se me ha solicitado dar mi consentimiento para que me realicen la extracción de sangre. Reconozco que me han INFORMADO de manera amplia, precisa, clara y sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre.

Por lo anterior declaro que he comprendido las explicaciones, me han sido aclaradas todas mis dudas y estoy satisfecho con la información recibida. Conozco el alcance de los riesgos. Firmo este consentimiento, por mi libre voluntad, sin haber estado sujeto a ningún tipo de presión. AUTORIZO a la persona encargada la toma de la muestra.

Firma del donante

Firma del Investigador

.....

.....

ANEXO 6: Estadística inferencial

TOXICIDAD AGUDA

Tabla N° 4. Prueba de normalidad - % de mortalidad de nauplios

| Muestras | Shapiro-Wilk | | |
|--|--------------|----|-------|
| | Estadístico | Gl | Sig. |
| <i>C. strigosa</i> Trécul - corteza | 0,811 | 4 | 0,123 |
| <i>P. aduncum</i> L. – hojas | 0,854 | 4 | 0,239 |
| <i>M. alliacea</i> Lam – hojas | 0,901 | 4 | 0,436 |

Después de comparar los valores de significancia, donde en todos los casos es mayor que el valor de $\alpha = 0,05$ (5%), la tabla N° 4 demuestra que todas las muestras presentan normalidad.

Tabla N° 5. ANOVA - % de mortalidad de nauplios

| | Suma de cuadrados | Gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------|----|---------------------|-------|-------|
| Entre grupos | 76,642 | 2 | 38,321 | 0,323 | 0,732 |
| Dentro de grupos | 1069,133 | 9 | 118,793 | | |
| Total | 1145,775 | 11 | | | |

Fuente: Elaboración propia

La tabla N° 5, muestra que sig.=0,732 siendo mayor al valor $\alpha=0,05$, el % de mortalidad de nauplios no presenta diferencia estadísticamente significativa.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Tabla N° 6. Prueba de normalidad - % de inhibición

| Muestras | Shapiro-Wilk | | |
|--|--------------|----|-------|
| | Estadístico | Gl | Sig. |
| <i>C. strigosa</i> Trécul - corteza | 0,843 | 4 | 0,205 |
| <i>P. aduncum</i> L. - hojas | 0,964 | 4 | 0,805 |
| <i>M. alliacea</i> Lam - hojas | 0,941 | 4 | 0,661 |

Después de comparar los valores de significancia, donde en todos los casos es mayor que el valor de $\alpha = 0,05$ (5%), la tabla N° 6 demuestra que todas las muestras presentan normalidad.

Tabla N° 7. ANOVA - % de inhibición

| | Suma de cuadrados | Gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|------------------|----------------------|----|---------------------|-------|-------|
| Entre grupos | 107,388 | 2 | 53,694 | 1,027 | 0,397 |
| Dentro de grupos | 470,691 | 9 | 52,299 | | |
| Total | 578,079 | 11 | | | |

La tabla N° 7, muestra que sig.=0,397 siendo mayor al valor $\alpha=0,05$, el % de mortalidad de nauplios no presenta diferencia estadísticamente significativa.