



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Evaluación de la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana* L. "Cardo Santo"

Presentado por:

JURADO ANICAMA, YAMPIER JESUS

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **19%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 27 de Mayo de 2024

.....
Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Evaluación de la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad
aguda del extracto etanólico de
la especie *Argemone mexicana* L. "Cardo Santo"

Línea de investigación:
Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

Autor:
Bach. JURADO ANICAMA YAMPIER JESÚS

Ica, Perú

2024

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por guiarme en cada trayecto de mi vida, por concederme en realizar esta tesis, brindándome la fortaleza y perseverancia para poder concretar uno de mis sueños.

A mi familia fuente de apoyo emocional constante durante toda mi vida y más aún en momentos en que perdía la fe, a mi padre y hermano por los valores y principios inculcados que hoy rigen mi vida, a mi madre por su infinita comprensión, apoyo, amor y por creer en mí.

Bach. Yampier Jesús Jurado Anicama

AGRADECIMIENTO

A mis queridas asesoras:

Dra. Santos Haydee Chávez Orellana, Dra. Carmela Betty Ferreyra Paredes, por compartir sus orientaciones, conocimientos, brindándome motivación y confianza en la realización de esta tesis.

A mi querida:

Asociación Científica de Investigación Farmacéutica, por inculcarme sus conocimientos y por su gran apoyo en mi formación como profesional.

A cada una de las personas por el apoyo brindado en las distintas etapas de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Portada	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice	iv
- Índice de contenidos	iv
- Índice de tablas	v
- Índice de figuras	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
I. Introducción	09
1.1. Descripción de la realidad problemática	
1.2. Antecedentes	
1.3. Objetivos del estudio	
1.4. Justificación	
II. Estrategia metodológica	16
2.1. Tipo y diseño de Investigación	
2.2. Población y muestra	
2.3. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos	
2.4. Técnicas de procesamiento de la información	
2.5. Aspectos éticos	
III. Resultados	25
IV. Discusión	30
V. Conclusiones	33
VI. Recomendaciones	34
VII. Referencias bibliográficas	35
VIII. Anexos	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Diseño de los grupos experimentales en el método del Edema plantar inducido por carragenina.	19
Tabla 2: Diseño de los grupos experimentales en el método del Plato caliente (Hot plate).	20
Tabla 3: Diseño de los grupos experimentales en el método inducción de contorsiones por ácido acético.	21
Tabla 4: Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de <i>Argemone mexicana L.</i> “Cardo Santo”.	25
Tabla 5: Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del tallo, hoja y flor de <i>Argemone mexicana L.</i> “Cardo Santo” por el método del Edema plantar inducido por carragenina.	26
Tabla 6: Actividad analgésica del extracto etanólico del tallo, hoja y flor de <i>Argemone mexicana L.</i> “Cardo Santo” por el método del Plato caliente (Hot plate).	27
Tabla 7: Actividad analgésica del extracto etanólico del tallo, hoja y flor de <i>Argemone mexicana L.</i> “Cardo Santo” por el método Inducción de contorsiones por ácido acético.	28
Tabla 8: Evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico del tallo, hoja y flor de <i>Argemone mexicana L.</i> “Cardo Santo”.	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Comparación del efecto antiinflamatorio por el método del Edema plantar inducido por carragenina obtenidas por los grupos de tratamiento.	26
Figura 2: Comparación del efecto analgésico por el método del Plato caliente (Hot plate) obtenidas por los grupos de tratamiento.	27
Figura 3: Comparación del efecto analgésico por el método Inducción de contorsiones por ácido acético obtenidas por los grupos de tratamiento.	28
Figura 4: Hábitat de la especie <i>Argemone mexicana L.</i>	44
Figura 5: Secado del tallo, hoja y flor de la especie <i>Argemone mexicana L.</i>	44
Figura 6: Macerado del tallo, hoja y flor de la especie <i>Argemone mexicana L.</i>	45
Figura 7: Preparación del extracto etanólico de la especie <i>Argemone mexicana L.</i>	45
Figura 8: Fraccionamiento del extracto etanólico de la especie <i>Argemone mexicana L.</i>	46
Figura 9: Reacciones de coloración y/o identificación (<i>tamizaje fitoquímico</i>)	46
Figura 10: Administración vía oral del extracto etanólico de la especie <i>Argemone mexicana L.</i>	47
Figura 11: Administración de carragenina λ tipo IV al 1% p/v en solución salina.	47
Figura 12: Administración de ácido acético 2% diluido en solución salina.	47

RESUMEN

Introducción: La especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”, usada popularmente para tratar dolores de estómago, fue recolectada en la provincia de Víctor Fajardo, Departamento de Ayacucho. El **objetivo** del estudio fue evaluar la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie mediante modelos experimentales “in vivo” en ratones albinos. **Material y métodos:** Para la identificación de metabolitos secundarios se utilizó el método de Screening fitoquímico. La actividad antiinflamatoria se evaluó por el método del Edema plantar inducido por carragenina, utilizándose diclofenaco como droga patrón. La actividad analgésica se evaluó mediante dos métodos: el método del plato caliente y el método de inducción de contorsiones por ácido acético, los fármacos de referencia fueron Tramadol (50 mg/Kg) y Ácido acetilsalicílico (50 mg/Kg) respectivamente. Para ambas actividades las dosis usadas fueron de 250, 500 y 750 mg/Kg. Se estimó la toxicidad aguda por el método de las clases, en ratones albinos, utilizando una dosis de 2000 mg/Kg. **Resultados:** En el extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” se identificaron los metabolitos secundarios: flavonoides, grupos aminos libres, grupo fenólicos libres, triterpenoides y/o esteroides, antraquinonas, alcaloides, leucoantocianidinas. El efecto antiinflamatorio resultó cercano al fármaco de referencia (76,49% / 82,43%) a dosis de 750 mg/Kg. Se evidenció un efecto analgésico periférico superior al fármaco AAS a dosis de 500 mg/Kg, mientras que en el modelo del palto caliente el efecto analgésico fue leve. El extracto etanólico no mostró toxicidad a dosis de 2000 mg/Kg. **Conclusiones:** El extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” presenta actividad antiinflamatoria, analgesia periférica y está exento de toxicidad a las dosis y modelos ensayados.

Palabras clave: antiinflamatorio, diclofenaco, toxicidad, *Argemone mexicana L.*

ABSTRACT

Introduction: The species *Argemone mexicana L.* "Cardo Santo" popularly used to treat stomach pains, was collected in the province of Victor Fajardo, Department of Ayacucho. The **objective** of the study was to evaluate the anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of the ethanolic extract of the species by means of "in vivo" experimental models in albino mice. **Material and methods:** To identify secondary metabolites was used the phytochemical screening method. The anti-inflammatory activity was evaluated by the carrageenan-induced plantar edema method, using diclofenac as the standard drug. The analgesic activity was evaluated by two methods: the hot plate method and the acetic acid contortion induction method, the reference drugs were Tramadol (50 mg/Kg) and Acetylsalicylic acid (50 mg/Kg) respectively. For both activities the doses used were 250, 500 and 750 mg/Kg. Acute toxicity was estimated by the class method, in albino mice, using a dose of 2000 mg/Kg. **Results:** In the ethanolic extract of the species *Argemone mexicana L.* "Cardo Santo", secondary metabolites were identified: flavonoids, free amino groups, free phenolic groups, triterpenoids and/or steroids, anthraquinones, alkaloids, leucoanthocyanidins. The anti-inflammatory effect was close to the reference drug (76.49% / 82.43%) at a dose of 750 mg/Kg. Was evidenced a peripheral analgesic effect superior the AAS drug a dose of 500 mg/Kg, while in the hot plate model the analgesic effect was mild. The ethanolic extract showed no toxicity at doses of 2000 mg/Kg. **Conclusions:** The ethanolic extract of the species *Argemone mexicana L.* "Cardo Santo" shows anti-inflammatory activity, peripheral analgesia and is free of toxicity at the tested doses and models.

Keywords: anti-inflammatory, diclofenac, toxicity, *Argemone mexicana L.*

I. INTRODUCCIÓN

Está comprobado que las plantas forman parte primordial en la alimentación y tratamiento de enfermedades del hombre. El conocimiento empírico sobre las plantas medicinales, siempre se mantuvo de la mano con su propia evolución, cumpliendo un gran valor en el tratamiento de las enfermedades, incrementándose así el interés del público en las terapias naturales en países industrializados y volviéndose una alternativa en la fitoterapia y fitomedicina. En el siglo XX el uso de los medicamentos sintéticos llega a su cúspide, sobre todo en las grandes urbes, marginando a la medicina tradicional a las poblaciones rurales alejadas y de difícil acceso, manteniéndose vigente y que siempre tuvieron a los productos naturales como su mejor aliado (1).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la fitoterapia como la "Ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal, con fines terapéuticos, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico". Mientras que la fitomedicina involucra una transformación de la planta medicinal en medicamentos, previamente sometidos a ensayos clínicos, ya que la indicación para el empleo de una planta medicinal deberá regirse en tres fundamentos principales: eficacia, calidad y seguridad (1, 2).

La UNESCO considera al Perú un país muy singular. Dado que Perú alberga el 15% de la flora mundial, se han descrito más de 220.000 especies. Los seres humanos utilizan un número cada vez mayor de plantas como alimento o medicina, que han sido útiles desde la antigüedad. Más del 80% de todas las especies de plantas de la tierra no han sido investigadas científicamente con fines medicinales. En Perú sólo el 50% de las plantas han sido estudiadas, 1.408 especies, son consideradas medicinales. (3) Investigaciones realizadas en el territorio nacional establecieron que gran parte de nuestros conciudadanos ha hecho uso o tiene conocimiento de la fitoterapia como alternativas farmacológicas. También se encontró que las hierbas son las plantas más utilizadas con fines medicinales (80%), seguida de los arbustos con un 12,9%. (4)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la mejor fuente de medicamentos son las plantas medicinales. Se dice que alrededor del 80% de la población mundial utiliza medicinas complementarias, la mayoría de las cuales derivan de plantas. En este sentido, la fitoterapia es una herramienta eficaz para ayudar a tratar los procesos inflamatorios. El auge de la fitoterapia se ha visto favorecido por la seguridad que ofrece la medicina natural a la población, ya que cuenta con una gama de remedios más amplia que la medicina tradicional y presenta un menor riesgo de efectos secundarios. A medida que las reacciones adversas aumentan en todo el mundo, es necesario explorar nuevas terapias para abordar este problema que amenaza la salud mundial (2) La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor afirma que es "una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con un daño tisular real o potencial" (3), siendo una respuesta a los

mediadores inflamatorios como la serotonina, histamina, interleucinas, prostaglandinas y otros sistemas de regulación (5), iniciándose con la activación y sensibilización periférica, donde tiene lugar la transducción por la cual un estímulo nociceptivo se transforma en impulso eléctrico, para aliviarlo se usan ciertos analgésicos centrales y antiinflamatorios no esteroideos (AINE). La inflamación es una respuesta del tejido a una lesión y tiene como objetivo eliminar sustancias nocivas. Si bien esta es una respuesta útil, puede ser perjudicial para el cuerpo en las condiciones incorrectas. Entre las enfermedades asociadas a procesos inflamatorios se encuentran la artritis reumatoide, la aterosclerosis, la fibrosis pulmonar, entre otras. La especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”, es utilizada en medicina popular, en afecciones inflamatorias, curación de heridas, tratamiento de diarrea, etc. (6)

Actualmente, el uso de las plantas medicinales es bastante extenso y existe un gran interés por realizar investigaciones sobre nuevas formas terapéuticas para prevenir o combatir muchas enfermedades. La OMS reconoce la importancia de los tratamientos tradicionales y su importancia en el ámbito mundial, tal es así que ha instalado una oficina de medicinas tradicionales con la finalidad de realizar la reglamentación y su respectivo seguimiento en todos los países. Por este motivo existe la necesidad de colocar toda información explícita para que los consumidores puedan tener acceso a productos mucho más eficaces, seguros y de buena calidad. La estrategia implementada por la OMS sobre la medicina tradicional, es contribuir con las autoridades de salud pública encargadas de encontrar soluciones en base a datos fiables que incentiven el mejoramiento de la salud. (7)

Por este motivo nace el interés de contribuir en el incremento del conocimiento sobre el tratamiento de la inflamación, del dolor agudo planteándonos como objetivo realizar un análisis fitoquímico e identificar metabolitos secundarios; evaluar la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”.

1.1 Descripción de la realidad problemática

Según la OMS reconoce que las enfermedades inflamatorias son la causa más importante de muerte en el mundo actual, más del 50% de todas las muertes son atribuibles a enfermedades relacionadas con la inflamación (artritis reumatoide, la fibrosis pulmonar, la aterosclerosis, etc.), lo que ha devenido en un uso inapropiado de AINE, de acuerdo a estudios estadísticos la OMS estima que más del 50% de personas adultas a nivel mundial hacen mal uso de los medicamentos por una prescripción propia, dispensación y expendio inadecuado; el 50% los consumen de manera errónea. En el Perú se ha incrementado el consumo de AINE, más del 40% de personas que consumen AINE, sufren signos y síntomas en el aparato digestivo. (8,9) El uso irracional de medicamentos que calman el dolor, inflamación, es considerado como la principal dificultad para llevar a cabo una terapia con éxito en la erradicación de la misma. Por lo que este trabajo pretende proporcionar a la población tratamientos eficaces y seguros, entre las cuales los extractos vegetales están posicionándose para cumplir este papel. A lo largo de los años se han publicado un sin número de trabajos que ponen de manifiesto la gran efectividad de algunas especies en el tratamiento de la inflamación y el dolor.

Habitantes del departamento de Ayacucho en la provincia Víctor Fajardo refieren que Cardo santo les ayuda a aliviar las molestias del trabajo de campo. Se consume como infusión de toda la planta y en forma de cataplasma.

Los lugareños aún desconocen sus diversas propiedades medicinales, por lo que es necesario aportar conocimientos científicos al respecto examinando la composición química, las propiedades antiinflamatorias y analgésicas contenidas en los tallos, hojas y flores de *Argemone mexicana* L. (10)

1.2 Antecedentes

1.2.1 Antecedentes Internacionales

Elizondo-Luevano JH et al., (2020) (11) en su investigación “Efecto in vitro del extracto metanólico de *Argemone mexicana* contra *Trichomonas vaginalis*” se plantearon como objetivo evaluar la potencial actividad biológica de la especie medicinal *Argemone mexicana* sobre *Trichomonas vaginalis*, a partir de los extractos metanólicos de tallos y hojas, así como de diversas fracciones usando solventes de diferente polaridad. Se identificaron metabolitos secundarios como, triterpenos, esteroides, flavonoides, alcaloides y quinonas, Los extractos tanto de los tallos como de las hojas de *Argemone mexicana* inhibieron el crecimiento de *Trichomonas vaginalis* con un valor de concentración inhibitoria media de 70,6 y 67,2 µg/ml, respectivamente. De las fracciones activas se obtuvieron como productos mayoritarios berberina y la jatrorrizhina, con presunta actividad antiparasitaria.

Elizondo-Luevano JH et al., (2018) (12) en su “Estudio in vitro de la actividad antiamebiana de extractos metanólicos de *Argemone mexicana* sobre trofozoítos de *Entamoeba histolytica* cepa HM1-IMSS”, llevaron a cabo un fraccionamiento diferencial con solventes de diferente polaridad. El extracto metanólico fue analizado mediante técnicas de cromatografía líquida (HPLC) y espectrometría de masas (MS), el cual presentó actividad inhibidora del crecimiento de *Entamoeba histolytica*, con un $IC_{50} = 78.39 \mu\text{g/mL}$. Berberina y jatrorrhizina forman parte de las fracciones activas a los cuales se podría atribuir la actividad antiparasitaria. Los resultados validan el uso tradicional como amebicida de *Argemone mexicana* sobre *Entamoeba histolytica*.

1.2.2 Antecedentes Nacionales

Ruiz-Barrueto MA, (2019) (13) en su trabajo de tesis: “Caracterización fitoquímica y efecto antibacteriano in vitro de *Argemone mexicana* L. contra bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido”, evalúa la actividad antibacteriana in vitro de un extracto alcohólico acuoso de *Argemone mexicana* L. “cardo santo” sobre el crecimiento de cepas gram positivas y gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* que producen betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Se empleó la técnica de maceración para obtener el extracto usando como solvente una solución hidroalcohólica. Los ensayos para evaluar la capacidad antibacteriana se realizaron usando concentraciones de 10 a 100 $\mu\text{g/mL}$, mediante el método de difusión en disco. El inóculo se estandarizó espectrofotométricamente a una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Las condiciones de incubación microbiológica se recrearon a 35 °C durante 18 horas en atmósfera aeróbica. Los resultados se expresaron como el diámetro medio (mm) de la zona de inhibición del crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de BLEE. Como control positivo se usó discos de antibióticos de amoxicilina/ácido clavulánico y cefotaxima/ácido clavulánico y como control negativo solución salina fisiológica estéril. Se reportó el efecto antibacteriano de tipo bactericida de las diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Argemone mexicana* L. sobre *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido.

Cieza-Heredia M del R et al., (2019) (14) en su investigación “Actividad antioxidante y citotóxica de los extractos hidroalcohólicos de hojas, tallo y raíz de *Argemone subfusiformis* G.B. Ownbey “Cardo santo”, evaluaron en los extractos hidroalcohólicos las actividades antioxidante y citotóxica de los G.B. Ownbey “Cardo santo”, se cuantificaron compuestos fenólicos totales por el método de Folin-

Ciocalteu y para los flavonoides totales se empleó tricloruro de aluminio. La actividad antioxidante fue evaluada por los métodos de DPPH y ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6 Sulfónico (ABTS+), la actividad citotóxica se evaluó por medio del bioensayo de citotoxicidad en *Artemia salina* (CYTED). Se determinó que el extracto hidroalcohólico de hojas, tallo y raíz presentaron un IC50 de 497.52 ± 1.21 $\mu\text{g/mL}$, 330.48 ± 1.09 $\mu\text{g/mL}$ y 1017.83 ± 3.11 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, para la prueba de ABTS+ presentaron un IC50 de 181.27 ± 0.84 $\mu\text{g/mL}$, 136.70 ± 0.24 $\mu\text{g/mL}$ y 341.60 ± 0.95 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Al finalizar el experimento se determinó que el tallo presenta un mayor efecto antioxidante en comparación con las hojas y raíz; asimismo, los tres órganos mostraron ligera actividad citotóxica.

Leon-Vasquez R., (2018) (15) determinó la “Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos acuoso, alcohólico, y hexánico de *Argemone subfusiformis* “Cardosanto” papaveraceae”, mediante un diseño experimental factorial usando microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*, siendo sometidos a concentraciones medias sucesivas de los extractos. Como resultados se determinó actividad antibacteriana contra Gram positivos en el extracto alcohólico a concentraciones de 100% y 50%, para Gram negativos se dispuso que los extractos alcohólico y hexánico a concentraciones de 25% presentaban actividad antibacteriana, y en *Candida albicans* tanto el extracto alcohólico y el hexánico presentaron eficacia a concentraciones de 25%. En su trabajo se detalla que los extractos alcohólicos a una concentración del 100% son los responsables de inhibir el crecimiento de bacterias Gram negativas, positivas y levaduras. Por tanto, la familia Papaveraceae comprende plantas que tienen importantes aplicaciones microbiológicas y farmacológicas poco aprovechadas.

Montes-Enciso M., (2017) (16) en su investigación “Efecto genotóxico in vitro del látex de plantas medicinales de uso dérmico *Argemone mexicana L.* “cardo santo” y *Taraxacum officinale* “diente de león”, evaluó el daño genotóxico “in vitro”, en el látex de *Argemone mexicana L.* “cardo santo” donde se realizó en electroforesis en gel de agarosa.

Como resultados en *Argemone mexicana L.* “cardo santo” se identificaron alcaloides, compuestos fenólicos y taninos, mientras que en el látex de *Taraxacum officinale* “diente de león” los metabolitos secundarios identificados fueron: compuestos fenólicos y taninos, alcaloides y cardenólidos. El látex de la especie vegetal en concentraciones del 10% al 100%, tiene un potente efecto genotóxico sobre el ADN genómico humano, fragmentándolo en 100%; mientras que el látex de *Taraxacum officinale* “diente de león” a concentraciones de 50% y 100% de látex presentan

fragmentación del ADN en 100%, y las de 10% y 25% fragmentan el ADN genómico humano entre 40% a 95%, siendo esta la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Conclusión: En la presente investigación se determinó que el látex de *Argemone mexicana L.* “cardo santo” y *Taraxacum officinale* “diente de león” es genotóxico.

1.3 Objetivos del estudio

1.3.1 Objetivo General:

- Evaluar la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”.

1.3.2 Objetivos Específicos:

- Identificar los posibles grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”, mediante un tamizaje fitoquímico.
- Determinar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” en ratones Balb/C por el método del edema plantar inducido por carragenina.
- Determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” en ratones Balb/C por el método del plato caliente (Hot plate).
- Determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” en ratones Balb/C por el método inducción de contorsiones por ácido acético.
- Determinar el grado de toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”.

1.4 Justificación

Desde la antigüedad, los habitantes de la sierra, especialmente de los pobladores de la provincia de Víctor Fajardo (Ayacucho-Perú), utilizan la planta “Cardo Santo” como parte de la medicina tradicional por sus propiedades antidiabéticas, cicatrizante de heridas, antihelmíntica, antibacteriana y antifúngica, entre otros (17), también se ha utilizado desde la antigüedad para calmar dolor de estómago, dolor muscular, los dolores reumáticos; sin embargo resultan escasos los estudios relacionados al proceso de inflamación y dolor. Es por ello que el presente estudio se basó en determinar en animales de experimentación si la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” perteneciente a

la familia Papaveraceae presenta actividad antiinflamatoria y analgésica, así como también, algún grado de toxicidad aguda, y así contar con tratamientos alternativos naturales que tengan menos probabilidades de causar efectos secundarios para ayudar a combatir enfermedades y malestares como el dolor, inflamación y de tipo degenerativo que causan sufrimiento en nuestra sociedad, pudiendo ser usada de manera frecuente por personas de escaso nivel económico.

Para un mejor entendimiento la investigación se ha dividido en cinco capítulos debidamente vinculados y ordenados:

En el capítulo I – Introducción, se describe la realidad problemática, se presenta las investigaciones recientes que forman parte de los antecedentes internacionales y nacionales relacionadas con la investigación, se describe la justificación e importancia de su realización, seguidamente se detallan los objetivos.

En el Capítulo II – Estrategia metodológica, que explica el nivel, tipo y variables de la investigación, los materiales biológicos ensayados y los procedimientos experimentales.

En el Capítulo III – Resultados, se muestran los hallazgos del estudio: la determinación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la especie estudiada y los ensayos de la actividad farmacológica y toxicidad aguda.

En el Capítulo IV – Discusión, interpretación de los resultados de la investigación, siguiendo de manera correlativa con los objetivos considerados en el planteamiento del estudio.

En el capítulo V y VI – Conclusiones y Recomendaciones, hace referencia particularmente a los resultados obtenidos durante la investigación y sugerencias en la posibilidad de profundizar el estudio o realizar otras investigaciones que confirmen aún más los resultados.

En el capítulo VII y VIII – Referencias bibliográficas y Anexos, por último se presentan las fuentes de información, que han sido consultados para el desarrollo de la presente investigación, y los anexos que complementan la investigación.

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1. Tipo y diseño de Investigación

2.1.1 Tipo de investigación

El presente trabajo de investigación se considera Aplicada (18)

2.1.2 Diseño de Investigación

Por el diseño, el presente estudio es Experimental, donde se manipula una variable y controla el resto de variables (18)

2.1.3 Variables:

Variable independiente:

Extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”

Variable dependiente:

Actividad antiinflamatoria

Actividad analgésica

Toxicidad aguda

2.2. Población y muestra

2.2.1 Población de estudio

Ratones albinos de la cepa Balb/C/CNPB.

2.2.2 Muestra

Ratones hembras, con peso promedio de 20 a 25 g, procedentes del Instituto Nacional de Salud (INS).

2.3. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos.

2.3.1 Recolección y tratamiento de la muestra vegetal

La especie vegetal *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” fue recolectada en la provincia de Víctor Fajardo Departamento de Ayacucho en el mes de Setiembre.

Este proceso se realizó a tempranas horas de la mañana, seleccionándose los tallos, flores y hojas en perfecto estado, luego la planta fue colocada en recipientes herméticos.

La etapa de secado se realizó en un ambiente ventilado y bajo sombra por un período de 15 días para su posterior estudio.

2.3.2 Obtención del extracto etanólico

El procedimiento para la obtención del extracto etanólico de los tallos, flores y hojas de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” empieza con la extracción de los metabolitos secundarios utilizando el método de maceración, que consiste en poner en contacto directo 3000 g de muestra, con 24 L de Etanol 96° por un tiempo de 2 semanas. Concluida las dos semanas fue filtrado y eliminado el disolvente a vacío,

utilizando un evaporador rotatorio, hasta sequedad del mismo, este extracto seco fue almacenado en un recipiente ámbar para posterior estudio.

2.3.3 Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico o “screening” fitoquímico, es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica donde se realizarán reacciones de coloración y/o precipitación con el objetivo de identificar y/o determinar la presencia de metabolitos secundarios (19).

Se separó una parte correspondiente a la fracción “A”, el residuo se trató con solución diluida de HCl al 1%, luego se filtró obteniéndose dos partes; la parte insoluble que se lavó con agua destilada y se agregó 5 mL de CH₂Cl₂, la cual se filtró y se secó, esta constituye la fracción “B”.

La solución ácida, parte soluble, se neutralizó con hidróxido de amonio para luego verter en una pera de bromo y se extrajo con diclorometano, obteniendo la fase diclorometánica (fracción “C”) y la fase acuosa, esta última se saturó con sulfato de sodio anhidro y se extrajo con mezclas diclorometánica-etanol en una relación de 3:2 obteniendo dos fases, la fase diclorometánica-etanolica (fracción “D”) y por último la fase acuosa remante (fracción “E”).

Al término de este proceso, todas las fracciones fueron secadas para realizar las reacciones de identificación correspondientes a cada una de ellas.

2.3.3.1 Reacciones de identificación

a) Fracción A

- Detección de taninos

Reacción de Gelatina-sal: Se utilizó tres tubos de ensayo (tubo I, II y III) a los cuales se le añadió a cada uno 0,5 mL de extracto disuelto en agua, al tubo I se adiciona 1,0 mL de solución de NaCl 5%, al tubo II 1 mL de gelatina 1% y al tubo III una mezcla de gelatina-sal, si se observa precipitación con este último reactivo o con el II es indicativo de la presencia de taninos, no obstante, podría ser un falso positivo si solamente ocurre con el tubo I.

- Detección de grupos fenólicos libres

Reacción de Cloruro Férrico: Se utilizó un tubo de ensayo al cual se le añadió 0,5 mL del extracto disuelto en etanol y gotas de solución acuosa de FeCl₃ 1%. La reacción es positiva cuando aparecen colores azul-negro o azul verdoso.

- Detección de aminoácidos (aminos libres)

Reacción de Ninhidrina: Se utilizaron dos tiras de papel de filtro, a estas se le colocaron una gota de Fracción A más una gota del reactivo Ninhidrina al 2%, a la segunda (blanco) se le agregó solución etanólica de ninhidrina al 2%. Para obtener

los resultados se procedió a secar las tiras a temperatura ambiente para ver su coloración. Si el papel que contiene el extracto presenta un color azul violáceo, se considera positiva.

- Detección de flavonoides

Reacción de Shinoda: Para esta prueba se utilizó una placa, se añadió 3 gotas de la fracción A más 5 limaduras de Mg y 2 a 3 gotas de HCl concentrado. La reacción es positiva cuando aparecen tonos de color anaranjado a rojo.

b) Fracción B

- Detección de triterpenoides y/o esteroides

Reacción de Liebermann Burchard: Para esta prueba se utilizó 1 mL de la fracción B disuelta en diclorometano, a esta se le añadió anhídrido acético (1 mL) y ácido sulfúrico concentrado (1 mL); para obtener resultados positivos se espera que la reacción tenga color azul verdoso.

- Detección de antraquinonas

Reacción de Borntrager: Para realizar esta prueba se utilizó la fracción B, esta fue disuelta en diclorometano y se agregó 3 mL de NaOH 5%, para obtener resultados positivos se espera que la fase acuosa tenga un color rojo.

c) Fracción C

- Detección de triterpenoides y/o esteroides

Reacción de Liebermann Burchard. Proceder como en la fracción B.

- Detección de alcaloides

Para esta prueba se tomó el restante de la Fracción C, seguidamente se agrega 2 mL de HCl 1%. Para finalizar se realizaron reacciones de Dragendorff, Mayer, Wagner, siendo los resultados positivos si aparece un precipitado de color anaranjado, crema, y marrón respectivamente.

d) Fracción D

- Detección de Flavonoides

Reacción de Shinoda. Proceder como en la fracción A.

- Detección de Leucoantocianidinas y Catequinas

Reacción de Rosenheim: Para esta prueba se tomó 2,0 mL de la Fracción C más 1 mL de HCl concentrado, luego se procedió a calentar por un tiempo 10 minutos a 100 °C, se esperó a que enfrié para agregar 2 mL de agua más 2 mL de alcohol amílico, se considera positiva si toma un color que va desde un rosado débil a carmesí intenso. Si es rojo indica presencia de antocianidinas, si es marrón indica presencia de catequinas.

- Detección de Esteroides y/o Triterpenoides

Reacción de Liebermann-Burchard. Proceder como en la fracción B.

- Detección de alcaloides

Reacción de Dragendorff, Mayer, Wagner. Proceder como en la fracción C.

e) Fracción E

- Detección de Flavonoides

Reacción de Shinoda. Proceder como en la fracción A.

- Detección de Leucoantocianidinas

Reacción de Rosenheim. Proceder como en la fracción D.

2.3.4 Estudio Farmacológico

2.3.4.1 Material biológico

Se utilizaron 25 ratones hembras albinos cepa Balb/C/CNPB, procedentes del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Lima-Chorrillos), los cuales fueron distribuidos al azar en cinco grupos de cinco ratones cada uno, de 20-25g de peso corporal.

Los animales fueron alojados en jaulas metálicas de crianza para su aclimatación la semana previa a los experimentos, con libre acceso a agua y alimento y con ciclos de 12 horas de luz/oscuridad, 24 horas antes de la prueba se mantuvieron en ayuno con agua a libre acceso, media hora antes de la experimentación se agruparon aleatoriamente a los ratones.

2.3.4.2 Actividad antiinflamatoria por el método del Edema plantar inducido por carragenina.

El método del Edema plantar inducido por carragenina (21), es un modelo experimental para evaluar el efecto antiinflamatorio de extractos vegetales en ratones sometidos a una administración de carragenina.

Tabla 1: Diseño de los grupos experimentales en el método del Edema plantar inducido por carragenina.

GRUPO	TRATAMIENTO	Nº	DOSIS
I	Tween 2% (Control negativo)	5	1 mL/100 g
II	Diclofenaco (Control positivo)	5	50mg/Kg
III	Extracto AM	5	250 mg/Kg
IV	Extracto AM	5	500 mg/Kg

V	Extracto AM	5	750 mg/Kg
---	-------------	---	-----------

Los tratamientos se administraron por vía oral con la ayuda de una sonda oral metálica. El extracto etanólico de *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” se suspende en Tween al 2%, 30 minutos después de la administración de los tratamientos se aplicó 0,1 mL de carragenina λ tipo IV al 1% p/v en solución salina en la región plantar de la pata derecha de los ratones, al mismo tiempo se inyecta 0,1 mL de solución salina a la pata izquierda.

Transcurridas 3 horas después de la inducción de inflamación los animales han sido sacrificados por sobredosis de anestésico e inmediatamente las patas son cortadas a la altura del tarso crural y pesadas. La actividad antiinflamatoria fue calculada por comparación de las medias del edema (que se obtiene por diferencia ponderal entre las patas derecha e izquierda) de los grupos tratados frente al grupo control (CYTED) (20), se determinó mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ Actividad antiinflamatoria} = \frac{(Ic) - (It)}{(Ic)} \times 100$$

Siendo:

- Ic = Media del edema o inflamación del grupo control negativo
- It = Media del edema o inflamación de los grupos tratados con diclofenaco o las diferentes dosis del extracto.

2.3.4.3 Actividad analgésica por el método del Plato caliente (Hot plate).

El método del Plato caliente (Hot plate) (23), es un modelo experimental para evaluar el efecto analgésico de extractos vegetales en ratones sometidos a un estímulo térmico.

Tabla 2: Diseño de los grupos experimentales en el método del Plato caliente (Hot plate).

GRUPO	TRATAMIENTO	Nº	DOSIS
I	Tween 2%	5	1 mL/100 g
II	Tramadol	5	50mg/Kg
III	Extracto AM	5	250 mg/Kg

IV	Extracto AM	5	500 mg/Kg
V	Extracto AM	5	750 mg/Kg

Los tratamientos se administraron por vía oral con la ayuda de una sonda oral metálica; 1 hora antes se le administró el vehículo Tween 2% (Grupo I). Transcurridos 30 minutos, los animales se sometieron al estímulo térmico colocándolos en el plato caliente a temperatura de $56^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. El efecto nociceptivo fue observado por el comportamiento de levantar o lamer las patas, el tiempo máximo de contacto del animal con la placa caliente es de 30 segundos para evitar lesiones en las patas. Se determinó el porcentaje de analgesia calculando la media de los tiempos de reacción de los ratones tanto en el grupo que recibe el vehículo, como los grupos tratados con el extracto y fármaco estándar, se determinó mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ de analgesia} = \frac{\text{PROMEDIO (TRt)} - \text{PROMEDIO (TRc)}}{\text{PROMEDIO (TRc)}} \times 100$$

Siendo:

- PROMEDIO (TRt) = Tiempo de reacción (lamidas o saltos) en los grupos tratados con extracto o fármaco estándar.
- PROMEDIO (TRc) = Tiempo de reacción del grupo control.

2.3.4.4 Actividad analgésica por el método inducción de contorsiones por ácido acético.

El método inducción de contorsiones por ácido acético (23), es un modelo experimental para evaluar el efecto analgésico de extractos vegetales en ratones sometidos a una administración de ácido acético.

Tabla 3: Diseño de los grupos experimentales en el método inducción de contorsiones por ácido acético.

GRUPO	TRATAMIENTO	Nº	DOSIS
I	Tween 2%	5	1 mL/100 g
II	AAS	5	50mg/Kg
III	Extracto AM	5	250 mg/Kg

IV	Extracto AM	5	500 mg/Kg
V	Extracto AM	5	750 mg/Kg

Se administraron los tratamientos por vía intraperitoneal. Después de 30 minutos de los tratamientos se inyectó en todos los animales, por vía intraperitoneal, ácido acético 2% diluido en solución salina (0,1 mL/10g). se aisló a cada animal de manera individual para observar el número de retorcimientos, contorsiones abdominales (rotación pélvica seguida de estiramientos de ambas patas traseras) que realiza el animal cada 5 minutos, durante 30 minutos posteriores. Se obtiene la media aritmética para cada grupo determinando el porcentaje de inhibición. Para ello se calcula la diferencia entre el número de contorsiones abdominales obtenido con el grupo que recibe ácido acético y el vehículo (valor 100) con el grupo problema (CYTED) (24) que recibieron los tratamientos, se determinó mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(cc) - (ct)}{(cc)} \times 100$$

Siendo:

- (cc) = Media de las contorsiones del Grupo control.
- (ct) = Media de las contorsiones del Grupo tratado.

2.3.5 Evaluación de la toxicidad aguda oral

La toxicidad se define como la capacidad de una sustancia química exógena de causar daño a un ser. Existen diferentes métodos para medir la toxicidad, entre ellos está el método de clase de toxicidad aguda, validado y aprobado por la Organización Económica para el Comercio y Desarrollo (OECD), donde se aprecia diferentes formas de evaluar la toxicidad (25).

2.3.5.1 Recomendaciones para los ensayos

Se utilizan ratones, hembras de preferencia, las hembras deben ser nulíparas y no embarazadas. Esto se debe a que las hembras son más sensibles, según las encuestas bibliográficas de las pruebas convencionales de LD₅₀.

Deben emplearse animales adultos jóvenes sanos de cepas de laboratorio de uso común. Al comienzo de su dosificación, cada animal debe tener entre 8 y 12 semanas de edad y su peso debe caer en un intervalo dentro del ± 20% del peso medio de cualquier animal previamente dosificado.

El ratón debe tener un hábitat donde la temperatura debe ser de 22 °C (± 3 °C). Aunque

la humedad relativa debe ser al menos del 30% y preferiblemente no exceder el 70%. La iluminación debe ser artificial, la secuencia debe ser 12 horas de luz, 12 horas de oscuridad.

Los animales se seleccionan al azar, se marcan para permitir la identificación individual y se mantienen en jaulas durante al menos 5 días antes de la dosificación para permitir la aclimatación a las condiciones de laboratorio.

Antes de administrar la dosis de la sustancia a ensayar, los animales deben permanecer en ayunas por 12 h.

Asimismo, antes de administrar la dosis se pesan a los animales que estarán distribuidos en un grupo de 3 animales, una vez que se administra la dosis, se observa a los animales con atención principalmente durante las primeras 4 horas, y diariamente por un periodo de 14 días para ver si tiene comportamientos que nos den un indicio de toxicidad. Los animales son pesados en los días 0, 7 y 14. Para concluir que la DL_{50} es superior a la dosis administrada, se tiene que evaluar los signos de toxicidad durante el periodo de observación y los cambios de peso de los animales (25).

La metodología y el diseño experimental que se utilizó corresponden a los principios descritos por la OECD en la Directriz 423 (25).

2.3.5.2 Animales de experimentación

Procedentes del INS “Instituto Nacional de Salud”. Los ratones se alimentaron con una dieta especial para roedores y agua las 24 horas según su necesidad.

Para su identificación se marcaron sus colas con números distintos, con la finalidad de tener un mejor control, después se mantuvieron durante 5 días, antes de ser dosificados, a temperatura ambiente, con la finalidad de aclimatarlos a las condiciones del laboratorio.

2.3.5.3 Prueba límite a 2000 mg/Kg

Se dosificó un animal a la dosis de 2000 mg/Kg luego se observó, cualquier indicio de toxicidad, por un periodo de 4 horas; al no presentar ningún síntoma, se procedió a evaluar la toxicidad aguda oral, administrando 2000 mg/Kg a 2 ratones. El procedimiento para la evaluación de la toxicidad aguda oral implicó lo siguiente:

Se utilizó 3 ratones, antes de administrar la dosis, los animales permanecieron en ayunas por 12 h. Previo a la dosificación se realizó un primer pesaje de los ratones, posterior a ello fueron puestos en observación individualmente para la evaluación de los síntomas tóxicos como posibles cambios de piel, pelo, ojos, y convulsiones, manifestaciones de temblores, salivación, sueño, diarrea, letargo y coma. Después de

la dosificación, los ratones fueron observados durante 4 horas y de forma continua durante 24 horas (especialmente durante los primeros 30 minutos), para un total de 14 días.

Culminado el ensayo, se sacrificó a la especie animal con una sobredosis de anestésico para realizar los análisis macroscópicos de los principales órganos. El procedimiento se repitió al no observar signos clínicos a dosis de 2000mg/Kg.

2.4. Técnicas de procesamiento de la información

Los datos obtenidos han sido procesados en el programa Office 365 (Excel). Los resultados obtenidos de los tres métodos son expresados como media \pm D.E. La comparación entre grupos se analizará estadísticamente por análisis de varianza (ANOVA), con una probabilidad de 5%, de ser necesario se aplicará el pos test de Tuckey.

2.5. Aspectos éticos:

Se tendrá presente la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio. (Guide for the care and use of laboratory animals) (26), esta guía ayuda a instituciones a cuidar y usar animales de manera técnica y humanamente oportuna.

Las instalaciones para el alojamiento de los animales han contado con un espacio apropiado, cerrado, con buena ventilación e iluminación, limpiando y/o cambiando su viruta, entre otros. El alimento y el agua fue proporcionado ad libitum. Se evitará la duplicación innecesaria de experimentos y eutanasia si se anticipa dolor o estrés para ello se empleará un método de eutanasia con pentobarbital sódico a dosis de 100mg/kg según Normas internacionales del cuidado de animales de experimentación.

III. RESULTADOS

3.1. Evaluación fitoquímica cualitativa de *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”

Tabla 4: Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”.

FRACCIÓN	METABOLITOS	RESULTADO
A	Taninos	-
	Aminos libres	+
	Flavonoides	+
	Grupos fenólicos libres	+
B	Triterpenoides y/o esteroides	+
	Antraquinonas	-
C	Triterpenoides y/o esteroides	+
	Alcaloides	+
D	Flavonoides	+
	Leucoantocianidinas y catequinas	+
	Triterpenoides y/o esteroides	+
	Alcaloides	+
E	Flavonoides	+
	Leucoantocianidinas	+

Fuente: Elaboración propia.
(+) Positivo; (-) Negativo.

3.2. Actividad antiinflamatoria

Tabla 5: Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del tallo, hoja y flor de *Argemone mexicana* L. "Cardo Santo" por el método del Edema plantar inducido por carragenina

Grupo Experimental	N	% de actividad antiinflamatoria
Control Negativo	5	-
Control Positivo	5	82,43%
Extracto 250 mg/Kg	5	63,20%
Extracto 500 mg/Kg	5	45,99%
Extracto 750 mg/Kg	5	76,49%

Fuente: Elaboración propia.

El mayor % de actividad antiinflamatoria de los extractos, es de 76,49% a dosis de 750 mg/Kg, siendo el más próximo al control positivo (diclofenaco).

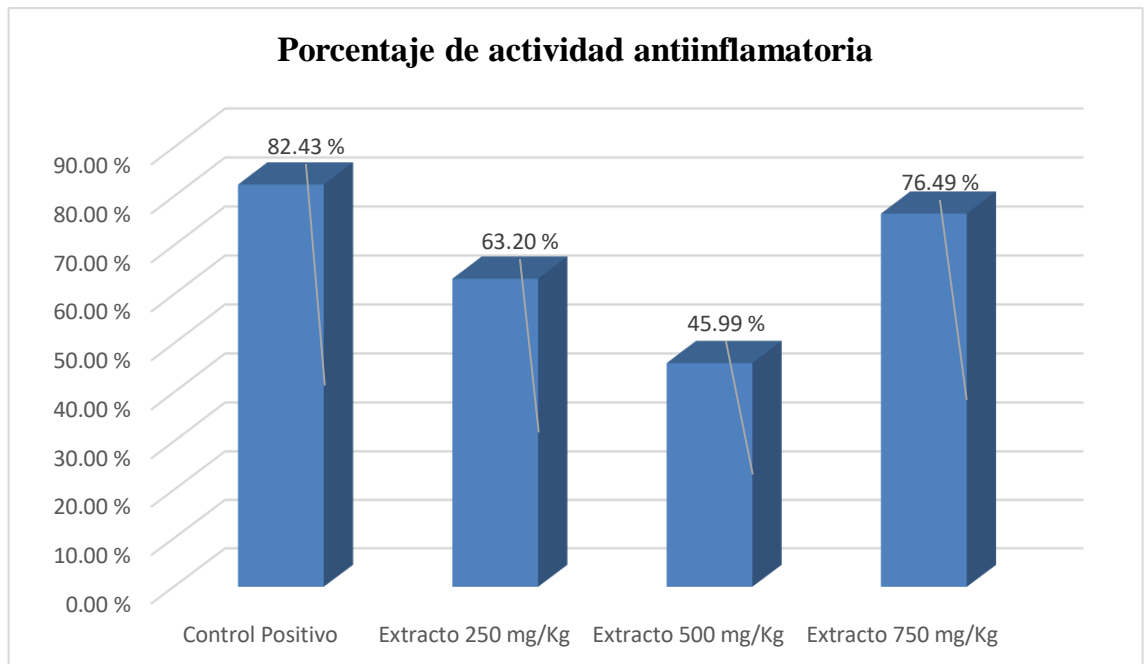


Figura 1: Comparación del efecto antiinflamatorio por el método del Edema plantar inducido por carragenina obtenidas por los grupos de tratamiento.

3.3. Actividad analgésica

Tabla 6: Actividad analgésica del extracto etanólico del tallo, hoja y flor de *Argemone mexicana* L. “Cardo Santo” por el método del Plato caliente (Hot plate)

Grupo Experimental	N	% de analgesia
Control Negativo	5	-
Control Positivo	5	142,50%
Extracto 250 mg/Kg	5	47,75%
Extracto 500 mg/Kg	5	52,25%
Extracto 750 mg/Kg	5	30,50%

Fuente: Elaboración propia.

El mayor % de analgesia es del 52,25% a la dosis de 500 mg/Kg, mientras que el control positivo (tramadol) presentó un porcentaje de analgesia de 142,5%

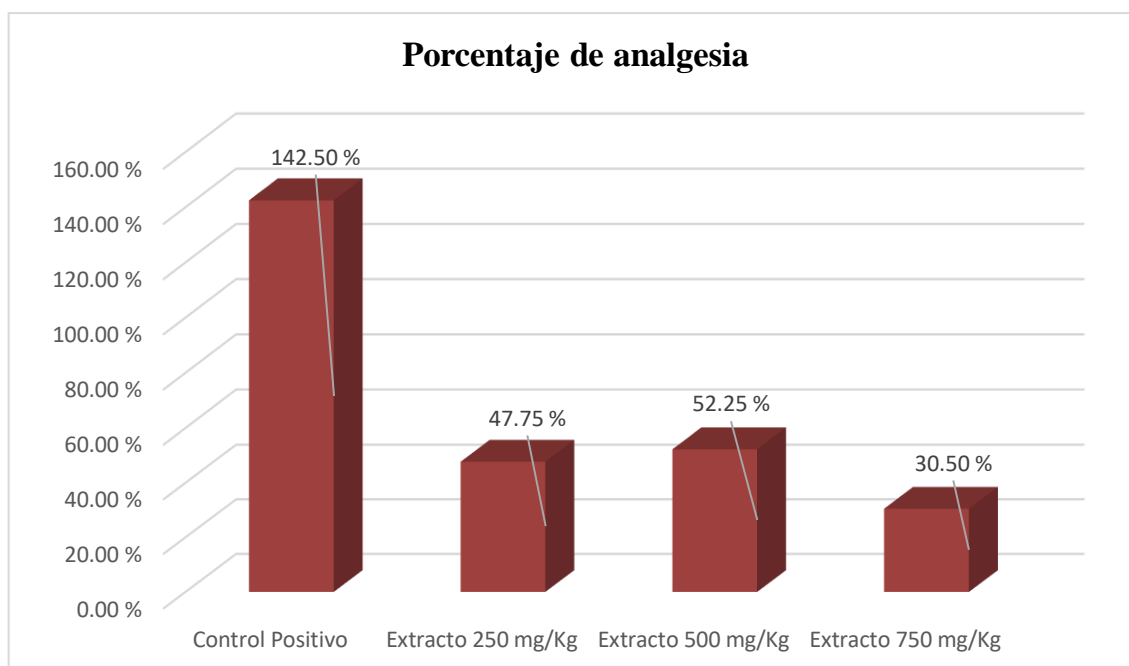


Figura 2: Comparación del efecto analgésico por el método del Plato caliente (Hot plate) obtenidas por los grupos de tratamiento.

Tabla 7: Actividad analgésica del extracto etanólico del tallo, hoja y flor de *Argemone mexicana* L. “Cardo Santo” por el método Inducción de contorsiones por ácido acético

Grupo Experimental	N	% de inhibición
Control Negativo	5	-
Control Positivo	5	96.00%
Extracto 250 mg/Kg	5	56.00%
Extracto 500 mg/Kg	5	100.00%
Extracto 750 mg/Kg	5	40.80%

Fuente: Elaboración propia.

El mayor % de inhibición es de 100,00% a dosis de 500 mg/Kg, siendo mayor al control positivo (AAS).

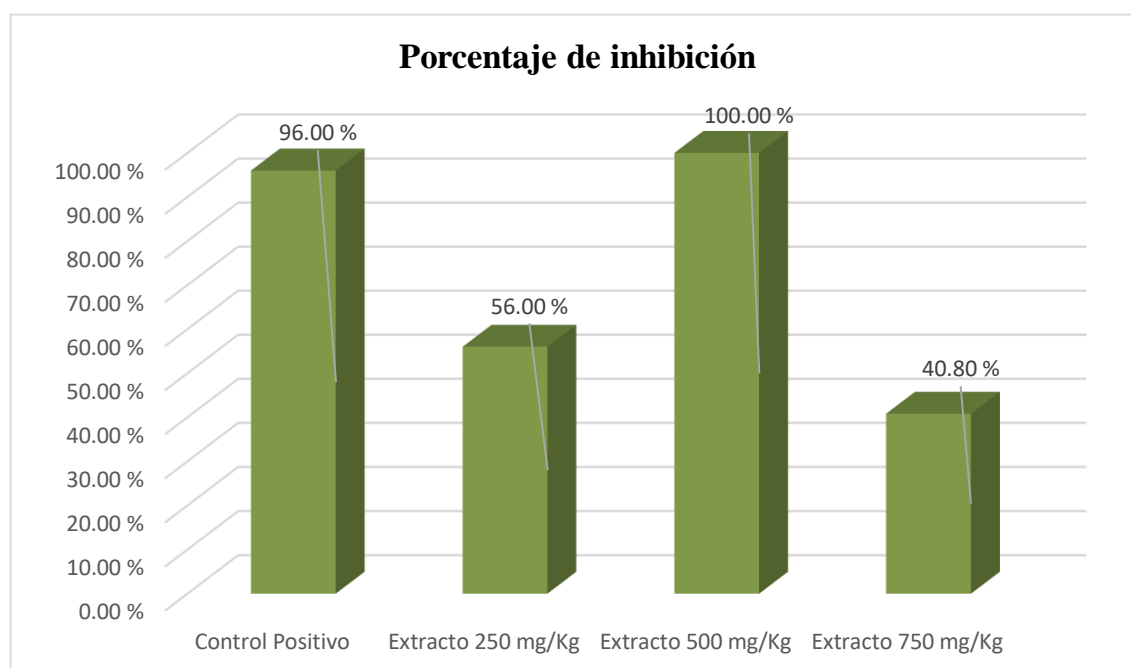


Figura 3: Comparación del efecto analgésico por el método Inducción de contorsiones por ácido acético obtenidas por los grupos de tratamiento.

3.4. Prueba de toxicidad aguda

Tabla 8: Evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico del tallo, hoja y flor de *Argemone mexicana* L. “Cardo Santo”.

Grupo	N	Peso corporal (g)		
		Día 0	Día 7	Día 14
Grupo de prueba limite (2 000 mg/Kg)	3	23	25	26

Fuente: Elaboración propia.

El peso de los ratones aumenta en 1 a 2 g por cada 7 días. No presentaron comportamientos anormales en los 14 días.

IV. DISCUSIÓN

En el extracto etanólico de *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” se identificaron metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, triterpenoides y/o esteroides, leucoantocianidinas. Los cuales coinciden con lo reportado por Mancilla Condor Y. (27), lo que ratifica la presencia de estos metabolitos secundarios en el extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”.

En la evaluación del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” en ratones bajo el método del Edema plantar inducido por carragenina, tal y como se muestra en la Tabla 4, se encontró un mayor porcentaje de actividad antiinflamatoria correspondiente al grupo tratado con el extracto de 750 mg/Kg.

El edema plantar inducido por carragenina es un modelo bien estudiado y reproducible, por lo que a menudo se ha elegido para evaluar la actividad antiinflamatoria aguda de los productos naturales (32). Se sabe que este modelo de edema plantar es sensible con los inhibidores de la COX. Se utiliza para evaluar los efectos de los AINE que actúan principalmente inhibiendo la COX, una enzima implicada en la síntesis de PG. En general, el desarrollo de edema en las patas traseras de ratones después de la administración de carragenina se ha considerado un evento bifásico en el que varios mediadores actúan para inducir esta respuesta inflamatoria (33). La primera fase (0-2 horas después de la administración de carragenina) está relacionada con la liberación de sustancias proinflamatorias alrededor de la lesión tisular, como la histamina, la 5-HT y la bradicinina. La segunda fase (2-4 horas después de la administración de carragenina) se asocia con un aumento en la producción de PG (34), IL-10 y COX, que contribuyen a la inducción de edema después de la movilización de leucocitos (35).

El efecto antiinflamatorio puede explicarse por la presencia de flavonoides, inhibiendo posiblemente la liberación de prostaglandinas, especialmente leucotrienos, mediante la acción de la PGH₂, producida por el ácido araquidónico por acción de la ciclooxigenasa. La acción inflamatoria de la carragenina va acompañada de un aumento de radicales libres como el óxido nítrico, y tanto la ciclooxigenasa y el óxido nítrico trabajan juntos en la respuesta inflamatoria (28).

Las diferentes dosis del extracto muestran un menor efecto antiinflamatorio, (Fig. 1) explicado por los fenómenos de sinergia y polivalencia, ya que los extractos contienen diferentes principios activos con efectos antagónicos o sinérgicos, es decir, existen muchos otros compuestos que pueden estar presentes en la planta y ser activos para un rango de dianas, alterando su farmacocinética o aumentando los síntomas de la enfermedad (29).

En la evaluación del efecto analgésico del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” en ratones bajo el método del Plato caliente (Hot plate), tal como se muestra en la Tabla 5, se encontró un mayor porcentaje de analgesia en el grupo tratado con el extracto de 500 mg/Kg, sin embargo este resultado dista mucho del control positivo, tramadol, indicando una pobre actividad analgésica central. Mientras que en el método inducción de contorsiones por ácido acético, tal como se muestra en la Tabla 6, se encontró un mayor porcentaje de inhibición en el grupo tratado con el extracto de 500 mg/Kg superando en este caso al control positivo (AAS).

El modelo de plato caliente es un modelo sensible y específico para analgésicos potentes, mientras que los analgésicos que actúan periféricamente son inactivos. Este modelo de nocicepción es principalmente un reflejo espinal, que se cree que implica el procesamiento nociceptivo supraespinal y se utiliza a menudo para evaluar la actividad anti nociceptiva central. En la región espinal, los ligandos de cada uno de los tres receptores opioides clásicos (μ , κ y δ) pueden producir un efecto analgésico, en parte al reducir la liberación de neurotransmisores de las terminaciones de las fibras aferentes primarias de la asta dorsal de la médula espinal y, en parte, por una inhibición postsináptica directa de neuronas cerebrales que se activan por estimulación nociva. (36)

El modelo de contorsión abdominal inducido por ácido acético es un modelo de dolor peritoneal visceral inflamatorio para evaluar la actividad anti nociceptiva periférica. Permite detectar la actividad anti nociceptiva de compuestos a bajas concentraciones y que pueden parecer inactivos en otros modelos (37). La administración intraperitoneal de agentes que irritan la membrana serosa provoca un comportamiento estereotipado en los ratones que se manifiesta por contracciones abdominales y movimientos de todo el cuerpo (especialmente de las patas traseras), que incluyen torsión de los músculos dorso-abdominales, reducción de la actividad motora e incoordinación motora.

Se ha sugerido que la administración de ácido acético en la cavidad peritoneal conduce a un incremento de los niveles de COX y LOX e indirectamente conduce a la liberación de mediadores nociceptivos endógenos, tales como PGE₂, PGF_{2 α} , 5HT, sustancia P, citocinas y productos de la LOX. Se conoce el papel de estos mediadores en el proceso de nocicepción, que en última instancia estimulan las fibras aferentes primarias y contribuyen al desarrollo del dolor. (38)

Sin embargo, para lograr mayores resultados se deben evaluar diferentes dosis y otras vías de administración. Existe evidencia que la especie *Argemone mexicana L* presentan compuestos antioxidantes como la sesamina, que inhiben la producción de PGE₂ y citoquinas. Además, se le atribuye la disminución del ácido araquidónico (precursor de eicosanoides proinflamatorios). Por

lo tanto se espera, que las plantas que contienen este compuesto, presenten efecto antiinflamatorio y/o analgésico (30).

Álvarez-Sánchez N. (31), señala que los flavonoides poseen propiedades que inhiben la COX-2 que son enzimas responsables de convertir el ácido araquidónico en prostaglandinas y tromboxanos, controlando la intensidad y duración del dolor, aparición de fiebre y el calor del área afectada. En estudios previos los compuestos flavonoides demostraron tener efecto inhibitorio frente a la liberación de ciertas enzimas responsables del dolor, también se cree que aumentan la resistencia capilar y mejoran la microcirculación. Asimismo, los alcaloides (27) estarían coadyuvando con dicho efecto farmacológico (efecto analgésico), ya que son sustancias que en sus estructuras aparecen grupos amino al igual que los anestésicos locales. Al analizar los resultados de la evaluación fitoquímica, se evidencia de manera cualitativa la presencia de flavonoides y alcaloides (28) los cuales explicarían la actividad antiinflamatoria y analgésica del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo”.

La seguridad del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” se evaluó por el test de toxicidad aguda según el método de las clases tóxicas agudas según la OCDE 423 debido a que se emplea un menor número de animales de experimentación (26). Se evaluó a dosis de 2000 mg/kg, la prueba se realizó en ratones, no se observó mortalidad en ninguna de la dosis probada.

En la investigación publicada por Laines Hidalgo, J. en México (39), concluye mediante un estudio que la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” tiene cierto nivel de toxicidad posee dos importantes alcaloides: la sanguinarina, que se incluye en formulaciones para alimentos de ganado (reses, cerdo, peces y pollo), ya que favorece la conversión del alimento que consumen en proteína, y la berberina, que se usa en el tratamiento de pacientes con diabetes tipo 2, al ser un sensibilizador a la insulina.

Como se puede apreciar de lo anteriormente señalado, la planta en estudio *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” se podría utilizar en medicina natural para aliviar los problemas inflamatorios así como aliviar el dolor, ya que demuestra tener un importante grado de inhibición de la inflamación, dándole un valor agregado científicamente al uso popular de los pobladores en la provincia de Víctor Fajardo Departamento de Ayacucho. Por lo tanto, es importante continuar con las investigaciones lo que permitirá definir el mecanismo de acción del efecto antiinflamatorio y analgésico de la especie *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” y a la vez un mayor reconocimiento del valor de este como recurso clínico, farmacéutico y económico.

V. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” presentó los siguientes grupos de metabolitos secundarios: flavonoides, grupos aminos libres, grupo fenólicos libres, triterpenoides y/o esteroides, antraquinonas, alcaloides, leucoantocianidinas.
2. El extracto etanólico de *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” a dosis de 750 mg/Kg mostró mayor % de actividad antiinflamatoria bajo el método del Edema plantar inducido por carragenina.
3. El extracto etanólico de *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” bajo el método del Plato caliente (Hot plate) mostró mayor porcentaje de analgesia en el grupo tratado a dosis de 500 mg/Kg sin embargo este resultado dista mucho del control positivo (tramadol), indicando una pobre actividad analgésica central.
4. El extracto etanólico de *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” bajo el método Inducción de contorsiones por ácido acético presento un efecto analgésico periférico superior al control positivo (AAS) a dosis de 500 mg/Kg.
5. El extracto etanólico de *Argemone mexicana L.* “Cardo Santo” no presentó toxicidad aguda a dosis de 2000 mg/Kg.

VI. RECOMENDACIONES

1. Aislar, identificar, cuantificar y elucidar los principios activos del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana* L. "Cardo Santo " responsables del efecto antiinflamatorio y analgésico.
2. Realizar extracciones netamente alcaloidal (fracción alcaloidal) del tallo, hoja y flor de *Argemone mexicana* L. "Cardo Santo" y evaluar la actividad antiinflamatoria y analgésica.
3. Continuar la evaluación de la actividad antiinflamatoria por otro método para tener una mejor comprensión del mecanismo de acción del proceso antiinflamatorio de la especie.
4. Continuar la evaluación de la actividad analgésica por otro método para tener una mejor comprensión del mecanismo de acción del proceso de inhibición del dolor.
5. Evaluar la toxicidad subcrónica y crónica para descartar toxicidad a dicha dosis.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Katzung B., Vanderah W., Farmacología Básica y Clínica, 15a ed. México: Mc Graw Hill; 2012.
2. Torres C. V., Castro C. A. (2014). Fitoterapia. Revista de Actualización Clínica, Volumen 42, 2184-2189.
3. Gonzáles P, León B, Cano A, Jørgensen P. Flora vascular y conexiones fitogeográficas de las montañas Carabaya, Perú. Rev. Peru biol [Internet]. 2018 [citado 2019 Oct 24]; 25(3): 191-210. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/15228>.
4. Calixto J. Eficacia, seguridad, control de calidad, comercialización y directrices regulatorias para medicamentos a base de hierbas (agentes fitoterapéuticos). Braz J Med Biol Res [Internet]. 2000 [citado 24 de octubre de 2019]; 33(2): 179-189. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bjmr/a/cdFtQgSkR4tybYxnsLWZ7Nr/?lang=en>.
5. López Forniés A. (2006). Tratado de Geriatria para residentes España: International Marketing & Communication, S.A. (IM&C).
6. Ferrandiz Mach M. (2016). Fisiopatología del dolor. 2009, de Hospital de la Santa Creu I Sant Pau Barcelona [Internet] Disponible en: <http://scartd.org/arxiu/fisiodolor06.pdf>
7. Martínez H. (2016) Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico del látex de *Argemone mexicana* “Cardo santo” (Tesis para optar el Título Profesional). UNMSM, Lima, Perú.
8. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Ginebra, Suiza; 2013. [Internet]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf;jsessionid=4BBC1025DDF5A00918E4F55F29FA0624?sequence=1
9. Marcén B, Sostres C, Lanás J, Sostres MBSC L. AINE y riesgo digestivo. ELSEVIER [Internet]. 2016; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6877894/>
10. Malgor V. Analgésicos antipiréticos y antiinflamatorios no esteroides (AINES) esteroides [internet]; Disponible en: https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/0000cap7_aines.pdf.
11. Polanco CI, Pérez de león VH, caracterización de las especies botánicas, utilizadas popularmente como cardo mariano en Guatemala [tesis en internet] [Guatemala]: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2012 [citado agosto de 2012]. Disponible en: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QB1033.pdf>
12. Elizondo J, Verde J, González A, Castro R, Hernández M, Chávez A. Efecto in vitro del

- extracto metanólico de *Argemone mexicana* contra *Trichomonas vaginalis*. The Korean Journal of Parasitology 2020; 58(2): 135-145. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3347/kjp.2020.58.2.135>.
13. Elizondo J, Castro R, Sánchez E, Hernández M, Vargas J, Rodríguez O. Estudio in vitro de la actividad antiamebiana de extractos metanólicos de *Argemone mexicana* sobre trofozoítos de *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2018; 2018:1–8. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/cjidmm/2018/7453787/>
 14. Ruiz Barrueto M. Caracterización fitoquímica y efecto antibacteriano in vitro de *Argemone mexicana* L. contra bacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido [Tesis Doctoral]. Universidad Nacional de Trujillo; 2019; Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/15309>
 15. Cieza Heredia M del R, Castillo Laborio E. Actividad antioxidante y citotóxica de los extractos hidroalcohólicos de hojas, tallo y raíz de *Argemone subfusiformis* G.B. Ownbey “Cardo santo”. [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019; Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNMS_f93338790362096fb13b0fbb6d96851f
 16. León Vásquez J. Actividad antibacteriana y antifúngica del extracto acuoso, alcohólico, y hexánico de *Argemone subfusiformis* “Cardosanto” papaveraceae. [Tesis]. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2018; Disponible en: <https://repositorio.unsa.edu.pe/items/cb491017-4be3-460a-985a-81c8e597b1a0>
 17. Enciso Montes E. Efecto genotóxico in vitro del látex de plantas medicinales de uso dérmico *Argemone mexicana* L. “cardo santo” y *Taraxacum officinale* “diente de león”. Ayacucho, [Tesis]. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2017; Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNSJ_c1355e5522805316af0fc0626a0071df
 18. Manjamaalai A SStSR, Guruvayoorappan C, Berlin Grace VM. Análisis de componentes fitoquímicos y actividad antimicrobiana de algunas plantas medicinales en Tamil Nadu, India. Global J Biotechnol Biochem 2010;5(2):120-8
 19. Carrasco S. Metodología de la investigación científica. 1ra ed. Perú: Editorial San Marcos. 2005. p 41-45;58-75.
 20. Sierra Sarmiento M., Barros Algarra R., Gómez Paternina D., Mejía Terán A., Suarez Rivero D. Productos Naturales: Metabolitos Secundarios y Aceites Esenciales. Colombia: Entrelibros E-Book Solutions; 2018.
 21. Díaz M. Fisiopatología de la inflamación. Panamá. Universidad Especializada de las Américas; 2016.
 22. Lapa AJ, Monteiro de Lima TC. Métodos Farmacológicos para la validación de plantas medicinales. CYTED: RIVAPLAMED. 2001.

23. Díaz M. Guía para la evaluación de la actividad analgésica de extractos metanólicos de plantas. Panamá; 2016.
24. CYTED. Manual de Técnicas de Investigación. 1995 Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo.
25. Ivami: Instituto Valenciano de Microbiología [Internet]. Valencia: Ivami; [citado 17 dic 2013] Disponible en: <https://www.ivami.com/es/evaluacion-biologica-de-dispositivos-medicos/706-pruebas-de-toxicologia-ea-toxicidad-oral-aguda-oecd-423-2001-epa-oppts-870-1100-1998-directiva-92-69-cee-de-31-de-julio-de-1992-apartado-b-1-acute-oral-toxicity>.
26. National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth ed. Washington DC: National Academy Press; 2011.
27. Mancilla YC, Actividad antioxidante del extracto etanolico de la especie *Argemone mexicana* “cardo santo”.2023. <https://repositorio.unica.edu.pe/items/86e643ff-5fab-4780-97a1-1c0702201114>.
28. Ganong, W. et al. 2006. Fisiología Médica. Manual Moderno, S. A. de C. V de México. Vigésima edición. 791 páginas.
29. Ghosh, S. y Erzumun, S. 2011. Metabolismo del óxido nítrico en la fisiopatología del asma. Revista Bioquímica y Biofísica. Vol. 1810 (11): 1008-1016.
30. Utsunomiya, T., Chavali, S., Zhong, W., Forse, R. 2000. Efectos de las emulsiones grasas dietéticas suplementadas con sesamina sobre la producción ex vivo de prostanoïdes inducidos por lipopolisacáridos y el factor de necrosis tumoral alfa en ratones. Am J Clin Nutr. 72 (3): 804-8.
31. Álvarez N. Efectos saludables de flavonoides. Estudio experimental in vitro e in vivo. [Tesis doctoral] España: Universidad de Murcia;2010. <https://digitum.um.es/digitum/handle/10201/13512>.
32. Gupta, M. et al. 2006. Evaluación Anti Inflamatoria de hojas de Plumeria acuminata. BMC Medicina alternativa y complementaria. Vol. 6 (36):1-6.
33. Singh, S., Majumdar, D. y Rehan, H. 1996. Evaluación del potencial antiinflamatorio del aceite de Ocimum sanctum (Holybasil) y su posible mecanismo de acción. Revista de Etnofarmacología. Vol. 54(1): 19-26.
34. Zhao, J et al 2012 Efectos antinociceptivos y antiinflamatorios del extracto etanolico de Croton crassifolius. Revista de etnofarmacología. Vol 142: 367-373.
35. Chang, CH et al 2012 Actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto metanólico de Cissus repens en ratones. Medicina alternativa y complementaria basada en la evidencia.
36. Ramirez, M. et al. 2010. Estudios preliminares sobre la actividad anti nociceptiva de Vaccinium ashei en modelos animales experimentales. Revista de alimentos medicinales. Vol. 13 (2): 336-342.

37. Mbiancha, M et al 2011. Propiedades analgésicas y antiinflamatorias de extractos de bulbillos de *Dioscorea bulbifera* L var sativa (Dioscoreaceae) en ratones y ratas. *Medicina alternativa y complementaria basada en la evidencia*.
38. Reader, J., Holt, D. y Fulton, A. 2011. Receptores EP de prostaglandina E2 como dianas terapéuticas en el cáncer de mama. *Revisión de metástasis del cáncer*. Vol. 30(0):449-463.
39. Laines, J. Análisis de la síntesis de alcaloides en fruto y semilla de *Argemone mexicana* L. [Tesis Maestría]. Yucatán, México: Centro de investigación científica de Yucatán, A.C.; 2019. Disponible en: https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1507/1/PCB_M_Tesis_2019_Jose_Ignacio_Laines_Hidalgo.pdf.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

Clasificación Taxonómica

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

“AÑO DE LA UNIDAD LA PAZ Y EL DESARROLLO”

El Biólogo, Que suscribe determina que la muestra biológica presentada por el bachiller en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, **JURADO ANICAMA YAMPIER JESÚS** con DNI N° 74051060, para su determinación pertenece al nombre científico de ***Argemone mexicana*** L. “cardo santo”, según Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1988).

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: MAGNOLIIDAE

ORDEN: PAPAVERALES

FAMILIA: PAPAVERACEAE

SUBFAMILIA: PAPAVEROIDEAE

GÉNERO: ***Argemone***

ESPECIE: ***Argemone mexicana*** L.

N.V. “cardo santo/chicalote/adormidera”

Se emite la presente certificación a solicitud del interesado, para fines de estudios

Ica, 26 de junio del 2023.




.....
Dr. Miranda Huaman David Máximo
 BIÓLOGO
CBP. 3681

ANEXO 2

PERMISO DE LABORATORIO



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



CONSTANCIA

LA DIRECTORA ACADÉMICA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA DE
LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA.

HACE CONSTAR QUE LA ESTUDIANTE:

JURADO ANICAMA, Yampier Jesús

Código N.º 20150796

Se le autoriza el uso de las instalaciones de los laboratorios de Química Farmacéutica y Laboratorio de Farmacología I y II, para el desarrollo de su proyecto de tesis, el cual lleva como título Evaluación de la actividad antiinflamatoria, analgésica, y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone Mexicana L.* "Cardo Santo". que aprobado el proyecto deberá presentar un documento con su asesor, indicando los días y horas que hará uso del laboratorio.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Ica, 12 de abril 2024

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
Dirección de Escuela Académica



Dra. ELIZABETH JULIA MELGAR MERINO
DIRECTORA (e)

ANEXO 3

CERTIFICADO SANITARIO DE RATONES



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N°

201-2023

Producto : Ratón albino
Especie : Mus músculus
Cepa : Balb/C/CNPB
Peso : Mayores 20 g.

Lote N° : C-11-2023
Cantidad : 60
Edad : 02 meses
Sexo : hembra

Guía de remisión : 0004-037587

Destino : Jurado Anicama, Jesús

Chorrillos : 27 - 09 - 2023

El Médico Veterinario que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia: PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 27 de setiembre del 2023

(Fecha de emisión del certificado)

NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.



M.V. Arturo Rosales Fernández.
C.M.V.P. 1586

ANEXO 4

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO

Yo, **Chávez Orellana Santos Haydee**, identificada con DNI 2144923, docente principal a dedicación exclusiva de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga", adscrita al Departamento de Química Farmacéutica; como asesora, dejo constancia que el Bachiller Sr. **JURADO ANICAMA, Yampier Jesús**, ha concluido con el desarrollo de su proyecto de tesis titulado: "**Evaluación de la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* "Cardo Santo"**", quedando apto para presentarlo a la Unidad de Investigación de la facultad y continuar con su trámite de aprobación de proyecto.

Ica, 09 de agosto del 2023



Dra. Santos Haydee Chávez Orellana
Prof. Principal C.F.
DNI N° 21449243
ASESOR (A)

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO

Yo, **Ferreyra Paredes Carmela Betty**, docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, adscrita al Departamento Académico de Ciencias Farmacéuticas, dejo constancia que el Trabajo de investigación titulado “**Evaluación de la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.*** “**Cardo Santo**”, realizado por el **Bach. Yampier Jesús JURADO ANICAMA**, ha sido revisado y evaluado, quedando apto para presentarlo a la Unidad de Investigación de la facultad y continuar con el trámite que designe la Comisión de Grados y Títulos.

Ica, 09 de agosto del 2023



Mg. Ferreyra Paredes Carmela Betty
Prof. Principal C.F.
DNI N° 21436257
ASESOR (A)



Figura 4: Hábitat de la especie *Argemone mexicana L.*



Figura 5: Secado del tallo, hoja y flor de la especie *Argemone mexicana L.*



Figura 6: Macerado del tallo, hoja y flor de la especie *Argemone mexicana L.*



Figura 7: Preparación del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.*



Figura 8: Fraccionamiento del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.*



Figura 9: Reacciones de coloración y/o identificación (*tamizaje fitoquímico*)

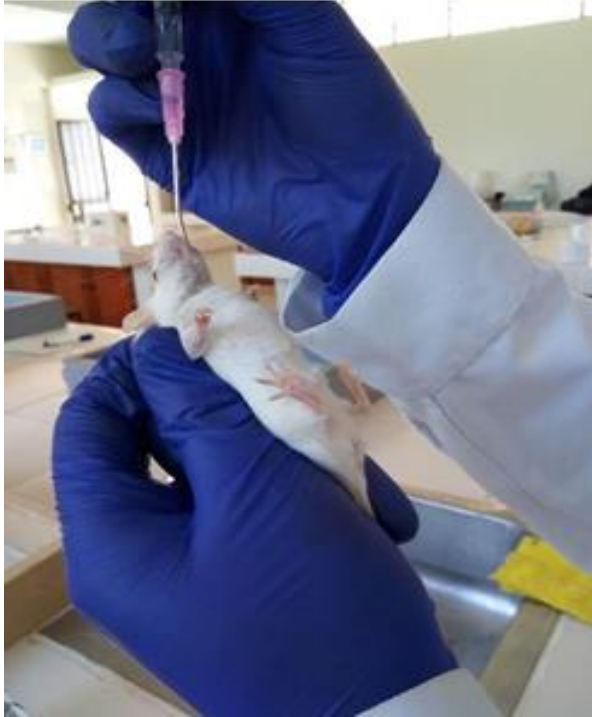


Figura 10: Administración vía oral del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.*



Figura 11: Administración de carragenina λ tipo IV al 1% p/v en solución salina.



Figura 12: Administración de ácido acético 2% diluido en solución salina.



Universidad Nacional "SAN LUIS GONZAGA"
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Comisión de Grados Académicos y Títulos
Profesionales



FORMATO N°06

CARTA DE CONFORMIDAD DEL ASESOR DE TESIS

Ica, 20 de marzo del 2024

Señor(a)

FELIPE ARTEMIO SURCO LAOS

Decano de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad Nacional "San Luis Gonzaga"
Presente.

De mi consideración:

Previo cordial saludo, por intermedio de la presente hago de su conocimiento que, en mi condición de **ASESORA** de la **TESIS** titulada "**Evaluación de la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* "Cardo Santo"** presentada por el asesorado **Bach. Yampier Jesús JURADO ANICAMA** para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico, ésta se encuentra en condiciones aptas para su presentación y sustentación de acuerdo al reglamento vigente, por lo que doy mi **CONFORMIDAD**. Así mismo asumo mi responsabilidad de asesor, indicando que he tenido cuidado de preservar los estándares de calidad correspondientes, de prevenir el plagio y proteger los derechos de autor, de acuerdo al D. L. N. ° 822- Ley sobre el Derecho de Autor. Asimismo, declaro tener conocimiento de los efectos legales y administrativos que se deriven del incumplimiento o falsedad de la presente declaración, previsto en el artículo 411 del Código Penal y del artículo 32.3 de la Ley 27444, Ley de procedimiento Administrativo General.

Lo que informo a Usted para la continuación de los trámites correspondientes.

Ica, 20 de marzo del 2024

Dra. Santos Haydee Chávez Orellana
Asesora

Correo Institucional: haydee.chavez@unica.edu.pe
Celular: 956696923



Universidad Nacional "SAN LUIS GONZAGA"
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Comisión de Grados Académicos y Títulos
Profesionales



FORMATO N°06

CARTA DE CONFORMIDAD DEL ASESOR DE TESIS

Ica, 20 de marzo del 2024

Señor(a)

FELIPE ARTEMIO SURCO LAOS

Decano de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad Nacional "San Luis Gonzaga"
Presente.

De mi consideración:

Previo cordial saludo, por intermedio de la presente hago de su conocimiento, en mi condición de **ASESORA** de la **TESIS** titulada "**Evaluación de la actividad antiinflamatoria, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Argemone mexicana L.* "Cardo Santo"** presentada por el **Bach. Yampier Jesús JURADO ANICAMA** para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico, que ésta se encuentra en condiciones aptas para su presentación y sustentación de acuerdo al reglamento vigente, por lo que doy mi **CONFORMIDAD**. Así mismo asumo mi responsabilidad de asesor, indicando que he tenido cuidado de preservar los estándares de calidad correspondientes, de prevenir el plagio y proteger los derechos de autor, de acuerdo al D. L. N. ° 822- Ley sobre el Derecho de Autor. Asimismo, declaro tener conocimiento de los efectos legales y administrativos que se deriven del incumplimiento o falsedad de la presente declaración, previsto en el artículo 411 del Código Penal y del artículo 32.3 de la Ley 27444, Ley de procedimiento Administrativo General.

Lo que informo a Usted para la continuación de los trámites correspondientes.

Ica, 20 de marzo del 2024

Mg. Ferreyra Paredes Carmela Betty
Asesora

Correo Institucional: cferreyra@unica.edu.pe
Celular: 956770678