



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

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 Analgésica y Citotoxicidad del Extracto Etanólico de Hojas de la especie *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt "Pupa".

Presentado por:

ANICAMA LIZARZABURO, CESAR LEONARDO

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es 11% 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.
Observaciones:

Ica, 07 de Noviembre de 2022


.....
Dra. MARIA GILDA REYES DIAZ
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

RDMG/osad



UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Evaluación de la Actividad Analgésica y Citotoxicidad del Extracto Etanólico de Hojas de la especie *Tristerix chodatianus* (Patsch.) *Kuijt* "Pupa".

Línea de investigación

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

TESIS

AUTOR:

ANICAMA LIZARZABURO, CESAR LEONARDO

Ica – Perú

2022

DEDICATORIA

A Dios por haber permitido que llegase hasta esta etapa de mi vida profesional con salud y logrando mis objetivos. A mis padres por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus enseñanzas que me han permitido ser una persona de bien, pero sobre todo por su amor incondicional. A mis asesores por haberme guiado en la aventura universitaria y por haberme dado su apoyo incondicional en el presente trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Mi más cordial reconocimiento y agradecimiento a todos y cada uno de mis docentes en toda mi vida universitaria en la Facultad de Farmacia y Bioquímica, porque me brindaron sus conocimientos profesionales y apoyo en todo momento.

ÍNDICE

| | Pág. |
|--|------|
| DEDICATORIA | ii |
| AGRADECIMIENTO | iii |
| ÍNDICE DE CONTENIDOS | iv |
| ÍNDICE DE TABLAS | vi |
| ÍNDICE DE IMÁGENES | vii |
| RESUMEN | viii |
| ABSTRACT | ix |
| I. INTRODUCCIÓN | 10 |
| II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA | 15 |
| 2.1 HIPÓTESIS Y VARIABLES | 15 |
| 2.1.1 Hipótesis | 15 |
| 2.1.2 Variables | 15 |
| 2.2 BASES TEÓRICAS | 17 |
| 2.2.1 Marco Teórico | 17 |
| 2.2.2 Marco Conceptual | 21 |
| 2.3 METODOLOGÍA | 23 |
| 2.3.1 Tipo, Nivel y Diseño de la investigación | 23 |
| 2.3.2 Materiales de trabajo | 23 |
| 2.3.3 Población y muestra | 26 |
| 2.3.4 Métodos, técnicas y procedimientos de recolección de datos | 26 |

| | | |
|-------|--------------------------------|----|
| 2.3.5 | Análisis estadístico | 30 |
| III. | RESULTADOS | 32 |
| 3.1 | PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS | 32 |
| 3.1.1 | ESTUDIO FITOQUÍMICO | 32 |
| 3.1.2 | ACTIVIDAD ANALGÉSICA | 34 |
| 3.1.3 | TOXICIDAD | 37 |
| IV. | DISCUSIÓN | 39 |
| V. | CONCLUSIONES | 41 |
| VI. | RECOMENDACIONES | 42 |
| VII. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 43 |
| VIII. | ANEXOS | 47 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|---|------|
| Tabla 1. Clasificación Taxonómica | 32 |
| Tabla 2. Determinación de metabolitos secundarios | 33 |
| Tabla 3. Control negativo | 34 |
| Tabla 4. Control positivo | 35 |
| Tabla 5. Dosis 600 mg/Kg de Pupa | 35 |
| Tabla 6. Dosis 400mg/Kg de Pupa | 36 |
| Tabla 7. Dosis 200mg/Kg de Pupa | 36 |
| Tabla 8. Porcentaje de citotoxicidad obtenido según el recuento de nauplios vivos. | 37 |
| Tabla 9. Determinación de porcentaje de germinación y elongación radicular | 38 |

ÍNDICE DE IMÁGENES

| | Pág. |
|---|------|
| Imagen 1. Muestra vegetal <i>Tristerix chodatianus</i> “Pupa” | 51 |
| Imagen 2. Muestra vegetal seca | 52 |
| Imagen 3. Maceración de la muestra vegetal | 53 |
| Imagen 4. Concentración | 53 |
| Imagen 5. Filtración | 54 |
| Imagen 6. Extracto etanólico | 54 |
| Imagen 7. Administración de dosis en ratones albinos - Actividad analgésica | 55 |
| Imagen 8. Prueba Hot Plate en ratones albinos – Actividad analgésica | 55 |
| Imagen 9. Preparación de disoluciones de extracto etanólico de <i>Tristerix chodatianus</i> (<i>Patsch.</i>) <i>Kuijt</i> “Pupa” – Prueba de citotoxicidad | 56 |
| Imagen 10. Nauplios de <i>Artemia salina</i> vivos - Ensayo de citotoxicidad | 56 |
| Imagen 11. Ensayo de citotoxicidad en <i>Lactuca sativa</i> (Lechuga) | 57 |

RESUMEN

Introducción: La especie *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kujit denominada “Pupa” es una planta con propiedades medicinales del Perú. Se conoce que uno de los principales metabolitos presentes son los flavonoides, a los cuales se les atribuyen propiedades analgésicas. **Objetivo general:** Establecer si el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de *Tristerix chodatianus* (Patsch) Kujit “Pupa” presenta actividad analgésica y citotóxica. **Materiales y métodos:** El extracto se obtuvo por maceración de sus hojas, utilizando como solvente etanol 96°. Se filtró y concentró en un evaporador rotatorio a presión reducida a 45°C hasta obtener el extracto seco. La actividad analgésica se evaluó con el método de reacción al calor: “Hot Plate”; y la citotoxicidad se determinó por los bioensayos de *Artemia salina* y *Lactuca sativa* (Lechuga). **Resultados:** Los resultados de la actividad analgésica por el método de Hot Plate dio un porcentaje de analgesia de 95.19% con una dosis de 400 mg/Kg; en contraste al control positivo, tramadol 50mg/mL, que dio un 165% de analgesia. Resultados del bioensayo de citotoxicidad con *Artemia salina* fue negativo, no se observaron muertes de los nauplios a las tres dosis ensayadas de 10 ppm, 100 ppm y 1000 ppm del extracto etanólico en comparación del grupo control positivo 1000 ppm de una solución de sulfato de quinina, en el cual se observó la muerte de todos los nauplios. Asimismo, se realizó un bioensayo de fitotoxicidad en *Lactuca sativa* (Lechuga), en el cual se usaron soluciones de 10ppm, 100ppm y 1000ppm del extracto etanólico en el cual se observó la germinación de la semilla y tamaño de la radícula adecuado, de igual manera que la germinación del grupo control positivo en el cual se colocó la semilla en agua. **Conclusiones:** El extracto etanólico de hojas de la especie *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kujit “Pupa” presentó actividad analgésica y no presentó citotoxicidad.

Palabras claves: *Tristerix chodatianus*, citotoxicidad, analgésica, Hot Plate.

ABSTRACT

Introduction: The species *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt called "Pupa" is a plant with medicinal properties from Peru. It is known that one of the main metabolites present are flavonoids, to which analgesic properties are attributed. **General objective:** To establish if the ethanolic extract obtained from the leaves of *Tristerix chodatianus* (Patsch) Kuijt "Pupa" presents analgesic and cytotoxic activity. **Materials and methods:** The extract was obtained by maceration of its leaves, using 96° ethanol as solvent. It was filtered and concentrated in a rotary evaporator under reduced pressure at 45°C until the dry extract was obtained. The analgesic activity was evaluated with the heat reaction method: "Hot Plate"; and the cytotoxicity was determined by the bioassays of *Artemia salina* and *Lactuca sativa* (Lettuce). **Results:** The results of the analgesic activity by the Hot Plate method gave an analgesia percentage of 95.19% with a dose of 400 mg/Kg; in contrast to the positive control, tramadol 50mg/mL, gave 165% analgesia. The results of the cytotoxicity bioassay with *Artemia salina* were negative, no nauplii deaths were observed at the three tested doses of 10 ppm, 100 ppm and 1000 ppm of the ethanolic extract compared to the positive control group 1000 ppm of a sodium sulfate solution. quinine, in which the death of all the nauplii was observed. Likewise, a phytotoxicity bioassay was carried out on *Lactuca sativa* (Lettuce), in which solutions of 10ppm, 100ppm and 1000ppm of the ethanolic extract were used, in which seed germination and adequate radicle size were observed, in the same way. than the germination of the positive control group in which the seed was placed in water. **Conclusions:** The ethanolic extract of leaves of the species *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt "Pupa" presented analgesic activity and no cytotoxicity. **Keywords:** *Tristerix chodatianus*, cytotoxicity, analgesic, Hot Plate.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú, posicionado como el tercero en el planeta en temas de megadiversidad, tiene un promedio de 25 000 tipos de especies vegetales medicinales, muchas de ellas se desarrollan en valles interandinos y son utilizadas por su diversidad de propiedades, siendo una fuente preciada de prevención y curación para los pobladores rurales. Estas son una gran fuente de productos naturales biológicamente activos y se consideran una vía prometedora para el descubrimiento de nuevos medicamentos por su fácil acceso y costo relativamente bajo, ya que se desarrollan de manera natural en abundancia relativa.¹

El poblador peruano tiende a utilizar plantas medicinales por razones económicas o culturales, prueba de ello es la venta de éstas en los mercados, sin embargo, en muchas de estas especies aún no se ha comprobado su actividad farmacológica para ser comercializadas, siendo ello de importancia e incentivo para la realización de estudios de investigación partiendo de sus usos en la medicina tradicional.²

En el caso de la especie ***Trixterix chodatianus (Patsh.) Kuijt*** “Pupa” se utiliza popularmente en infusiones para el alivio de las infecciones genitourinarias.²

Asimismo, en estudios ya realizados se ha identificado que la especie ***Trixterix chodatianus (Patsh.) Kuijt*** “Pupa” cuenta con metabolitos secundarios como flavonoides, leucoantocianina, catequinas, esteroides, triterpenoides, taninos, compuestos fenólicos y aminoácidos.²

En tal sentido al saber que el extracto de ***Trixterix chodatianus (Patsh.) Kuijt*** “Pupa” cuenta con flavonoides, los cuales tienen propiedades antioxidantes, pero a su vez también se les atribuye propiedades de antiinflamatorias y analgésicas, se realizó el presente trabajo de investigación para determinar si el extracto etanólico de las hojas de ***Trixterix chodatianus (Patsh.) Kuijt*** “Pupa” presenta actividad analgésica.

Adicionalmente en vista de que varias especies de plantas tienen grandes propiedades, pero algunas presentan toxicidad, también se realizó en el presente trabajo de investigación la determinación de citotoxicidad en el extracto etanólico de las hojas de ***Trixterix chodatianus (Patsh.) Kuijt*** “Pupa”.

Teniendo en cuenta lo mencionado se tiene como realidad problemática que numerosos tipos de plantas demostraron capacidad para la generación de medicinas eficaces para combatir distintas

afecciones, por ende, gran número de científicos realizan la evaluación de extractos de plantas como método para descubrir nuevas opciones medicinales para combatir dichas enfermedades.³ No obstante, se tiene conocimiento que numerosas especies vegetales tienen la posibilidad de causar efectos tóxicos a los pacientes. Por lo tanto, se realizan estudios teniendo como finalidad la determinación, además de la actividad farmacológica, la toxicidad de las especies vegetales terapéuticas.³

El dolor y la inflamación son dos de los síntomas que acompañan a la mayoría de las enfermedades siendo las causas más frecuentes de consulta médica, siendo el dolor uno de los síntomas principales a controlar para poder adherirse mejor al tratamiento específico.⁴ Por eso se recurre a la fitoterapia, para utilizarla como una alternativa paliativa y terapéutica respecto al síntoma antes mencionado.⁴

Por lo expuesto anteriormente se plantearon los siguientes problemas:

Problema General:

¿Presenta el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt “Pupa” actividad analgésica y citotoxicidad?

Problemas Específicos:

- ¿Cuál es la actividad analgésica que presentará el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus* (Patsch) Kuijt “Pupa”?
- ¿Cuál es la citotoxicidad del extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus* (Patsch) Kuijt “Pupa”?

El estudio toxicológico preclínico se efectúa de manera rutinaria en ratones. Al ser estudios gran costo, además del padecimiento ocasionado a los animales ha impulsado el cambio a estudios que no usen animales de laboratorio, el disminuir la cantidad de animales utilizados en cada estudio o la mejora de los métodos actuales con el fin de disminuir el dolor y estrés a los animales.³

Es por ello que, como alternativa al método tradicional, y considerando los motivos antes expuestos, es que se recurre a la determinación de la toxicidad por otros métodos.

Uno de los biomodelos empleados en las etapas preliminares de la investigación fitoquímica, es el bioensayo con *Artemia salina*, desarrollado en 1982, *Artemia salina* es un crustáceo sensible a un amplio rango de compuestos con actividad biológica y de muy diversas

estructuras químicas. El procedimiento consiste en exponer compuestos activos y/o extractos de plantas a nauplios de *Artemia salina*.⁵

La actividad analgésica es una importante actividad farmacológica, la cual combate el dolor y la inflamación que son dos de los síntomas que acompañan a la mayoría de las enfermedades siendo las causas más frecuentes de consulta médica.

El dolor es la experiencia sensorial y emocional desagradable provocada por la estimulación perjudicial de las terminaciones nerviosas sensitivas. Es un síntoma fundamental de la inflamación y resulta muy valioso para el diagnóstico de muchos trastornos y enfermedades.⁴

Si se recurre a la Fitoterapia, como alternativa terapéutica, encontraremos a los flavonoides, metabolitos que ocupan un lugar muy importante dentro de esta rama, y que son muy reconocidos por su relación con las propiedades analgésicas y antiinflamatorias.⁴

La fitoterapia permite a la población disponer de acceso a alternativas terapéuticas, relacionada a todas aquellas dolencias que presentan el síntoma tan común e incómodo como el dolor, con productos naturales obtenidos a partir de plantas medicinales, aumentando así una mejor adhesión al tratamiento y una mejor calidad de vida para aquellas personas que sufren una determinada enfermedad.⁴

Se utilizaron los siguientes antecedentes para la realización del presente trabajo de investigación:

- **Ferreira et al. (2016):** Evaluaron el extracto etanólico de las hojas de *Maytenus octógona* (L'Héritier) DC por el método del plato caliente a dosis de 500 mg/Kg el cual presentó actividad analgésica de 95.81 % frente a 181,66% de patrón positivo. Tramadol; en el modelo de estímulo químico: contorsiones por ácido acético el extracto etanólico a las dosis de 500 mg/Kg, presenta un 43.03% de actividad analgésica menor que el fármaco ácido acetilsalicílico, usado como control positivo que mostró una actividad de 56.96% a la dosis de 100 mg/Kg.⁴
- **Albites et al., (2009):** El trabajo se realizó con el propósito de investigar las propiedades antimicrobiana y antioxidante de esta especie. De los resultados Fitoquímicos se identificó la presencia de: Leucoantocianidinas, Catequinas, Esteroides, Triterpenoides, Flavonoides, Taninos, compuestos fenólicos libres y aminoácidos. En cuanto a la actividad Antioxidante

los resultados indican que el extracto que obtuvo mejores resultados fue el de Acetato de Etilo tanto a concentraciones de 10 µg/mL como de 50 µg/mL; el cual se pudo evidenciar en su Concentración Efectiva Media. A nivel Antimicrobiano el extracto de Acetato de Etilo fue el más activo presentando halos de Inhibición de 21 mm para *Staphylococcus aureus*, 20 mm para *Candida albicans*, 13 mm para *Pseudomona aeruginosa*, 12 mm para *Salmonella spp* y 8 mm para *Escherichia coli*. Por los resultados obtenidos se puede indicar que el extracto etanólico posee ambas actividades, siendo además el extracto de Acetato de Etilo el más activo a nivel antimicrobiano y antioxidante, Así mismo se identificó la presencia de flavonoides, taninos, por lo que serían los probables metabolitos responsables de las actividades.²

- **Gonzáles et al (2007)** detectaron metabolitos fúngicos con actividad tóxica mediante bioensayo sobre *Artemia salina*. El objetivo fue aplicar un ensayo de toxicidad sobre *Artemia salina* para la detección de metabolitos fúngicos tóxicos, obtenidos a partir de hongos contaminantes de hierbas medicinales y alimentos.

Seis extractos resultaron de tipo T (8.5%). *Penicillium brevicompactum* Dierckx, aislado de un embutido, fue el único MT, debido principalmente a la presencia de ocratoxina A y de otros dos metabolitos.⁵

- **Galvis et al., (2012):** evaluaron la actividad tóxica de extractos de diferentes polaridades de los tallos de la corteza de *Annona Cherimolioides* sobre *Artemia salina* debido a que se ha reportado diversas sustancias bioactivas relacionadas con efecto insecticidas, antitumoral, antibacterial, antimalarial, leishmanicida, se probó la actividad citotóxica del extracto crudo y unas fracciones alcaloidales, siendo el extracto crudo quien mostró mayor toxicidad sobre *Artemia salina* (< 250 ppm), debido al sinergismo de los alcaloides presentes.⁶
- **Ponce et al., (2007).** En el trabajo Bioensayos para determinar la toxicidad y la bioactividad de alcaloides de *Coronopus dydimus*, realizaron la determinación de la toxicidad y la bioactividad de los alcaloides totales extraídos de *Coronopus dydimus* (L.), quimpe. Esta hierba fue extraída de la Laguna de Pozuelos, Jujuy. Los estudios de toxicidad aguda se realizaron con lombrices *Eisenia andrei* según normas OCDE (1984) y los ensayos para determinar bioactividad con *Artemia salina*. En la mezcla de alcaloides obtenida a partir de *Coronopus dydimus* se determinó una DL50=3,498 mg/ml para *Eisenia andrei* a los 7 días de iniciado el ensayo. Se clasifica toxicológicamente como “moderadamente tóxica” con tendencia hacia la clasificación “no tóxica”.⁷
- **Bohórquez-Echeverry y Campos-Pinilla 2007,** compararon la sensibilidad de *S. capricornutum* con el ensayo de *Lactuca sativa* para seleccionar el mejor indicador de

toxicidad. Se tomaron como parámetros los efectos de estimulación o inhibición sobre el crecimiento de las células algales y las semillas de lechuga. Se utilizó el Zn (II) como toxico de referencia para la determinación de la sensibilidad. Aunque, con *S. capricornutum* se contemplaron inconsistencias en los resultados; conllevando a la utilización de Cr (VI). Para *L. sativa* se logró un valor de CE_{50-120h} de 24.48 mgZn⁺²/L y para *S. capricornutum* un valor de CE_{50-96h} de 0.29 mgCr⁺⁶/L. La sensibilidad fue evaluada con un par de muestras de agua: la del río Bogotá y otra del efluente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales El Salitre. La conclusión muestra que ambos modelos exhibieron comportamiento similar, lo que podría imputarse a la concentración de materia orgánica que contienen cada muestra de agua.⁸

Como objetivos del presente trabajo de investigación se tienen:

a) Objetivo General

- Establecer si el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de *Tristerix chodatianus* (*Patsch.*) *Kuijt* “Pupa” presenta citotoxicidad y actividad analgésica.

b) Objetivos Específicos

- Determinar la citotoxicidad del extracto etanólico de las hojas de *Tristerix chodatianus* (*Patsch.*) *Kuijt* “Pupa” a través del bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*).
- Determinar la actividad analgésica del extracto etanólico de las hojas de *Tristerix chodatianus* (*Patsch.*) *Kuijt* “Pupa” a través del modelo experimental: Reacción al calor “Hot Plate” o placa caliente.

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1 HIPOTESIS Y VARIABLES

2.1.1. Hipótesis

a) General:

- H₀: El extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt “Pupa” no presenta actividad analgésica y presenta citotoxicidad.
- H₁: El extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt “Pupa” presenta actividad analgésica y no presenta citotoxicidad.

b) Específicas:

- El extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt “Pupa” presenta actividad analgésica por el método del Hot Plate.
- El extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt “Pupa” no presentará toxicidad.

2.1.2. Variables

| Variables | Dimensiones | Indicadores | Escala valorativa |
|---|--|---|--|
| <p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Extracto etanólico de hojas de <i>Tristerix chodatianus</i> (Patsch.) Kuijt "Pupa".</p> | <p>Conceptual: El extracto etanólico es un concentrado obtenido de la maceración de hojas secas, seguido de un proceso de filtrado y concentrado.</p> <p>Operacional: Caracterización del extracto</p> | <p>Clasificación de la especie</p> <p>Reacciones de identificación de metabolitos secundarios</p> | <p>Nominal</p> <p>Reacción de coloración y/o precipitación</p> |
| <p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Citotoxicidad</p> | <p>Conceptual: La citotoxicidad es la cualidad de algunas células de ser tóxicas frente a otras que están alteradas.</p> | - | - |
| | <p>Operacional: Citotoxicidad mediante el ensayo con <i>Artemia salina</i></p> | Nauplios muertos | % de letalidad |
| | <p>Operacional: Citotoxicidad mediante el ensayo con semillas de lechuga.</p> | Germinación y elongación de la radícula | % de germinación |
| <p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Actividad analgésica</p> | <p>Conceptual: La actividad analgésica es la capacidad que tiene un compuesto para reducir o aliviar los dolores.</p> | - | - |
| | <p>Operacional: Poder analgésico comprobado mediante el ensayo de reacción al calor "HOT PLATE o placa caliente"</p> | Tiempo de resistencia de los ratones albinos en la placa caliente | % de Analgesia; Potencia analgésica |

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. MARCO TEÓRICO

a) Descripción:

Tristerix chodatianus (Patsch.) Kuijt “Pupa” es una especie de arbusto, que presenta inflorescencia, es hemiparásita o parásita parcial, la cual esta provista de clorofila y actividad fotosintética, pero que obtienen el agua y los nutrientes del hospedero; parasita especies de *Polylepis* (Rosaceae) en los Andes del Perú.⁹

b) Clasificación botánica

Tristerix chodatianus (Patsch.) Kuijt tiene la siguiente posición taxonómica:

| TAXONOMÍA | |
|---------------------|--|
| División | MAGNOLIOPHYTA |
| Clase | MAGNOLIOPSIDA |
| Subclase | ROSIDAE |
| Orden | SANTALALES |
| Familia | LORANTHACEAE |
| Genero | <i>Tristerix</i> |
| Especie | <i>Tristerix chodatianus</i> (patsch.) Kuijt |
| Nombre vulgar: Pupa | |

c) Hábitat

Tristerix chodatianus (Patsch.) Kuijt es una especie oriunda la cual se encuentra en toda la extensión de la cordillera de los Andes; en el territorio peruano entre los departamentos de Ayacucho, Huancavelica y Lima, se desarrolla en las pendientes pedregosas de 3500 a 4500 metros sobre el nivel del mar.²⁻⁹

d) Usos tradicionales

Antecedentes del empleo terapéutico se obtuvieron de los habitantes del pueblo de Tambo Quemado, distrito de Leoncio Prado – Lucanas, departamento de Ayacucho, Perú; los cuales emplean las hojas de la Pupa (*Tristerix chodatianus (patsch.) Kuijt*) para preparar una infusión para combatir la infección genitourinaria.²

e) Toxicidad

Las especies vegetales terapéuticas son una útil opción medicinal y su verificación científica es necesaria. No podemos restringir, al conocimiento tradicional, que la planta sea segura y eficaz, pues toda fracción de ella cuenta con gran cantidad de sustancias con biológicas, las cuales cuenta con potencial de ocasionar efectos tóxicos.¹⁰

Los alcaloides son beneficiosos, así como peligrosos; podrían provocar toxicidad y efectos adversos, como alteraciones en el sistema nervioso central, alucinaciones, problemas graves en el sistema digestivo, dependencia física y psíquica y, en muchas ocasiones, la muerte.¹¹

Dentro de la batería de ensayos de primera barrera se encuentran los estudios de toxicidad.

✓ Citotoxicidad

La citotoxicidad celular se describe como la modificación del actuar celular básico que da como resultado una lesión que es posible detectarla. Desde este punto, variedad de científicos han generado baterías de ensayos in vitro buscando pronosticar las consecuencias tóxicas de los medicamentos en investigación y los compuestos químicos, agarrando como prototipos experimentales cultivos primarios y órganos en aislamiento como ejes celulares establecidos.¹²

✓ Bioensayo de citotoxicidad con *Artemia salina*

El ensayo consiste en realizar diluciones del extracto etanólico de *Tristerix chodatianus (Patsch.) Kuijt* “Pupa”, dichas diluciones en contacto con los nauplios de *Artemia salina* influirán en su desarrollo y mortalidad. Para esta prueba usamos

un control positivo y un control negativo, para de esa manera poder tener referencias en la comparación de la mortalidad de los nauplios de los crustáceos.¹³

Según observamos el porcentaje de mortalidad, deducimos la toxicidad aguda del extracto etanólico de *Tripterix chodatianus* (Patsch.) Kujit “Pupa”.¹³

✓ **Bioensayo de citotoxicidad con *Lactuca sativa* (Lechuga)**

El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) es un estudio estático de toxicidad aguda (5 días de exposición) que permite estudiar las consecuencias fitotóxicas de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Como puntos finales para la evaluación de los efectos fitotóxicos, se determina la inhibición en la germinación y la inhibición en la elongación de la radícula.⁸

f) Actividad analgésica

El dolor y la inflamación son dos de los síntomas que acompañan a la mayoría de las enfermedades siendo las causas más frecuentes de consulta médica.

✓ **DOLOR**

Experiencia sensorial y emocional irritante ocasionada por la estimulación perjudicial de las terminaciones nerviosas sensitivas. Es un signo esencial de la inflamación y es muy valioso para la determinación de numerosos trastornos y enfermedades.¹¹

El dolor puede ser tenue o grave, crónico, agudo, lacerante (que corta o desgarrar agudamente), urente, sordo o intenso, de localización precisa, difusa o bien referida.¹⁴

✓ **DOLOR AGUDO:**

Es un evento repentino, relativamente corto y de variable duración. Cuando está con daño tisular, el dolor disminuye con la curación. Puede aparecer durante la privación de sueño, en el parto, por fatiga, o por exceso de ejercicio físico. El dolor agudo advierte que algo está mal, es la señal para buscar el alivio a la causa del dolor o a sus síntomas. El comportamiento que desencadena el dolor en la persona está muy influenciado por experiencias pasadas, por el escenario socio-cultural donde la herida o el dolor ocurren, por el estado psicológico del sujeto en el momento en que ocurre el evento, así como por la personalidad del paciente. Puede modificar la respuesta al dolor algunos rasgos de personalidad y que no se presente un beneficio secundario.¹⁵

✓ **DOLOR CRÓNICO:**

El dolor agudo se vuelve crónico, cuando se presenta en el paciente un suceso de dolor diario, extendiéndose en un periodo mayor de cuatro meses. Personas con dolor crónico presentan altos niveles de ansiedad y tienden a desarrollar sentimientos de desesperanza y de desamparo porque varios tratamientos a los que han sido sometidas han fracasado. Los efectos del dolor crónico van a depender de sí el dolor es benigno (inocuo) o maligno (daño grave); si el malestar es continuo o se presenta en periodos intensos y discontinuos.¹⁵

✓ **FÁRMACOS ANALGÉSICOS**

Los analgésicos o antiálgicos son aquellos medicamentos capaces de suprimir o aliviar la sensación dolorosa.

- **ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS:**

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son un grupo de medicamentos ampliamente usados para tratar el dolor, la inflamación y la fiebre. En este grupo se incluyen medicamentos tan conocidos y usados como el ácido acetil-salicílico (AAS) (Aspirina®), ibuprofeno, indometacina, diclofenaco, piroxicam, etc. Se trata de fármacos que se han utilizado para aliviar síntomas como el dolor, la inflamación aguda y crónica y así han contribuido de forma muy importante a mejorar la calidad de vida del ser humano puesto que son de gran utilidad para controlar enfermedades incapacitantes como las enfermedades reumáticas. Hay que destacar que además tienen una gran utilidad por su potencial como antiagregante es decir poseen la propiedad de disminuir la capacidad de las plaquetas para unirse y formar trombos este es el caso del AAS.¹⁶

- **OPIÁCEOS MENORES:**

Son un grupo de sustancias, la mayoría sintéticas como el Tramadol que imitan, con menor poder analgésico, la acción de los opioides. Corresponden al segundo escalón analgésico de la OMS.¹⁷

- **OPIÁCEOS MAYORES:**

Esencialmente son utilizados para el tratamiento del dolor agudo y persistente, por ejemplo, los dolores postoperatorios y oncológicos.¹⁷

Algunos obtenidos de la naturaleza (opiáceos) como la morfina y otros elaborados por la mano del hombre (opioides) como el fentanilo, que actúan sobre los receptores opioides de las neuronas del sistema nervioso, simulando la potencia analgésica de los opiáceos endógenos.¹⁷

✓ **FÁRMACO USADO:**

- **TRAMADOL**

Es un analgésico del grupo de los opioides; que calma el dolor trabajando sobre el SNC. Ejerce su acción analgésica por un mecanismo dual. Por unión a los receptores opiáceos específicos y por bloqueo de la recaptación neuronal de noradrenalina y la liberación de serotonina. Es muy eficaz en dolores de moderados a intensos, y no se ha demostrado que genere dependencia ni que presente tolerancia como sucede con los opiáceos puros.¹⁷

✓ **Método de investigación de la actividad analgésica**

Para investigar la actividad analgésica de una sustancia se recurre a pruebas antinociceptivas que se basan en la aplicación de un estímulo doloroso (algésico) y la aparición de cambios típicos observables en la conducta del animal. Generalmente se usan dos modelos experimentales: el de la reacción al calor lesivo aplicado en la cola o en las patas de los ratones, y el de las contorsiones abdominales inducidas por la administración intraperitoneal de ácido acético. El que utilizaremos será el Método de reacción al calor.¹⁸

✓ **Método de Reacción al Calor: "Hot Plate" o Placa caliente**

En el modelo de reacción al calor o Hot Plate los ratones son colocados en una placa termostataada a aprox. 55°C, midiéndose el tiempo necesario, en segundos, para que el animal lama las patas posteriores en un intento de disminuir la temperatura. El tiempo máximo de contacto del animal con la placa caliente no debe ser mayor de 30 segundos para evitar lesionar la patas.¹⁸

2.2.2. MARCO CONCEPTUAL

Investigación de la actividad analgésica y citotoxicidad de la *Tristerix chodatianus* (*Pastochovsky*) o comúnmente llamada “Pupa”.

La investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad “San Luis Gonzaga”.

Palabras Claves:

- a) AINE: Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son un conjunto de fármacos extensamente utilizados para contrarrestar el dolor, la inflamación y la fiebre. En este conjunto se incluyen fármacos muy populares y utilizados como el ácido acetilsalicílico (AAS) (Aspirina®), ibuprofeno, diclofenaco, etc.¹⁶

- b) Analgesia: La analgesia es la pérdida o modulación de la percepción del dolor. Puede ser 1) local y afectar sólo una pequeña área del cuerpo, 2) regional y afectar una porción más amplia del cuerpo o 3) sistémica. La analgesia se logra a través del uso de la hipnosis (sugestión), medicamentos sistémicos, fármacos regionales o fármacos por inhalación.¹⁹

- c) Citotoxicidad: alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a que se produzca un daño.²⁰

- d) Nauplios: larva recién nacida, se caracteriza por la ausencia de segmentos en el cuerpo y por presentar gran cantidad de reservas vitelinas.²¹

- e) Fármacos Opiáceos: fármacos cuya acción analgésica se produce gracias a su interacción con los receptores opioides de las neuronas del sistema nervioso central. Son los fármacos analgésicos más potentes con los que contamos en la actualidad.²²

- f) Toxicología: es el estudio de los venenos o, en una definición más precisa, la identificación y cuantificación de los efectos adversos asociados a la exposición a agentes físicos, sustancias químicas y otras situaciones.²³

2.3. METODOLOGÍA

2.3.1 TIPO, NIVEL Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION

a) Tipo de investigación: Aplicada

La investigación aplicada se caracteriza por resolver un determinado problema o planteamiento específico, enfocándose en la búsqueda y consolidación del conocimiento para una posterior aplicación que enriquecerá el desarrollo cultural y científico.

b) Nivel de investigación: Descriptivo- Explicativo

Descriptivo: Consiste en llegar a conocer las situaciones, costumbres y actitudes predominantes a través de la descripción exacta de las actividades, es examinar características del problema escogido.

Explicativo: Tiene como finalidad averiguar el porqué de los acontecimientos a través de establecer vinculación de la causa-efecto.

c) Diseño de la investigación: Experimental

Es una recopilación de diseños de investigación usando el manejo y los ensayos controlados comprendiendo los procedimientos causales. Teniendo uno o más variables controladas buscando encontrar su impacto en una variable dependiente. Ensayo en el cual científico controla una variable y maneja/aleatoriza las demás variables. Posee una agrupación control, estos individuos son designados aleatoriamente en los grupos y el científico reta un efecto por cada ocasión.

2.3.2 MATERIALES DE TRABAJO

a) Materiales de laboratorio

- ✓ Balones
- ✓ Fiolas
- ✓ Probetas

- ✓ Matraces Erlenmeyer
- ✓ Agitadores de vidrio
- ✓ Vasos de precipitado
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Gradillas
- ✓ Embudos
- ✓ Vasos de vidrio
- ✓ Espátulas de metal
- ✓ Pinzas metálicas
- ✓ Luna de reloj
- ✓ Propipetas
- ✓ Baguetas
- ✓ Pipetas volumétricas (1,2,5 y 10 mL)
- ✓ Matraces aforados de 50 mL
- ✓ Láminas excavadas
- ✓ Placas Petri

b) Material biológico

- ✓ Hojas de *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt “Pupa”
- ✓ Ratones albinos (machos adultos de 25-30g)
- ✓ *Artemia salina* Leach (Nauplios activos)
- ✓ Semillas de *Lactuca sativa* (Lechuga)

c) Equipos

- ✓ Balanza analítica
- ✓ Evaporador rotatorio marca HEIDOLPH modelo LABOROTA 4000.
- ✓ Algesímetro Hot Plate
- ✓ Contador de colonias

d) Reactivos, excipientes, fármacos:

- ✓ Agua destilada
- ✓ Suero fisiológico
- ✓ Etanol 96°
- ✓ Alcohol 70°
- ✓ Tramadol
- ✓ Agua dura reconstituida

e) Otros

- ✓ Papel de filtro Whatman
- ✓ Papel de aluminio
- ✓ Guantes
- ✓ Guantes estériles
- ✓ Mascarillas
- ✓ Gafas protectoras
- ✓ Papel tissú
- ✓ Papel toalla
- ✓ Viales
- ✓ Sonda nasogástrica
- ✓ Jeringas descartables

2.3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

a) Población:

Plantas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus* *Kuijt* “Pupa” que crece en anexo de Tambo Quemado, Distrito de Leoncio Prado, provincia de Lucanas, Ayacucho

b) Muestra

Hojas de la especie *Tristerix chodatianus* (*Patsch.*) *Kuijt* “Pupa”, recolectada en el anexo de Tambo quemado de las cuales se obtiene un extracto etanólico.

2.3.4. MÉTODOS, TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

a) Métodos y Técnicas

✓ Obtención del extracto vegetal:

➤ Recolección y clasificación de la Muestra Vegetal:

Tristerix chodatianus “Pupa” fue recolectada en Tambo Quemado, Distrito de Leoncio Prado, provincia de Lucanas, Ayacucho ubicada a 3500 a 4500 m. s. n. m. en el mes de octubre del 2019.

➤ Tratamiento de la Muestra Vegetal:

Ya recolectada la especie vegetal, se seleccionaron las hojas que estaban en buen estado, posteriormente se secaron bajo sombra y en un ambiente ventilado por 15 días.

➤ **Obtención del extracto etanólico:**

Para poder obtener el extracto etanólico se utilizó 1 Kg de hojas secas. Para lo expuesto se utilizó el método de maceración por 15 días y utilizando 4 Litros de etanol como solvente para la maceración.

Como resultado de la maceración se obtuvo extracto, el cual se concentró utilizando un rota vapor (evaporador rotatorio) a presión reducida, para obtener como resultado final el extracto etanólico.²

✓ **Screening fitoquímico:**

Para la caracterización del extracto se procede a realizar una marcha fitoquímica según Lock 1988 al extracto crudo, realizando extracciones sucesivas con solventes de diferentes polaridades, obteniéndose 5 fracciones denominadas A, B, C, D, E. en las cuales se determinaron la presencia o ausencias de diversos grupos de metabolitos secundarios mediante reacciones de coloración y/o precipitación identificar los grupos de metabolitos.

✓ **Bioensayos de citotoxicidad en *Artemia Salina*:**

La realización de bioensayos de toxicidad tiene por objeto clasificar las sustancias de acuerdo con su peligrosidad.

El ensayo de toxicidad fue realizado de acuerdo con lo reportado por varios autores. Esta prueba consistió en la preparación de 3 soluciones con diferentes concentraciones de extracto etanólico de la especie vegetal, una solución control positivo y una solución control negativo. Las concentraciones de extracto etanólico de la especie vegetal empleadas para cada tratamiento fueron de 10 ppm, 100 ppm y 1000 ppm; como control positivo se usó 1000 ppm del reactivo sulfato de quinina; y como control negativo se utilizó agua del mar, para de esa manera poder tener referencias en la comparación de la mortalidad de los nauplios del crustáceo.

Estas pruebas fueron realizadas por triplicado. En cada solución elaborada, teniendo en cuenta la solución control, fue evaluado el pH para eliminarlo como factor en las posibles consecuencias nocivas.⁵

Al ser elaboradas las soluciones, se vertieron en viales con un volumen de 10 mililitros completando la el 50% del volumen, posteriormente, utilizando pipetas Pasteur de cristal, se introduce una decena de metanauplios por vial, completando una totalidad de 30 larvas por procedimiento. A continuación, se completará la capacidad de cada recipiente con la solución respectiva y al pasar 1 día, se contará en cada recipiente la cantidad de larvas cadáveres (las cuales están inmóviles) para cada procedimiento, volviendo a realizar el conteo luego de 2 días expuestos.⁵

✓ **Bioensayos de citotoxicidad en Semillas de *Lactuca sativa* (Lechuga):**

Esta prueba consistió en la preparación de 3 soluciones con diferentes concentraciones de extracto etanólico de la especie vegetal, una solución control positivo. Las concentraciones de extracto etanólico de la especie vegetal empleadas para cada tratamiento fueron de 10 ppm, 100 ppm y 1000 ppm; como control positivo se usó agua de grifo. Para esto se dejó 120 horas expuestas las semillas de *Lactuca sativa* (Lechuga) en placas petri, 10 semillas por placa, en papel filtro Whatman 2 empapado con 4mL de las respectivas soluciones mencionadas, para determinar la reducción del poder germinativo y la variabilidad de las medidas de la elongación o crecimiento de las radículas de los grupos con soluciones en comparación con el grupo control determinó el porcentaje de citotoxicidad.

✓ **Ensayo de actividad analgésica – ensayo placa caliente (HOT-PLATE):**

El ensayo de HOT-PLATE es un modelo somático clásico de dolor, prueba dañina de calor estimulada. Esta prueba mide el dolor intenso ocasionado por el accionamiento de nociceptores periféricos en el tejido lesionado, el final de la prueba se da por el brinco o lamedura de las extremidades del ratón lo que indica una acción involuntaria en respuesta al estímulo.¹⁸

Los animales fueron colocados sobre una placa caliente a 53.5 °C, la latencia del signo de dolor (lamido de ambas patas delanteras o salto fuera de la superficie caliente) fue registrada mediante un cronómetro. El tiempo máximo de contacto del animal con la placa caliente no fue mayor de 30 segundos para evitar lesionar la patas.¹⁸

Para este método se utilizaron 25 ratones machos albinos, los cuales fueron separados al azar en 5 grupos. Dichos ratones estuvieron en ayunas por 12 horas con libre acceso a agua, antes de realizar la prueba. Luego se les administró por vía oral el tramadol, el suero fisiológico y la dilución del extracto de hojas de “*Tristerix chodatianus*” Pupa, respectivamente; luego se los dejó reposar por 30 minutos, posteriormente se realizó la prueba del Hot Plate. La división de los grupos fue la siguiente:¹⁸

- **Grupo control positivo:** se utilizó para el control positivo el fármaco tramadol, fármaco opiáceo, a una dosis de 40mg/Kg.
- **Grupo control negativo:** se utilizó suero fisiológico.
- **Grupo 1:** Se les administró a los ratones albinos dosis de 600 mg/Kg de la disolución de hojas de *Tristerix chodatianus* (*Patsch.*) *Kuijt* “Pupa”.
- **Grupo 2:** Se les administró a los ratones albinos dosis de 400 mg/Kg de la disolución de hojas de *Tristerix chodatianus* (*Patsch.*) *Kuijt* “Pupa”.
- **Grupo 3:** Se les administró a los ratones albinos dosis de 200 mg/Kg de la disolución de hojas de *Tristerix chodatianus* (*Patsch.*) *Kuijt* “Pupa”.

b) Lugar de la investigación

Región Ica, Departamento Ica, Distrito Ica, Av. Los Maestros s/n Ciudad universitaria. Universidad Nacional San Luis Gonzaga, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Química Farmacéutica, Departamento de Ciencias Químicas, Laboratorio de Química de Investigación de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNSLG, Laboratorio de Análisis Instrumental y Control de Calidad de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNSLG.

c) Técnicas de procesamiento de la información

➤ **Recolección de datos analíticos**

Se realizaron apuntes en cuadernos de notas, donde se registraron todos los resultados obtenidos de las técnicas empleadas en cada ensayo.

➤ **Procesamiento de datos**

Todo resultado fue procesado en el programa Microsoft Excel 2013 y se plasmaron como porcentajes de los cuales se elaboraron cuadros y gráficos.

2.3.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos durante las pruebas de actividad analgésica fueron tratados por análisis de variancia con un factor (ANOVA), y tanto la analgesia y la toxicidad mediante cuadros comparativos.

2.3.6. Contratación de hipótesis

El estudio realizado se contrastó las hipótesis específicas mediante la aplicación de la estadística ANOVA, teniendo un nivel de significancia de 0,05.

Considerando:

HIPÓTESIS ESPECÍFICA

El extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kujt “Pupa” no presentará actividad analgésica por el método del Hot Plate μ_x

El extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kujt “Pupa” presentará actividad analgésica por el método del Hot Plate. μ_y

Hipótesis nula $H_0: \mu_x = \mu_y$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_x \neq \mu_y$

Si F tabulado es mayor a F Critico se rechaza μ_x y se acepta μ_y

Como el nivel de significancia 0,05 trabajando con el nivel de confianza el 95%, se rechaza la hipótesis nula (H_0), aceptándose por ende la hipótesis alterna (H_1). Ver anexo

III. RESULTADOS

3.1 PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS:

3.1.1. ESTUDIO FITOQUÍMICO

a) Clasificación taxonómica (Anexo 3)

Tabla1. Clasificación Taxonómica

| TAXONOMÍA | |
|---------------------|---|
| División | MAGNOLIOPHYTA |
| Clase | MAGNOLIOPSIDA |
| Subclase | ROSIDAE |
| Orden | SANTALALES |
| Familia | LORANTHACEAE |
| Genero | <i>Tristerix</i> |
| Especie | <i>Tristerix chodatianus (patsch.) Kuijit</i> |
| Nombre vulgar: Pupa | |

b) Identificación de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de la especie *Tristerix chodatianus (patsch.) Kuijit*

Tabla 2. Determinación de metabolitos secundarios

| Rx | Fracciones | Ensayo | Metabolitos | Resultados |
|----|------------|---------------------------------|---------------------------------|------------|
| A | | Rx Shinoda | Flavonoides | + |
| | | Rx Tricloruro férrico | Grupos fenólicos | + |
| | | Rx Gelatina | Taninos | - |
| | | Rx Ninhidrina | Aminoácidos | + |
| B | | Rx Liebermann-Burchard | Triterpenos y/o esteroides | + |
| | | Rx Borntragen | Naftoquinonas y/o antraquinonas | - |
| C | | Rxs Dragendorff, Mayer y Wagner | Alcaloides | - |
| | | Rx Liebermann-Burchard | Triterpenos y/o esteroides | + |
| | | Rx Dragendorff, Mayer y Wagner | Alcaloides | - |
| D | | Rx Shinoda | Flavonoides | + |
| | | Rx Liebermann-Burchard | Triterpenos y/o esteroides | + |
| | | Rx Rosenheim | Leucoantocianidinas | + |
| E | | Rx Shinoda | Flavonoides | + |
| | | Rx Rosenheim | Leucoantocianidinas | + |
| F | | Rx Espuma | Saponinas | + |

Reacción. + Presencia, - Ausencia

3.1.2. ACTIVIDAD ANALGÉSICA

a) Ensayo de actividad analgésica – placa caliente (HOT PLATE).

Se determinó el porcentaje (%) de analgesia de cada grupo de ratones a los cuales se les administró diferentes dosis.

Se utilizó la siguiente fórmula para determinar el volumen administrado según el peso del ratón:

$$\frac{\text{Dosis que se quería administrar} \times \text{Peso de ratón}}{1000 \text{ ml} \times \text{concentración de la solución}}$$

Luego se sacó el porcentaje de analgesia de la siguiente manera:

$$\% \text{ Analgesia del grupo} = \frac{\text{Tiempo promedio de duración de ratón en hot plate} - \text{Tiempo promedio control negativo}}{\text{Tiempo promedio control negativo}}$$

Tabla 3. Control negativo

Se cálculo el volumen a administrar como si se tratase de la dosis mayor que se administró, 600mg/Kg con una concentración de 60mg/ml, teniendo condiciones similares.

| | Peso | Volumen a administrar | Tiempo en hot plate (segundos) | % Analgesia |
|---------|-------------|------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| Ratón 1 | 33.3 g | V= 0.333 mL | 8 | 0% |
| Ratón 2 | 30.0 g | V= 0.300 mL | 7.4 | |
| Ratón 3 | 26.6 g | V= 0.266 mL | 8.10 | |
| Ratón 4 | 25.4 g | V= 0.254 mL | 8.52 | |
| Ratón 5 | 27.6 g | V= 0.276 mL | 6.92 | |

Control positivo (Tramadol 50mg/ml)

$$V_C \times C = V_D \times C_D$$

$$X. 50 \text{ mg/mL} = 5\text{mL}. 10\text{mg/mL}$$

X=1 mL → 1 mL de tramadol de 50 mg/mL se llevó a 5ml, para obtener concentración de 10 mg/mL

Para el control positivo se usó una dosis de **40 mg/Kg**.

Tabla 4. Control positivo

| | Peso | Volumen a administrar | Tiempo en hot plate (segundos) | % Analgesia |
|---------|-------------|------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| Ratón 1 | 38.5 g | V= 0.154 mL | 25.88 | 165% |
| Ratón 2 | 36 g | V= 0.144 mL | 22.13 | |
| Ratón 3 | 40.7 | V= 0.162 mL | 16.29 | |
| Ratón 4 | 33.4 | V= 0.134 mL | 16.68 | |
| Ratón 5 | 37.5 | V= 0.150 mL | 22.60 | |

Tabla 5. Dosis 600 mg/Kg de Pupa

La concentración de la solución del extracto de pupa es de 60 mg/mL

| | Peso | Volumen a administrar | Tiempo en hot plate (segundos) | % Analgesia |
|---------|-------------|------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| Ratón 1 | 32.3 g | 0.323 mL | 12.4 | 49.48% |
| Ratón 2 | 31.8 g | 0.318 mL | 10.0 | |
| Ratón 3 | 30.6 g | 0.306 mL | 15.03 | |
| Ratón 4 | 29.4 g | 0.294 mL | 10.23 | |
| Ratón 5 | 20.4 g | 0.204 mL | 10.55 | |

Tabla 6. Dosis 400mg/Kg de Pupa

La concentración de la solución del extracto de pupa es de 60 mg/mL.

| | Peso | Volumen a administrar | Tiempo en hot plate (segundos) | % Analgesia |
|---------|-------------|------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| Ratón 1 | 34.9 g | 0.233 mL | 15.94 | 95.19% |
| Ratón 2 | 31.0 g | 0.206 mL | 18.10 | |
| Ratón 3 | 29.4 g | 0.196 mL | 15.20 | |
| Ratón 4 | 31.1 g | 0.207 mL | 13.97 | |
| Ratón 5 | 22.2 g | 0.148 mL | 12.80 | |

Tabla 7. Dosis 200mg/Kg de Pupa

La concentración de la solución del extracto de pupa es de 20 mg/mL.

| | Peso | Volumen a administrar | Tiempo en hot plate (segundos) | % Analgesia |
|---------|-------------|------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| Ratón 1 | 36.9 g | 0.369 mL | 8.60 | 42.60% |
| Ratón 2 | 37.6 g | 0.376 mL | 12.73 | |
| Ratón 3 | 33.2 g | 0.332 mL | 9.50 | |
| Ratón 4 | 31.2 g | 0.312 mL | 14.50 | |
| Ratón 5 | 32.3 g | 0.323 mL | 10.20 | |

En el modelo de “HOT PLATE” el extracto etanólico de hojas de *Tristerix chodatianus* (Patsch.) *Kujit* “Pupa” a la dosis de 400 mg/Kg, dio un porcentaje de analgesia de 95.19 %, mientras que el control positivo presentó un % de analgesia de 165 %.

3.1.3. TOXICIDAD

a) Bioensayos de citotoxicidad en *Artemia salina*

Se determinó el porcentaje (%) de citotoxicidad del extracto etanólico de *Trixterix chodatianus* (Patsch.) Kujit “Pupa” en cada grupo de *artemia salina* según la cantidad de nauplios vivos observados con el contador de colonias.

Tabla 8. Porcentaje de citotoxicidad obtenido según el recuento de nauplios vivos.

| | CC ($\mu\text{g/mL}$) | Total | Vivas | Muertas | Porcentaje supervivencia (%) | Porcentaje Mortalidad (%) |
|------------------|----------------------------|-------|-------|---------|------------------------------------|---------------------------------|
| Control | 0 | 30 | 30 | 0 | 100 | 0 |
| Extractos | 10 | 30 | 30 | 0 | 100 | 0 |
| | 100 | 30 | 30 | 0 | 100 | 0 |
| | 1000 | 30 | 29 | 1 | 96,7 | 3,3 |

b) Bioensayo de citotoxicidad en *Lactuca sativa* (Lechuga)

Se determinó el porcentaje (%) de citotoxicidad del extracto etanólico de *Trixterix chodatianus* (Patsch.) Kujit “Pupa” en semillas de *Lactuca sativa* (Lechuga).

En el cual se observó germinación de la semilla y se tomó la medida de la radícula, teniendo como promedio en cada grupo:

Tabla 9. Determinación de porcentaje de germinación y elongación radicular

| CC ($\mu\text{g/mL}$) | Prueba 1 | Prueba 2 | Prueba 3 | Promedio Sd | % Germinación/ elongación |
|----------------------------|-------------|-------------|-------------|------------------|---------------------------------|
| Control | 4,09 | 4,29 | 4,16 | $4,18 \pm 0,101$ | 100/100 |
| 10 | 4,08 | 4,16 | 4,31 | $4,18 \pm 0,117$ | 100/100 |
| 100 | 4,04 | 4,14 | 4,35 | $4,18 \pm 0,158$ | 100/100 |
| 1000 | 3,99 | 4,26 | 4,04 | $4,10 \pm 0,144$ | 100/98,1 |

Sd = desviación estandar

No se observó citotoxicidad en la germinación de las semillas de *Lactuca sativa* (Lechuga).

IV. DISCUSIÓN:

En el presente trabajo de investigación, se determinaron los efectos analgésicos y tóxicos de la *Tristerix chodatianus (Patsch.) Kuijt* “Pupa”. En primer lugar se requirió la identificación en el museo de historia natural que nos permitió realizar una real identificación de la especie la cual fue sometida a un proceso de maceración por un espacio de un mes utilizando como solvente etanol al 96%, luego de filtrado y concentrado el extracto se sometió a un fraccionamiento obteniéndose 5 tracciones denominadas A: B: C: D: E en las cuales se realizaron reacciones de precipitación y coloración para la detección de metabolitos secundarios observándose la predominancia de los grupos flavonoides y triterpenos y/o esteroides en las mayoría de las fracciones Tabla 2., estos datos son concordantes en su mayor parte por lo reportado por Albites el año 2009.

Se realizó el modelo experimental de reacción al calor “Hot Plate” para determinar el porcentaje de la actividad analgésica en diluciones de concentraciones diferentes del extracto etanólico de *Tristerix chodatianus (Patsch.) Kuijt* “Pupa”. En la tabla 3 se muestra la prueba realizada en el control negativo en la cual no se utilizó ninguna concentración del extracto, por lo que pudimos observar que a dicho resultado de la reacción de los animales tuvo 0% de analgesia y se toma como dato referencial de partida.

En la tabla 4 se muestra los resultados de la prueba realizada con el control positivo, utilizando el fármaco tramadol 50mg/mL, debemos tener en cuenta que este es un analgésico tipo opiáceo y obtiene 165% de analgesia. Estos fármacos actúan principalmente a nivel de los receptores μ (μ), se les consideran agonistas puros pues tienen gran afinidad por los receptores μ (μ) y afinidad menor por otros receptores que también coadyuvan [(receptores κ (κ) y δ (δ)]. Los receptores μ (μ) en la periferia y neuronas presinápticas las neuronas de la asta dorsal inhiben las señales del dolor (transmisión nerviosa) disminuyendo el flujo de Calcio en la célula. En las neuronas de la médula espinal postsinápticas, los receptores μ (μ) abren los canales de potasio (salida de iones de potasio) lo que produce hiperpolarización, así la neurona no puede responder a las señales de dolor adicional.

En la tabla 5 y 7 se muestra los resultados de las pruebas realizadas con dosis 600mg/Kg y concentraciones de 600mg/Kg y 200 mg/kg obteniendo un porcentaje de analgesia con respecto al control negativo de 49.48% de y 42.60% de respectivamente. En la tabla 6 se muestran los resultados de las pruebas realizadas, a una dosis de 400 mg/Kg de extracto de pupa, obteniendo

el mayor porcentaje de analgesia 95.19%. del análisis de estos resultados podemos presumir en primer lugar que el extracto de pupa si presenta actividad analgésica pero que esta no es dependiente a la dosis porque a una dosis mayor como la de 600mg/kg se encuentra un valor considerablemente menor que la dosis de 400 mg/kg.

Al obtener porcentajes significativos de analgesia, sobre todo en la dosis de 400mg/Kg de extracto de pupa, se confirma la hipótesis de que el extracto etanólico de *Tristerix chodatianus* “Pupa” cuenta con propiedad analgésica, lo que podría relacionarse con la presencia de los metabolitos secundarios detectados como la presencia de flavonoides que contiene el extracto vegetal.

Con respecto al ensayo de citotoxicidad en *Artemia salina* se muestra que el porcentaje de citotoxicidad (% de nauplios muertos) en el control positivo, solución de 1000ppm de sulfato de quinina es de 100%; a diferencia del control negativo y de los tres ensayos realizados con concentraciones de 10ppm, 100ppm y 1000ppm del extracto etanólico de *Tristerix chodatianus* “Pupa”, los cuales por los resultados obtenidos podrían clasificarse como especie no toxica.

En cuanto al bioensayo de citotoxicidad en **Lactuca sativa** (Lechuga) se determinó el porcentaje (%) de citotoxicidad de acuerdo a la germinación de la semilla de lechuga en la cual se encontró un 100 % de capacidad germinativa lo que demuestra que no tienen efecto toxico sobre la capacidad germinativa del embrión y en cuanto a la medida del crecimiento radicular viendo que en los 3 grupos de ensayo se obtuvo una medida de 4,18cm, 4,18cm y 4,10cm, solo en el caso de la concentración del 1000ppm una ligera pero no significativa disminución del crecimiento radicular Tabla 9; todo esto confirma la no o baja toxicidad del extracto etanólico de la especie estudiada.

V. CONCLUSIONES

A partir del presente trabajo de investigación, podemos concluir lo siguiente:

- El extracto etanólico de *Trixteris chodatianus* “Pupa” posee actividad analgésica apreciable.
- El extracto etanólico de *Trixteris chodatianus* “Pupa” no presenta toxicidad frente a la *Artemia salina* ni frente a *Lactuca sativa* a las dosis estudiadas.

VI. RECOMENDACIONES

1. Teniendo gran diversidad de flora en el Perú, se recomienda a la comunidad académica seguir con las investigaciones de las diferentes especies conocidas y no conocidas, para determinar las diferentes propiedades terapéuticas de las mismas.
2. Proseguir con los estudios de investigación de la actividad analgésica de la especie *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt “Pupa”; utilizando otros métodos para la evaluación de la misma.
3. Proseguir con los estudios de investigación de la citotoxicidad de la especie *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt “Pupa”, por diferentes métodos para corroborar que no tiene propiedades tóxicas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chilquillo Torres H., Cervantes Macizo R. “Efecto antiinflamatorio, analgésico y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senecio canescens* (Humb. & Bonpl.)” [Tesis para optar por el título de Químico Farmacéutico] Ica - Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017
2. Albites Quispe J., Cabezudo Sayritupac, M. “Estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de la especie vegetal *Tristerix chodatianus*”. [Tesis para optar por el título de Químico Farmacéutico]. Ica - Perú: Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”. 2009.
3. Fernández-Calienes Valdés A, Mendiola Martínez J, Monzote Fidalgo L, García Parra M, Sariego Ramos I, Acuña Rodríguez D et al. “Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L.” Rev Cubana Med Trop [Internet]. 2009 [citado 20 de octubre 2019]; 61(3): 254-258. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037507602009000300009&lng=es
4. Revatta Salas L., Ferreyra Paredes C., Ramos Gamarra R., Molina Cabrera A., Chávez Orellana H. “Determinación de la actividad analgésica del extracto de hojas de *Maytenus octógona* (L’Héritier) DC.” [Trabajo de Investigación]. Ica – Perú: Universidad Nacional "San Luis Gonzaga". 2016
5. Gonzáles A., Presa M., Latorre M., Lurá M. “Detección de metabolitos Fúngicos con actividad tóxica mediante bioensayo sobre *Artemia salina*.” Rev. Iberoamericana Micología 2007;24: 59-61.
6. Galvis García J., Marcela Ocampo D., Ocampo R., Gutiérrez-Cárdenas P. “Actividad tóxica de los extractos de la corteza de tallo de *Annona cherimolioides* (Annonaceae) sobre *Artemia salina*” bol. cient. mus. hist. nat. 2012. 16 (2): 17 – 22
7. Ponce R., Cabana M., Vaira M., Giunta S. “Bioensayos para determinar la toxicidad y la bioactividad de alcaloides de *Coronopus dydimus*” Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 2007; 6: 268-269.

8. Bohórquez-Echeverry P., Campos-Pinilla C. “Evaluación de *Lactuca sativa* y *Selenastrum capricornutum* como indicadores de toxicidad en aguas”. Revista de la Facultad de Ciencias, 2007; 12: 83-98.
9. Teodoro G., Camel V., Berg E. “Distribución de la hemiparásita *Tristerix chodatianus* en los bosques de *Polylepis* en Laraos – Perú” Researchgate.net [Sede Web] Perú; 2017 [Noviembre 2017][Citado 20 de Octubre 2019]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/320806867_Distribucion_de_la_hemiparasa_ita_Tristerix_chodatianus_en_los_bosques_de_Polylepis_en_Laraos_-_Peru
10. Pérez M., Jimenez E., Boffill M., Gonzáles D., Verdecía B., Blanco F. “Evaluación de la toxicidad Aguda de un Extracto de *Boldoa Purpurascens Cav.* por el Método de las Clases. At. Am. J. Pharm.” [Internet] 2008[Citado el 20 de Octubre 2019] 27 (2): 250-254. Disponible: http://www.latamjpharm.org/trabajos/27/2_2_5_MJAVE6D8.
11. Chávez L., Gutiérrez D. “Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum Vulgare L.*, Palma Real” [Tesis para optar al Título profesional de Químico Farmacéutico] Lima – Perú: Universidad Wiener, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2013.
12. Arencibia D., Rosario L., Curveco D. “Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia, algunas consideraciones y su utilidad. “Retel”, revista de toxicología en línea, 2009, pág.40-52.
13. Pino O., Jorge F. “Ensayo de Artemia: útil herramienta de trabajo para ecotoxicológicos y químicos de productos naturales”. Rev. Protección Veg., 2010, 25(1).
14. Toro V. “Evaluación de la actividad analgésica aguda y crónica de *Phytolacca dioica*”. [Memoria para optar al título de Químico Farmacéutico]. Santiago, Chile: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas; 2009.
15. González y Muñoz M. “La atribución al dolor y su relación con el diagnóstico médico y algológico en pacinetes con dolor crónico [Tesis Doctoral]. Ciudad de México: Universidad Iberoamericana, 2005.
16. Pérez A. “Efectos Secundarios de los antiinflamatorios no esteroideos” [Internet] Unidad de Digestivo, Agencia Sanitaria Costa del Sol, Maberlla, Málaga. 2012

- [Citado el 21 de octubre 2019]. Disponible en:
https://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/documento-grupo/antiinflamatorios_no_esteroides_aines.pdf
17. Divins M. “Analgésicos”. [Internet] Farmacia Profesional, 2015 [Citado 21 de octubre 2019] 29(6): 17-21. Disponible: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-analgescicos-X0213932415442083>
 18. Lavich T., Cordeiro R., Silva P., Martins M., “A novel hot-plate test sensitive to hyperalgesic stimuli and non-opioid analgesics” [Internet] Braz J Med Biol Res, 2005 [Citado 21 de Octubre 2019]. 38(3): pág. 445-451. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2005000300016
 19. McDonald J., Chen B., Kwan W. “Analgesia y anestesia en obstetricia. Diagnóstico y Tratamiento Gineco Obstétricos” [Internet]. 2014. [Citado el 22 de octubre 2019] 11: Capítulo 24. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1494§ionid=98126957#undefined>
 20. Arencibia D., Rosario L., Curveco D. “Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia, algunas consideraciones y su utilidad”. Retel, revista de toxicología en línea, 2009: pág.40-52.
 21. Bioartemia.com, Ecuador: Theme Freesia; 2017 [Actualizado 03 marzo 2017; citado el 22 de octubre 2019]. Disponible en: <https://www.bioartemia.com/2017/03/03/biologia-de-la-artemia-sp/>
 22. Divins M. Analgésicos opiáceos. [Internet] Farmacia profesional, 2012 [Citado 22 de octubre 2019] 26(1): pág. 22-26. Disponible: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-X021393241294115>
 23. Saldaña L. “Toxicidad aguda del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao” en ratones albinos Balb/C”. [Tesis para optar por el título de Químico Farmacéutico]. Iquitos – Perú: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 2019.
 24. Cuesta L., Sánchez K. “Aspectos éticos de la experimentación con animales”. [Internet] Cbioetica.org, 2007. Disponible en: <http://cbioetica.org/revista/72/722527.pdf> [Citado el 22 octubre 2019].

25. Reyes L., Carruyo J., Plata D. “Bioética de la Investigación en Experimentación con Animales”. [e-book] Venezuela: Universidad del Zulia, Facultad de Medicina 2019, 16: pág. 87-94. Disponible en: <https://www.redalyc.org/html/904/90450808011/> [Citado el 22 de octubre 2019].
26. Lock O. “Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales”. Perú: Pontificia universidad Católica del Perú; Fondo Editorial, 1994, 2ª ed.

VIII.ANEXOS

ANEXO N°01

ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR PARA LOS PROMEDIOS DE ANALGESIA

Análisis de varianza de un factor para los promedios de analgesia

RESUMEN

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|-----------|--------|--------|----------|----------|
| Columna 1 | 4 | 1240 | 310 | 59066.67 |
| Columna 2 | 4 | 352.17 | 88.0425 | 3178.243 |

ANÁLISIS DE VARIANZA

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|---------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 98530.26 | 1 | 98530.264 | 3.16589 | 0.125499 | 5.98738 |
| Dentro de los grupos | 186734.7 | 6 | 31122.455 | | | |
| Total | 285265 | 7 | | | | |

ANEXO N°02: MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA Y CITOTOXICIDAD DEL EXTRACTO ETANOLICO DE HOJAS DE LA ESPECIE *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt “Pupa”.


| Problema general | Objetivo general | Marco teórico | Hipótesis general | VARIABLES | Metodología |
|--|--|---|---|---|---|
| ¿Presentará el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de la especie vegetal <i>Tristerix chodatianus</i> (Patsch.) Kuijt “Pupa” actividad analgésica y citotoxicidad? | Determinar si el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de la especie <i>Tristerix chodatianus</i> (Patsch.) Kuijt “Pupa” presenta actividad analgésica y citotoxicidad | Muchos grupos de investigación se dedican a evaluar extractos vegetales como estrategia para hallar nuevas alternativas terapéuticas frente a distintas afecciones; pese a que muchos extractos vegetales tienen propiedades benéficas podrían tener potencial tóxico, por lo que es importante en primera instancia poder determinar la toxicidad de los mismos. Asimismo, La actividad analgésica es una importante actividad farmacológica, la cual combate el dolor y la inflamación que son dos de los síntomas que acompañan a la mayoría de las enfermedades siendo las causas más frecuentes de consulta médica. | El extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie vegetal <u><i>Tristerix chodatianus</i></u> “PUPA” presentará actividad analgésica y no presentará citotoxicidad. | INDEPENDIENTE: Extracto etanólico de hojas de <i>Tristerix Chodatianus</i> “Pupa”. Indicador: Concentrado del extracto etanólico de hojas de <i>Tristerix chodatianus</i> “Pupa” Índice: Concentrado del extracto etanólico de hojas de <i>Tristerix chodatianus</i> “Pupa”. | Tipo, nivel y diseño de la investigación Tipo: Aplicada Nivel: Cuasiexperimental Diseño: Libre Población: -Nauplios de <i>Artemia salina</i> -Ratones albinos |

| Problemas específicos | Objetivos específicos | Marco teórico | Hipótesis específica | Variables | Metodología |
|--|---|--|---|---|---|
| ¿Presentará el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de la especie vegetal <i>Tristerix chodatianus</i> (Patsch.) Kuijt “Pupa” actividad analgésica? | Determinar si el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de la especie <i>Tristerix chodatianus</i> (Patsch.) Kuijt “Pupa” presenta actividad analgésica. | El dolor es la experiencia sensorial y emocional desagradable provocada por la estimulación perjudicial de las terminaciones nerviosas sensitivas. Si se recurre a la Fitoterapia, como alternativa terapéutica, encontraremos a los flavonoides, metabolitos que ocupan un lugar muy importante dentro de esta rama, y que son muy reconocidos por su relación con las propiedades analgésicas y antiinflamatorias. Permitiendo a la población disponer de acceso a alternativas terapéuticas | El extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie vegetal <i>Tristerix chodatianus</i> “PUPA” presentará actividad analgésica | DEPENDIENTE: Citotoxicidad Indicador: Ensayo de cito toxicidad con <i>Artemia salina</i> Índice: % de letalidad | Ensayo de citotoxicidad con <i>Artemia salina</i> |

| Problemas específicos | Objetivos específicos | Marco teórico | Hipótesis específica | Variables | Metodología |
|---|--|---|---|--|--|
| ¿Presentará el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de la especie vegetal <i>Tristerix Chodatianus</i> (Patsch.) Kujit “Pupa” citotoxicidad? | Determinar si el extracto etanólico obtenido a partir de las hojas de la especie <i>Tristerix chodatianus</i> (Patsch.) Kujit “Pupa” presenta citotoxicidad. | Uno de los biomodelos empleados en las etapas preliminares de la investigación fitoquímica, es el bioensayo con <i>Artemia salina</i> , desarrollado en 1982, <i>Artemia salina</i> es un crustáceo sensible a un amplio rango de compuestos con actividad biológica y de muy diversas estructuras químicas. El procedimiento consiste en exponer compuestos activos y/o extractos de plantas a nauplios de <i>Artemia salina</i> . | El extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie vegetal <i>Tristerix chodatianus</i> “PUPA” no presentará cito toxicidad. | Actividad analgésica Indicador: Método de reacción al calor “HOT PLATE o placa caliente” Índice: % de Analgesia; Potencia analgésica | Método de reacción al calor “HOT PLATE o placa caliente” |

ANEXO N°03

Clasificación taxonómica de *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt "Pupa"

 UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 128-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa) recibida de César Leonardo ANICAMA LIZARZABURO, estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, sido estudiada y clasificada como: *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1958).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: SANTALES

FAMILIA: LORANTHACEAE


GENERO: *Tristerix*

ESPECIE: *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt

Nombre vulgar: "Pupa"
Determinado por: Bigo. Severo Beldeón Malpartida

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 17 de abril de 2018

 **Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA**
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACT:688

As. Jancón 2016, Revisión
Agda. J. Saldaña, Lima 14, Perú

Teléfono:
021-2889990 ext. 5172, 5173, 5174

Correo electrónico: herbario@unmsm.edu.pe
herbario@unmsm.edu.pe

ANEXO N°04

FOTOGRAFIAS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Imagen 1. Muestra vegetal *Tristerix chodatianus* “Pupa”

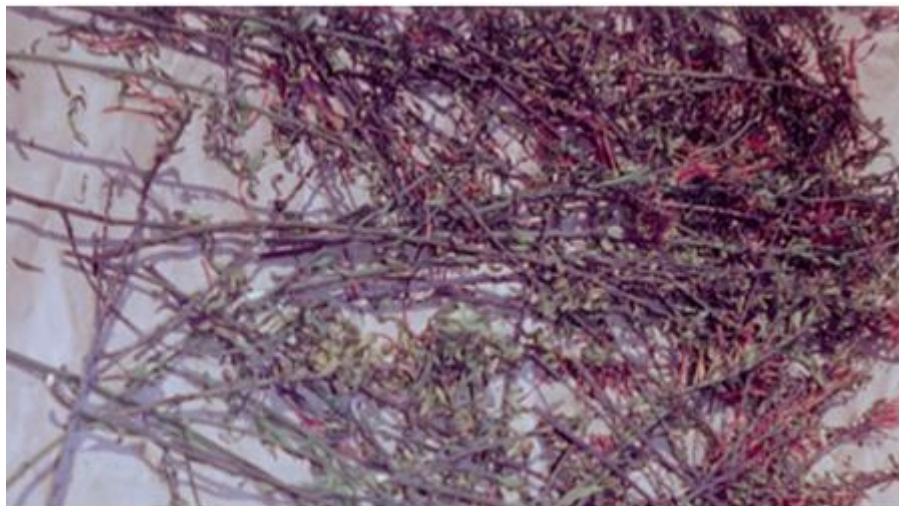


Imagen 2. Muestra vegetal seca



Imagen 3. Maceración de la muestra vegetal



Imagen 4. Concentración



Imagen 5. Filtración



Imagen 6. Extracto etanólico



Imagen 7. Administración de dosis en ratones albinos - Actividad analgésica



Imagen 8. Prueba Hot Plate en ratones albinos – Actividad analgésica



Imagen 9. Preparación de disoluciones de extracto etanólico de *Tristerix chodatianus* (Patsch.) *Kuijt* “Pupa” – Prueba de citotoxicidad



Imagen 10. Nauplios de *Artemia salina* vivos - Ensayo de citotoxicidad

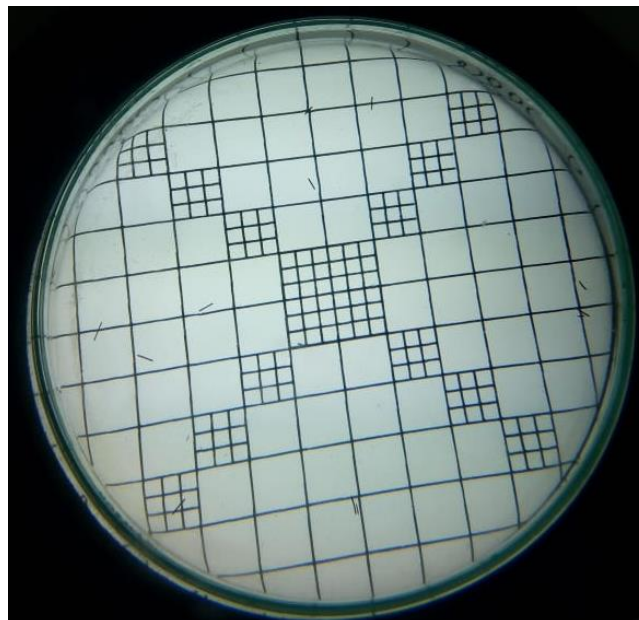
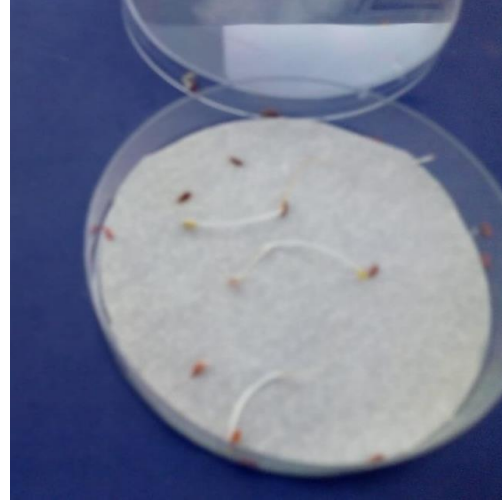
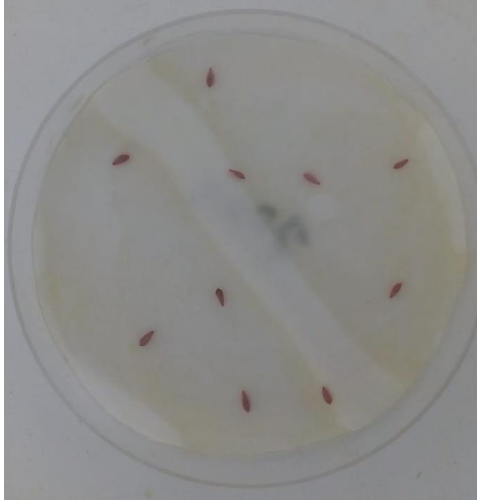




Imagen 11. Ensayo de citotoxicidad en *Lactuca sativa* (Lechuga)



ANEXO N°04
CONSTANCIAS Y DECLARACIONES JURADAS DE ASESORES



UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS
GONZAGA" DE ICA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

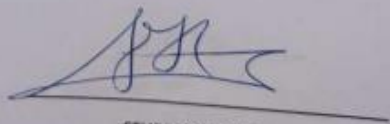
DECLARACIÓN JURADA

Yo, Felipe A. Surco Laos, identificado con D.N.I 21466230 docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

DECLARO BAJO JURAMENTO:

Que siendo asesor de la tesis titulada: **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA Y CITOTOXICIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE LA ESPECIE *Triterix Chodatianus* (Patsch.) Kujit "Pupa"**, para optar por el título profesional de QUÍMICO FARMACÉUTICO, es un tesis original e inédita de la propiedad del bachiller César Leonardo Anicama Lizarzaburo.

Ica, 12 de Mayo del 2022


FELIPE SURCO LAOS
D.N.I. 21466230

CONSTANCIA

Quien suscribe Q.F. Felipe A. Surco Laos, asesor adscrito al departamento de Ciencias Químicas de la Facultad de Farmacia y Bioquímica:

Doy constancia de que:

He revisado el proyecto de tesis titulado "ESTUDIO FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE LA ESPECIE *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt "Pupa", desarrollado por el alumno Anicama Lizarzaburo César Leonardo al cual asesoro. Califico el presente trabajo de apropiado y apto para su presentación y desarrollo, previos trámites respectivos.

La presente se firma a los once días del mes de mayo del año dos mil veintidós.

Ica, 12 de mayo de 2022


FELIPE SURCO LAOS
D.N.I. 21466230



UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS
GONZAGA" DE ICA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



DECLARACIÓN JURADA

Yo, Santos Haydeé Chávez Orellana, identificado con D.N.I. 21449243 docente principal de la Cátedra de Química Farmacéutica del Departamento Académico de Química Farmacéutica, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

DECLARO BAJO JURAMENTO:

Que siendo asesora de la tesis titulada: **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA Y CITOTOXICIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE LA ESPECIE *Triterix Chodatianus* (Patsch.) Kujit "Pupa"**, para optar por el título profesional de QUÍMICO FARMACÉUTICO, es un tesis original e inédita de la propiedad del bachiller César Leonardo Anicama Lizarzaburo.

Ica, 12 de Mayo del 2022


SANTOS HAYDEÉ CHÁVEZ ORELLANA
D.N.I. 21449243

CONSTANCIA

Quien suscribe Q.F. Santos Haydeé Chavez Orellana, asesora adscrita al departamento académico de Química Farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica:

Doy constancia de que:

He revisado el proyecto de tesis titulado Evaluación de la Actividad Analgésica y Citotoxicidad del Extracto Etanólico de Hojas de la especie *Tristerix Chodatianus* (Patsch.) Kujt "Pupa", desarrollado por el alumno Anicama Lizarzaburo César Leonardo al cual asesoro. Califico el presente trabajo de apropiado y apto para su presentación y desarrollo, previos trámites respectivos.

La presente se firma a los once días del mes de mayo del año dos mil veintidós.

Ica, 12 de mayo de 2022


SANTOS HAYDEÉ CHAVEZ ORELLANA
D.N.I. 21449243



UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



DECLARACIÓN JURADA

Yo, Carmela Ferreyra Paredes, identificada con D.N.I. 21436257
docente principal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

DECLARO BAJO JURAMENTO:

Que siendo asesora de la tesis titulada: **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANALGÉSICA Y CITOTOXICIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE LA ESPECIE *Triterix Chodatianus (Patsch.) Kuijt "Pupa"***, para optar por el título profesional de QUÍMICO FARMACÉUTICO, doy fe que es un trabajo original e inédito de la propiedad del bachiller César Leonardo Anicama Lizarzaburo.

Ica, 12 de Mayo del 2022

CARMELA FERREYRA PAREDES

D.N.I. 21436257

CONSTANCIA

QUIEN SUSCRIBE, Mg. Q.F. CARMELA FERREYRA PAREDES, PROFESORA PRINCIPAL DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA

HACE CONSTAR:


Que la Tesis “Evaluación de la actividad analgésica y citotoxicidad del extracto etanólico de hojas de la especie *Tristerix Chodatianus* (Patsch.) Kuijt “Pupa”, realizada por el Bachiller ANICAMA LIZARZABURO, CESAR LEONARDO, ha sido culminada y revisada por mi persona encontrándose apta para su presentación, nombramiento de Jurado y posterior sustentación.

Ica, 13 de Mayo del 2022



Mg. Q.F. Carmela Ferreyra Paredes

ANEXO N°05
CERTIFICACIÓN DEL CÓMITE DE ÉTICA


UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

CERTIFICADO

CEI-UNICA N°: 005/09-2022

El que suscribo, certifica que el trabajo de investigación titulado:

Evaluación de la Actividad Analgésica y Citotoxicidad del Extracto Etanólico de Hojas de la especie *Tristerix chodatianus* (Patsch.) Kuijt "Pupa".

del autor: **Anicama Lizarzaburo, Cesar Leonardo**

Cumple con los procedimientos de manejo de animales de experimentación establecidos en el Reglamento del Comité de Ética para la investigación con seres humanos, animales y plantas de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga", aprobado con R.R. N° 1305-R-UNICA-2020.

Se expide el presente a los 13 días del mes de setiembre del 2022.

Dr. Juan C. Tantaleán
Presidente CEI-UNICA

Código: CEI-006
Versión: 01
Fecha: 06-08-2021