



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

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

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUIMICO FARMACÉUTICO

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, ANALGÉSICA Y
TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA ESPECIE
Tiquilia paronychioides (flor de arena)

AUTOR

MENDOZA RAMIREZ, ARTURO JIMMY

ICA - PERÚ

2020

DEDICATORIA

Primero doy gracias Dios por hacer posible el término de esta tesis, por darme unos padres, asesores y amigos, quienes fueron un apoyo incondicional para mi formación, logros y términos de mis metas.

A mi padre por estar conmigo en momentos difíciles, por su comprensión y brindarme su confianza en todo el recorrido de mi carrera.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por permitirme terminar la tesis.

A mi familia, por estar presente en mi formación y guiarme con sus consejos para seguir avanzando.

A mis asesores Dra. Q.F. Santos Haydee Chávez Orellana, Dr. Q.F. Jorge Antonio Garcia Ceccarelli y Dr. QF. Felipe Surco Laos; por su ayuda, confianza, consejos; por ser de buen ejemplo en mi formación universitaria. Mis asesores quienes son mis amigos, quienes me enseñaron a luchar por cumplir mis metas.

Cordialmente agradecido, con todos.

INDICE

RESUMEN	vi
ABSTRACT	viii
INTRODUCCIÓN	x
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	12
1.2. Formulación del problema.....	14
1.3. Justificación e importancia.....	14
1.4. Objetivos de la investigación.....	15
1.5. Hipótesis y variables.....	16
1.5.1. Hipótesis.....	16
1.5.2. Variables y operacionalización.....	16
CAPÍTULO II. BASES TEÓRICAS	18
2.1. Antecedentes de la investigación.....	18
2.1.1. Nacionales.....	18
2.1.2. Internacionales.....	20
2.2. Marco teórico.....	22
2.3. Marco conceptual.....	39
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	43
3.1. Materiales y equipo de laboratorio.....	43

3.2. Metodología.....	45
3.2.1. Diseño de investigación.....	45
3.2.2. Población y muestra.....	45
3.2.3. Técnica y procedimientos de recolección de datos.....	45
3.2.4. Tamizaje fitoquímico.....	46
3.2.5. Estudio farmacológico.....	51
3.2.6. Evaluación de toxicidad aguda oral.....	52
3.2.7. Evaluación de la actividad antioxidante.....	54
3.2.8. Técnica de procesamiento de la información.....	56
3.2.9. Principios éticos en la investigación.....	57
CAPÍTULO IV.....	58
4.1. Resultados.....	58
4.2. Discusión.....	61
CONCLUSIONES.....	63
RECOMENDACIONES.....	64
FUENTES BIBLIOGRÁFICAS.....	65
ANEXO.....	69

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antioxidante, analgésica y determinar toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Tiquilia paronychioides* “Flor de arena”. **Método:** El extracto de hojas, tallos y flores se obtuvo por maceración en etanol de 96° durante 14 días, se filtró y evaporó el solvente utilizando un evaporador rotatorio. Se identificaron los grupos de metabolitos secundarios mediante un tamizaje fitoquímico. La capacidad captadora de radicales libres del extracto se evaluó por el método de inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Mientras que la actividad analgésica en animales de experimentación por el método de la placa caliente (Hot Plate). La toxicidad aguda se evaluó en ratones albinos cepa Balb/C53/CNPB, usando el método de las clases, según la OCDE 423. **Resultados:** Se identificaron flavonoides, grupos fenólicos y aminos libres, triterpenoides y/o esteroides y catequinas. En la actividad antioxidante por el método DPPH, la concentración efectiva media (IC₅₀) fue de 4,31 mg/mL. El mayor % de actividad analgésica, de los extractos a diferentes dosis, es de 51,69% a dosis de 750 mg/Kg, siendo menor al control positivo (tramadol 100mg). La toxicidad es superior a 2000 mg/Kg, lo que indica que la DL₅₀ estaría sobre 2000 mg/Kg. **Conclusiones:** La especie *Tiquilia paronychioides* presentó actividad antioxidante con (IC₅₀) de 4,31mg/mL, mayor actividad analgésica a dosis de 750 mg/Kg, y no presentó toxicidad aguda a dosis de 2000 mg/Kg.

Palabras claves: *Tiquilia paronychioides.*, actividad analgésica, actividad antioxidante, toxicidad aguda.

ABSTRACT

Objective: Evaluate the antioxidant and analgesic activity and to determine the acute toxicity of the ethanolic extract of the species *Tiquilia paronychioides* "Flor de arena". **Method:** The extract of leaves, stems and flowers was obtained by maceration in 96° ethanol for 14 days, the solvent was filtered and evaporated using a rotary evaporator. The secondary metabolite groups were identified by phytochemical screening. The free radical scavenging capacity of the extract was evaluated by the inhibition method against the free radical 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). While the analgesic activity in experimental animals by the Hot Plate method. Acute toxicity was evaluated in albino mice strain Balb/C53/CNPB, using the method of classes, according to OECD 423. **Results:** Flavonoids, phenolic groups and free amines, triterpenoids and/or steroids and catechins were identified. In antioxidant activity by the DPPH method, the mean effective concentration (IC₅₀) was 4.31 mg/mL. The highest % of analgesic activity, of the extracts at different doses, is 51.69% at a dose of 750 mg/kg, being lower than the positive control (tramadol 100mg). The toxicity is higher than 2000 mg/Kg, indicating that the LD₅₀ would be over 2000 mg/Kg. **Conclusions:** *Tiquilia paronychioides* species presented antioxidant activity with (IC₅₀) of 4.31mg/mL, higher analgesic activity at doses of 750 mg/Kg, and didn't present acute toxicity at doses of 2000 mg/Kg.

Key words: *Tiquilia paronychioides*, analgesic activity, antioxidant activity, acute toxicity.

INTRODUCCIÓN

Las plantas en el transcurso de los años son utilizadas para tratar variedad de enfermedades, siendo una alternativa para el desarrollo de la fitoterapia y fitomedicina (Hernández Rodríguez, 2005)¹, de esta manera se constituyen en un valioso aporte en la medicina complementaria de los centros de salud del Perú.

La OMS "Organización Mundial de la Salud" tiene como concepto 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". Otro concepto importante es la fitomedicina, ciencia que transforma las plantas, con efecto terapéutico, en medicamentos, estas tienen que ser sometidos previamente a ensayos clínicos y otros estudios, debido a que la administración de una planta debe cumplir los principios de calidad, eficacia y seguridad (Torres Camacho y Castro Cañaviri, 2014)².

La fitomedicina también puede ser utilizada para tratar dolores somáticos o viscerales, se entiende como dolor a una manifestación subjetiva que causa desagrado, esta sensación es captado por receptores llamados nociceptores. El dolor si es intenso, responden a mediadores inflamatorios como prostaglandinas, serotonina, histamina, interleucinas y otros sistemas de regulación, esto se ve reflejado en una sensibilización de los nociceptores y neuronas somatosensoriales (Chopade Ar, 2013)³. En la actualidad se utiliza

diversas formas para calmar esta experiencia desagradable llamada dolor, utilizando fármacos, medicina complementaria y fisioterapias.

Con el fin de aportar conocimiento a la fitomedicina y fitoterapia, se evaluó la actividad antioxidante, analgésica y toxicidad aguda de la especie *Tiquilia paronychioides*.

En la actualidad la especie *Tiquilia paronychioide* es utilizada como depurativa o desintoxicante natural en el Centro de Medicina Tradicional y complementaria del Hospital Felix Torrealva de la ciudad de Ica. También es utilizada como medicina natural para problemas de litiasis, inflamación de la próstata y problemas estomacales.

No existen estudios actuales que demuestren la actividad antioxidante y analgésica, pero se encontraron estudios de toxicidad aguda. Por este motivo nació el interés del autor en evaluar la actividad antioxidante, analgésica y la toxicidad aguda de la especie *Tiquilia paronychioides*.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

1.1. Descripción de la realidad problemática.

La medicina tradicional es una de las principales prácticas en los servicios de salud, siendo una alternativa para los países en desarrollo que no cuentan con condiciones básicas de salud, ya que es muy asequible porque está presente en todo lugar (Estrategias de la OMS sobre medicina tradicional, 2013)⁴.

En Estados Unidos pacientes con enfermedades reumáticas consultan a los médicos osteópatas, representando el 23% de las visitas en un año. Pacientes con esclerosis múltiples recurren a tratamientos de medicinas complementarias y alternativas: 41 % en España, 82 % en Australia y 70 % en Canadá (Estrategias de la OMS sobre medicina tradicional, 2013)⁴.

En diversos departamentos del Perú, se encuentran diversas plantas con propiedades terapéuticas no comprobadas científicamente, siendo utilizadas de forma irracional, sin ningún conocimiento de seguridad y eficacia. Según el informe de Producción de Las Farmacias Naturales de Medicina Complementaria - 2017, hasta el 2017 en ESSALUD contaba con 29 centros de atención de medicina complementaria y el número de pacientes atendidos solo en el 2017 fue de más de 88.000 pacientes

(Informe de Producción de las Farmacias Naturales de Medicina Complementaria, 2017)⁵.

Ica, es uno de los departamentos de Perú en donde existe una variedad de plantas con propiedades terapéuticas, que no cuentan con estudios científicos; la mayoría de plantas son utilizadas por conocimiento empírico o por costumbre y cultura (Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia-La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú, 2015)⁶.

Con el fin de explicar de forma racional el uso terapéutico de diversas plantas, han surgido en los últimos años investigaciones preliminares de actividad farmacológica, toxicidad y antioxidante, entre otros estudios. Sin embargo, aún se desconoce el uso terapéutico de muchas plantas (Informe de Producción de las Farmacias Naturales de Medicina Complementaria, 2017)⁵.

La medicina natural es una alternativa a los medicamentos sintéticos que causan daños. Los analgésicos por ejemplo constituyen uno de los grupos de fármacos más utilizados en la actualidad, pero un aumento de dosis o si se toman por largos periodos conlleva a efectos adversos como gastritis y hepatotoxicidad (Vallejo Narvaéz, 2015)⁷.

Este trabajo es un aporte para futuras investigaciones sobre *Tiquilia paronychioides* de nombre común “flor de arena”; esta especie crece abundantemente en la localidad de Rosario de Yauca, provincia y

departamento Ica, donde los pobladores lo utilizan para la inflamación y dolor de la próstata; lo que motiva este estudio como la búsqueda de nuevas fuentes de analgésicos naturales que pueden llevar al desarrollo de fármacos con utilidad terapéutica potencial para el tratamiento de este síntoma; sin embargo, no hay evidencia científica sobre su efecto analgésico, antioxidante y toxicidad.

En este trabajo se busca identificar cuáles son los metabolitos secundarios, comprobar las actividades analgésicas, antioxidante y evaluar su toxicidad aguda presentes en el extracto etanólico. La especie *Tiquilia paronychioides*, no reporta estudios sobre su efecto analgésico, lo que motiva la búsqueda de nuevas fuentes de analgésicos naturales que pueden llevar al desarrollo de fármacos con utilidad terapéutica potencial para el tratamiento de este síntoma.

1.2. Formulación del problema.

¿Posee actividad antioxidante, analgésica y toxicidad aguda el extracto etanólico de la especie *Tiquilia paronychioides*?

1.3. Justificación e importancia.

Tiquilia paronychioides o Flor de Arena es de origen costeño en Perú, dicha planta crece en la ciudad de Ica. Tiene pocos estudios realizados, a pesar de su uso por parte de los pobladores como una alternativa en la medicina tradicional. Al existir escaso conocimiento sobre las propiedades

terapéuticas de *Tiquilia paronychioides* se decidió investigar la actividad analgésica, antioxidante y su toxicidad aguda; tomando como bases conocimientos de estudios preliminares de actividades realizadas, las mismas que sirven para esta y otras futuras investigaciones. Buscando que contribuir en el beneficio de los pobladores de Ica, planteamos el presente trabajo, además que el presente estudio sirva como fuente de información para futuras tesis o trabajos de investigación que ayuden a respaldar el uso de esta especie vegetal en la medicina tradicional.

1.4. Objetivos de la investigación.

General:

- Evaluar la actividad analgésica, antioxidante y toxicidad aguda del extracto etanólico de hojas, tallos y flores de la especie *Tiquilia paronychioides*.

Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas, tallos y flores de la especie *Tiquilia paronychioides*.
- Determinar el efecto analgésico del extracto etanólico de hojas, tallos y flores de la especie *Tiquilia paronychioides* en ratones cepa Balb/C53/CNPB.

- Determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de hojas, tallos y flores de la especie *Tiquilia paronychioides* en ratones cepa Balb/C53/CNPB.
- Establecer la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto etanólico de hojas, tallos y flores de la especie *Tiquilia paronychioides*.

1.5. Hipótesis y variables

1.5.1. Hipótesis

El extracto etanólico de la especie *Tiquilia paronychioides* presenta actividad antioxidante, analgésica y toxicidad aguda.

1.5.2. Variables y operacionalización

- Variable independiente: Extracto etanólico de la especie *Tiquilia paronychioides*
- Variable dependiente: Actividad antioxidante, analgésica y toxicidad aguda del extracto etanólico de la especie *Tiquilia paronychioides*.

Variable	Indicadores	Índice
Variable independiente		
Extracto etanólico de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i> .	Metabolitos secundarios	Reacciones de coloración y precipitación
Variable dependiente		
Actividad Analgésica	Tiempo de reacción	segundos
Actividad antioxidante	Método de DPPH	IC ₅₀
Toxicidad aguda	Peso de ratones	Promedio de pesos en g

CAPÍTULO II

BASES TEÓRICAS

2.1. Antecedentes

2.1.1. Nacionales

Trujillo, (2018) en su investigación, tuvo como objetivo determinar el efecto diurético de las hojas de *tiquilia paronychoides*, en ratones (*Rattus rattus* var. *Albinus*). En su metodología, indujo diuresis con el método de Lipschitz (25 mL/Kg), trabajando con 4 grupos de 24 especies; para determinar el efecto diurético se administró a dosis de 100 mg/kg y 200 mg/Kg el infuso de hojas de la planta estudiada, siendo estas dosis comparadas con el grupo de furosemida 10 mg/Kg, estas dosis fueron administrada por sonda orogástrica. Obteniendo como resultado que la dosis de 200 mg/kg de *Tiquilia paronychioide*, tiene mayor efecto que la dosis de 100 mg/kg (Trujillo Rodriguez, 2018)⁸.

El Instituto de medicina tradicional (2017), realizó tres protocolos que obtuvieron la aceptación del INS, por un comité de ética en investigación en animales; en dichos protocolos se evaluó la citotoxicidad de las especies *Desmodium molliculum*, *Tiquilia paronychoides*, *Gentianella alborosea*, *Berberis vulgaris* y *Schukurhia pinnata*, utilizando como unidades experimentales las

larvas del crustáceo *Artemia salina*. En los resultados se hallaron que solo las especies *Berberis vulgaris* y *Schukurhia pinnata*, tienen efecto tóxico altos⁹.

Huamán (2013) en su trabajo, tuvo como objetivo determinar el efecto *Tiquilia paronychioide* (flor de arena) como antiinflamatorio de hiperplasia benigna de próstata, haciendo de este un extracto acuoso de hojas. Para dicho estudio utilizó ratones, los cuales fueron inducidos por enanato, para obtener hiperplasia de próstata en ratones, utilizó 5 grupos de ratones a los cuales se les administró por vía oral durante 14 días; al grupo uno y dos suero fisiológico y grupos tres, cuatro y cinco el extracto a dosis de 50, 200 y 500 mg/kg en ese orden. Se obtuvieron los siguientes resultados, en los grupos tres, cuatro y cinco los niveles séricos de TBARS se redujeron respecto al grupo dos; no obstante, no mostró diferencia significativa en la próstata, al grupo cinco el índice prostático disminuyó; en los grupos que recibieron el extracto los niveles de PSA se redujeron, se concluyó que especie en estudio redujo la hiperplasia de próstata (Huamán Gutiérrez, 2013)¹⁰.

Artemio, Klinar, Castillo y Peralta (2009) en la investigación sobre Screening fitoquímico de *Gentianella alborosea*, *Desmodium sp.* y *Tiquilia paronychioides*. Utilizaron muestras de hojas recolectadas

en la ciudad de Lima, el método de extracción fue por macerado y reflujo, para finalmente analizar los compuestos por screening fitoquímico. Los resultados obtenidos para *tiquilia paronychoide* fueron positivos para triterpenos y/o esteroides y flavonoides (Artemio Chang, 2009)¹¹.

2.1.2. Internacionales

Boom (2018) en su trabajo, Evaluación de la Actividad Antioxidante de Aceites Esenciales de Eucaliptos Cultivados en Colombia. Tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante de aceites esenciales obtenidos a partir de eucaliptos, los métodos utilizados fueron: fenoles totales, poder antioxidante reductor de hierro, método DPPH y capacidad de absorción de radicales de oxígeno. Se concluye que los compuestos químicos de mayor concentración en las especies de eucalipto fueron el eucaliptol y el α -pineno, con valores superiores al 41% y al 7% respectivamente (Boom A, 2018)¹².

Mena (2017) en su investigación, Actividad gastroprotectora y toxicidad aguda del extracto de hojas de *Cnidocolus Chayamansa* Mc Vaugh. Tuvo como objetivo evaluar la actividad gastroprotectora y la toxicidad aguda del extracto mediante un estudio preclínico. El método a utilizar para determinar el efecto gastroprotector fue por modelo experimental de úlcera gástrica inducida por etanol

absoluto, se formaron cinco grupos experimentales de ocho animales cada uno, al grupo I (control negativo), grupo II (Control positivo), grupo III, IV y V (100, 200 y 400 mg/Kg); y la toxicidad aguda oral mediante el procedimiento de dosis fija. Obteniendo como resultado, el peso, como indicador de toxicidad, se comportó dentro de los parámetros de crecimiento. Se observó un aumento del porcentaje de inhibición del grado de ulceración, desde 21 %, 99 y 100 % en dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg, respectivamente. Se concluye que la *Cnidoscolus chayamansa* posee actividad gastroprotectora y es inocua por vía oral (Mena Linares, 2017)¹³.

Armando (2017) en su trabajo, evaluó el posible efecto tóxico en ratas hembras, administrando un extracto etanólico de *Tephrosia vogelii* Hook; las dosis administradas fueron de 500, 1000 y 2000, provocando la mortalidad en más del 50 % de los animales, no provocó la aparición de efectos tóxicos a la dosis de 250 mg/kg. Este extracto se clasifica como categoría 3, según el método de las clases (Armando Paixao. 2017)¹⁴.

Mendoza (2016) en su investigación, tuvo como objetivo evaluar la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de la hoja de *Jatropha gossypifolia*; también se desarrolló una evaluación

fitoquímica, obteniendo como principales metabolitos: saponinas, alcaloides, fenoles, flavonoides, aminoácidos libres, coumarinas, azúcares reductores y quinonas. El método utilizado para la actividad analgésica fue: placa caliente y contorsiones inducidas por ácido acético en ratones (Mendoza Muños, 2016)¹⁵.

Por último, se llevó a cabo un estudio de toxicidad dérmica aguda. El autor concluye que el extracto hidroalcohólico de hojas de *Jatropha gossypifolia* L. posee un efecto analgésico y no presenta toxicidad.

2.2. Marco Teórico

2.2.1. *Tiquilia paronychioides* (Flor de Arena).

Es una planta de la familia Boraginácea, Se encuentra en los Andes del Perú.

a. Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

Phylum o división: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Boraginales

Familia: Boraginaceae

Género: *Tiquilia*

Especie: *Tiquilia paronychioides*.

Sinonimia científica: *Coldenia aggregata* Rusby, *Coldenia*

Paronychioides.

Sinonimia vulgar: “flor de arena”.

b. Descripción de *Tiquilia paronychioides*

Es una hierba rastrera, sus ramas tienen pelos y son de color marrón claro, el tallo es de color marrón oscuro y presenta capas blanquecinas, sus Hojas son de color verde bajo y alternas con pelos blancos pequeños, su flor blanca es tubular y pequeña, presenta frutos lisos y pequeños (Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia-La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú, 2015)⁶.

c. Usos de *Tiquilia paronychioide*

Usado tradicionalmente como antioxidante, antiinflamatorio, antipirético, contra la inflamación de la próstata, inflamación de ovarios, infecciones urinarias (Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia-La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú, 2015)⁶.

2.2.2. Dolor

IASP, “Internacional Association for the Study of Pain”, entiendo como dolor a una experiencia subjetiva irritante que experimenta un ser humano, siendo esta un daño real o potencial (León M. et al, 2019)¹⁶.

2.2.2.1. Clasificación

De acuerdo a su mecanismo se clasifican en:

a. Dolor nociceptivo

Resulta del daño visceral y somático, directo a estructuras como piel, viseras, músculos y tejido conectivo. El dolor activa a los nociceptores somáticos y viscerales; el dolor somático se caracteriza por presentar sensación tipo presión y palpitante, en cambio el dolor visceral no es bien claro al momento de hallar su localización, este es la compresión de víscera (León M. et al, 2019)¹⁶.

b. Dolor neuropático

Resulta de la lesión al sistema nervioso central o periférico, llegando a ser un dolor crónico que se manifiestan ante señales mínimas o sin señal de dolor (León M. et al, 2019)¹⁶.

De acuerdo a su intensidad se clasifica en:

a. Dolor leve, realizan actividades cotidianas.

b. Dolor moderado, interrumpe con las actividades cotidianas.

Se empieza con un tratamiento en la mayoría de casos.

c. Dolor severo, interrumpe las actividades. Se empieza con tratamiento farmacológico.

2.2.2.2. Fisiopatología

El dolor es captado por receptores llamados nociceptores. Los nociceptores son terminaciones nerviosas, que se encuentran

en todo el cuerpo. Cuando se produce una lesión se liberan agentes químicos como: sustancias P, tromboxano, iones potasio, histaminas, leucotrienos, bradikinas, serotonina, acetilcolina y factor activante de plaqueta.

En la medula espinal existen nociceptores que liberan mensajeros o neurotransmisores. Estos neurotransmisores son neuropéptido y glutamato.

Las neuronas sensoriales que perciben el dolor son activadas por diferentes medios. Por medios de sinapsis viaja potenciales de acción hasta alcanzar el tálamo y posteriormente viaja a la corteza somatosensorial la cual percibe el dolor (Zegarra Piérola, 2007)¹⁷.

El proceso neuronal de la señal del dolor es el siguiente:

Traducción, los estímulos nociceptivos se convierten en señales eléctricas. Los neurotransmisores que son liberados en la periferia permiten el “reflejo axonal”, originando cambios, conocidos como indicadores de dolor: hinchazón, tersura, enrojecimiento.

En la transmisión, los estímulos nociceptivos activan las fibras A δ y C, conduce la información a la medula espinal, después al tálamo y por último a la corteza cerebral. Las Fibras C transmiten información química, térmica, mecánica, estas

miden menos de 1.5 micras de diámetro, no son mielinizadas y conducen a 0.5-2 m/segundo.

Fibras A δ son delgadas que transmiten estímulos térmicos, miden de 1-5 micras, conducen a 2 - 20 m/segundo; contestan a alicientes mecánicos de alta intensidad, por lo cual son llamadas “mecanorreceptores de umbral alto”.

La Modulación, permite que la señal nociceptiva recibida sea inhibida mediante un sistema de modulación endógeno, modificando los signos de dolor. Mediante la liberación de neurotransmisores como beta endorfina, encefalina, se inhibe el dolor (Zegarra Piérola, 2007)¹⁷.

2.2.3. Analgésicos

Son fármacos dispensados en el tratamiento de dolor, su elección depende de la escala de dolor, edad, medicamentos asociados y otra enfermedad asociada, también depende de vía de administración y dosis. Entre las elecciones para el tratamiento terapéutico del dolor se hallan paracetamol, antiinflamatorios no esteroideos, opiáceos, metamizol. Actualmente se está replanteando el uso de opioides, así como la administración de analgésicos por el propio paciente (Flores J, 2014).¹⁸

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1986 elaboro una escala de analgesia (figura 1) para tratar el dolor según su intensidad (Vallejo A, 2015)⁷.

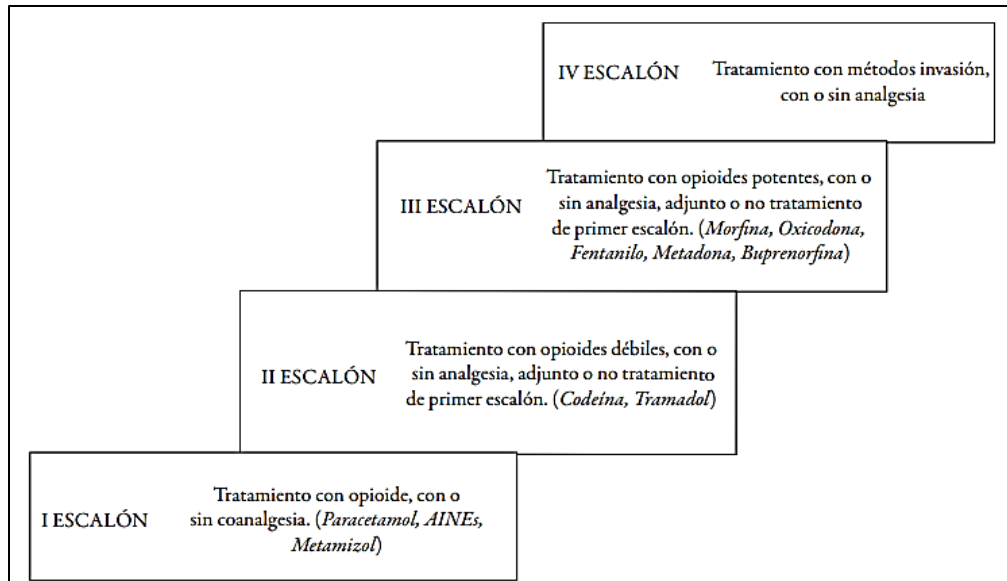


Figura 1. Escala de analgesia, según la OMS (Vallejo A, 2015)⁷.

Paracetamol

Analgésico con propiedades antipiréticas y baja propiedades antiinflamatorias; prescritos para dolores leves a moderados. Inhibe la síntesis de óxido nítrico, la COX a nivel nervios central y levemente la producción de prostaglandinas periféricas.

El paracetamol es de primera línea en pacientes hospitalizados con dolor leve a moderados combinándose en ocasiones con AINES; alcanza concentraciones plasmáticas altas a los 30 a 60 minutos y posee vía media de 2 horas (Flores Bolero, 2013).¹⁸

Metamizol

Pertenece a la familia de las pirazonas, con propiedades analgésico, antiinflamatorio y antipirético. Inhibe la ciclooxigenasa de esta manera también se inhibe la formación de prostaglandinas y tromboxano A2, GMP cíclico y apertura de canales potasio. (Flores Bolero, 2013).¹⁸

Antiinflamatorios no esteroideos

Frecuentemente utilizado en los centros de salud, por sus propiedades analgésica, antiinflamatorio y por su diversidad de formas farmacéuticas. Actúan inhibiendo la COX-1 y/o COX-2 y se clasifican según su composición química y su acción farmacológica. La COX-1 se encuentra en diversidad de tejidos, siendo importante en función plaquetaria, la conservación de la mucosa gástrica (PGE2) y flujo sanguíneo renal; la COX-2 se expresa fundamentalmente en el riñón y sistema nervioso central.

Opiáceos

Los medicamentos opiáceos tienen como blanco receptores delta, kappa y mu, estos actúan sobre el sistema nervioso central causando analgesia elevada, asimismo puede causar dependencia al medicamento o farmacodependencia. La morfina es representante principal de los analgésicos opioides, este se extrae del opio de la

adormidera *Papaver somniferum*. A través de la modificación de la morfina han surgido diferentes familias de opioides (Vallejo A, 2015)⁷.

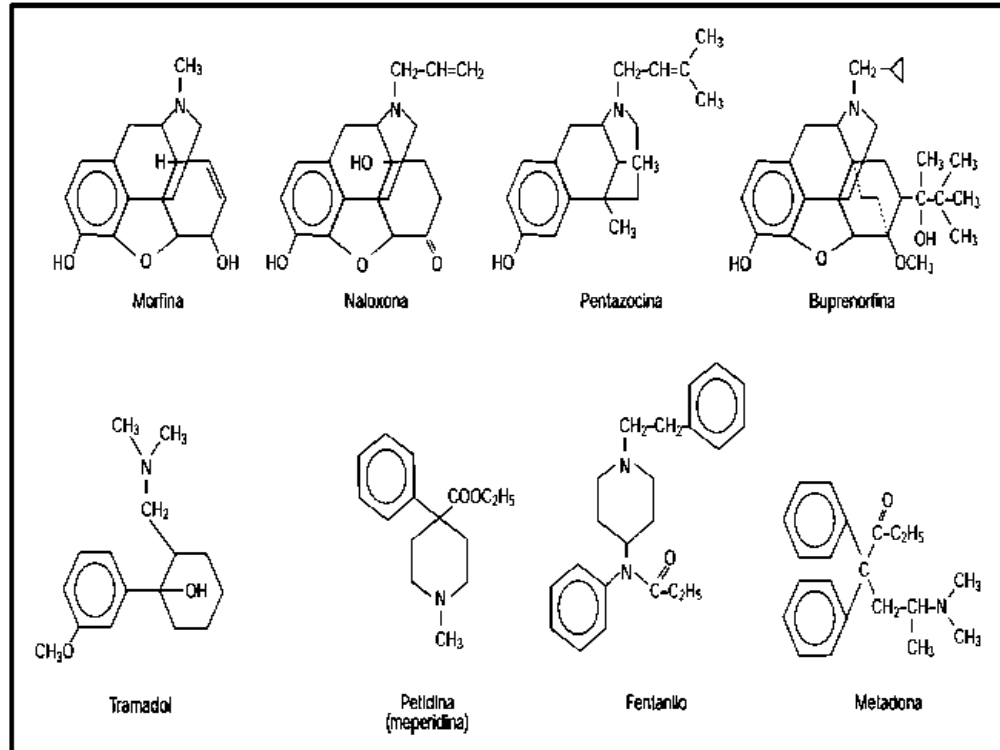


Figura 2. Estructura química de las principales familias de fármacos opioides⁷.

2.2.4. Tramadol

Es agonista de los receptores μ e inhibe la recaptación de serotonina, también es un análogo sintético de la codeína.

2.2.4.1. Mecanismo de acción

Al unirse a los receptores μ , activa mecanismos que hacen que el AMPc se reduzca a nivel intracelular, inhibiendo la adenilato-

ciclasa, encargada de modular la liberación de neurotransmisores nociceptivos como la dopamina, sustancia P, la noradrenalina y acetilcolina. La recaptación de la norepinefrina y de la serotonina en el sistema nervioso central también son inhibida por el tramadol y, de esta manera, impide la transmisión del dolor a través de la médula (Vallejo A, 2015)⁷.

2.2.4.2. Farmacocinética

El tramadol se administra por vía oral, intramuscular e intravenosa. El fármaco se absorbe rápidamente con una biodisponibilidad inicial del 68% que llega al 100% vía oral. Este aumento de biodisponibilidad del tramadol, es debido a que experimenta una metabolización hepática de primer paso saturable. La biodisponibilidad disminuye en los pacientes con insuficiencia renal o hepática y aumenta con la edad. Después de la administración intramuscular o rectal, la biodisponibilidad es del 100% y 78%, respectivamente. Las concentraciones máximas del metabolito activo se obtienen a las 3 horas después de una dosis oral, aunque el fármaco nativo es detectable a los 15-45 minutos y alcanza su máximo a las 2 horas. El efecto analgésico se mantiene durante unas 6 horas gracias al metabolito activo. La unión a proteínas es del 20%. El fármaco se excreta en la leche materna en un 0.1% y atraviesa la barrera placentaria (Vallejo A, 2015)⁷.

2.2.5. Antioxidante

Son sustancias que previenen la oxidación, siendo esta una reacción de transferencia de electrones, donde se producen radicales que ocasionan reacciones en cadenas. Este proceso causa daño celular. Los antioxidantes al tener escasos electrones dan por finalizada la reacción en cadena que provoca los radicales libres, haciendo estable la reacción.

Los antioxidantes ayudan a prevenir el estrés oxidativo y previene enfermedades causados por descompensación de radicales. Se clasifican en solubles en agua (hidrofílicos) y lípidos (hidrofóbicos), el primero está presente en el citoplasma celular y el segundo protege la membrana celular contra la peroxidación lipídica.

Entre las sustancias antioxidantes encontramos a carotenos, flavonoides, vitamina E, A y C, compuestos fenólicos y bioflavonoides. Los alimentos con altas cantidades de flavonoides han demostrado tener alta actividad antioxidante, estando presentes en las plantas, como cereales, verduras, vinos (Figueroa Diaz, Mollinedo Moncada, 2017)¹⁹.

2.2.5.1. Mecanismo antioxidante

a. Mecanismo HAT

Se inactiva el radical por transferencia de un átomo de H. En esta reacción R* es el radical libre y AH el antioxidante, como se observa:



El radical nuevo es más estable que el radical inicial.

b. Mecanismo SET

Se transfiere un electrón por parte del antioxidante, para reducir el compuesto. Siendo de nuevo R* el radical libre y AH el antioxidante, como se observa:



Como consecuencia el radical, termina reduciéndose, siendo mucho más estable (Monroy Vásques et al, 2017)²⁰.

2.2.5.2. Clasificación

a. Antioxidantes primarios

Previene la formación de ERO (especie reactiva de oxígeno). Estos antioxidantes hacen que los ERO sean menos perjudiciales. En este grupo estas las siguientes enzimas: Glutación peroxidasa (GPx), pertenece a un grupo de enzimas con actividad peroxidasa. Siendo una glicoproteína tetramérica que tiene como cofactor al selenio. Un ejemplo de este grupo de enzimas la GPx fosfolípido hidroperóxido,

encargado de proteger al organismo de contra la peroxidación lipídica y de las lipoproteínas de baja densidad. Coenzima superóxido, detiene oxidaciones elevadas de las células al modular la cantidad oxígeno que llegan.

La catalasa es una enzima que descompone peróxido de hidrogeno en oxígeno y agua, por medio de una canalización.

b. Antioxidante secundario

Actúan reduciendo la velocidad de oxidación de lípidos y desactivan metales pesados o ceden hidrogeno a los antioxidantes primarios. entre ellos tenemos a vitamina E y C: sustancias endógenas como glutatión, urato, bilirrubina y ubiquinona (Monroy Vázquez et al, 2017)²⁰.

2.2.6. Radicales libres

Especie química que su orbital externo presenta un electrón desapareado o impar. Siendo su configuración espacial inestable; son muy reactivas.

Provocan daño a nivel celular como ruptura de la membrana nuclear; mutación y destrucción del material genético. Se relaciona dichos daños con patologías como aterosclerosis, catarata, cáncer, insuficiencia renal aguda y crónica, hipertensión arterial, diabetes

mellitus, cirrosis, insuficiencia hepática, enfisema pulmonar, artritis e inflamación y envejecimiento.

Desde el punto bioquímico, son pequeñas moléculas ubiquitarias y difusibles que se producen por diferentes mecanismos.

Existen dos grupos de sustancias oxidantes:

- a. Endógenas: son formadas en el interior del curso, entre ellas enzimas como catecolaminas y riboflavina, enzimas fagocíticas o en reacciones como por ejemplo en cadena de transporte electrónico mitocondrial, enzimas citoplasmáticas.
- b. Exógenas: se producen en el exterior, entre ellas esta las radiaciones, xenobióticos como quinonas y benzopirenos, el humo del cigarro, consumo de cobre y sales de hierro, entre otros (Figuroa Diaz, Mollinedo Moncada, 2017)¹⁹.

2.2.7. DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

Es un radical conocido en abreviatura como DPPH; La molécula 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) es un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa. También se utiliza en investigaciones para evaluar la actividad antioxidante (Brand-Williams), (Figuroa Diaz, Mollinedo Moncada, 2017)¹⁹.

2.2.8. Toxicidad

Facultad por la cual una sustancia química exógena causa daño a un ser. Existen diferentes métodos para medir la toxicidad, entre ellos está el método de clases de toxicidad aguda, validado y aprobado por la OECD (Organización Económica para el Comercio y Desarrollo), donde se aprecia diferentes formas de evaluar la toxicidad, una de ellas es el procedimiento de dosis fija (Pérez y Jimenez, 2008)²¹.

2.2.8.1. Descripción del método

Se utiliza 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. No obstante, si se encuentra estudios donde los machos son más sensibles, se utilizara machos. Cuando la prueba se realiza en machos, se debe proporcionar una justificación adecuada.

Deben emplearse animales adultos jóvenes sanos de cepas de laboratorio de uso común. Cada animal, al comienzo de su dosificación, 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 dosificado previamente.

El ratón debe tener un habitat 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.

Para mantener su climatización permanecen en sus jaulas durante 5 días. Después se seleccionarse al azar, y se marcan para identificarlos.

Antes de administrar la dosis 2000 mg/Kg, los animales permanecen en ayunas por 12 h. Antes de administrar la dosis de 200 mg/Kg se pesan a los animales que estarán distribuidos en dos grupos de 3 animales cada grupo, 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. (Pérez y Jimenez, 2008)²¹.

2.2.9. Metabolitos secundarios

Los organismos autótrofos fotosintéticos, cuando realizan fotosíntesis tienen como producto principal los carbohidratos. Mediante reacciones metabólicas de los carbohidratos se forman los

metabolitos primarios, siendo estos de ayuda para formar metabolitos secundarios de estructuras complejas y restringidas en plantas, estas participan en los fenómenos de polinización y también sirve como defensa de las plantas contra diferentes microorganismos.

Los metabolitos secundarios se producen en pequeñas cantidades, estando presentes en una variedad de plantas. Algunos metabolitos como: alcaloides, flavonoides, terpenos, compuestos fenólicos, etc., tienen acción terapéutica (Toledo Nauto, 2015)²².

2.2.9.1. Biosíntesis

En los últimos años fue de interés investigar las rutas biosintéticas de los metabolitos secundarios. La síntesis va depender del desarrollo de la planta, y organelo o parte de planta donde se sintetice.

Atendiendo a las vías biosintéticas que les dan origen, los compuestos secundarios se dividen en tres grandes grupos: las sustancias fenólicas, los terpenos, y los compuestos que contienen nitrógeno en su estructura.

El metabolismo primario brinda una gran cantidad de moléculas simples, como el acetato, los aminoácidos y el ácido shiquímico, los cuales constituyen los materiales de partida para las rutas biosintéticas del metabolismo secundario. El acetato es el precursor de los policétidos y ácidos grasos en la ruta del

acetato-malonato, y los terpenos o isoprenoides son sintetizados en la ruta del acetato-mevalonato. Los aminoácidos son precursores de los antibióticos peptídicos y alcaloides. El ácido shiquímico, tiene una ruta que lleva su nombre, origina a muchos compuestos aromáticos, entre ellos las estructuras polifenólicas, los ácidos cinámicos y los aminoácidos (García, 2004)²³.

2.2.9.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos tienen un anillo aromático unido a uno a más hidroxilos. Los polifenoles son necesarios para la reproducción y crecimiento, actúa también como agentes protectores. Este grupo posee propiedades antiinflamatorias, antiagregante plaquetario, antimicrobiana, antioxidante, etc.

Su biosíntesis se realiza por dos rutas metabólicas: la del ácido malónico y la del ácido shiquimico; la primera se lleva a cabo más en las plantas superiores y la segunda es en los microorganismos. La fenilalanina y la tirosina son intermediarios metabólicos en la biosíntesis de numerosos compuestos fenólicos, y el triptófano es el precursor de hormonas como el ácido indolacético (García, 2004)²³.

2.2.9.3. Flavonoides

Compuesto de bajo peso molecular con un esqueleto de difenilpiranos (C6-C3-C6), con dos anillos de fenilos. Su formación tiene lugar a partir de dos aminoácidos y unidades de

acetato. La tirosina y fenilalanina dan lugar a al ácido cinámico y al ácido parahidroxicinámico, que al condensarse con unidades de acetato originan la estructura cinamol de los flavonoides.

Con respecto a su consumo, el valor de ingesta de flavonoides se estima como 23 mg/día, siendo predominante la quercetina. Las fuentes principales de flavonoides son la manzana. Te, cebollas, vino, etc (García, 2004)²³.

2.3. Marco conceptual

Actividad analgésica: Prueba de evaluación para comprobar cuantitativamente el efecto analgésico de sustancias como: fármacos, extractos de plantas, etc (Mendoza Muños, 2016)¹⁵.

Actividad antioxidante: Es la actividad que ejerce una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales que comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Debido a esto es que los antioxidantes son a menudo agentes reductores tales como tioles o polifenoles (Toledo Nauto, 2015)²².

Evaluación fitoquímica: En investigaciones de plantas se utilizan herramientas para un mejor análisis de sus compuestos, entre estas herramientas está el Análisis fitoquímico. Para el estudio de compuestos químicos de las plantas, es determinante identificar sus metabolitos es por este motivo que se hace énfasis en una evaluación fitoquímica (Toledo Nauto, 2015)²².

Flavonoides: Son pigmentos vegetales con un alto poder antioxidante, que previenen procesos degenerativos y el envejecimiento celular. Su estructura química es variada: indoles, fenoles, alilsulfuros, etc (García, 2004)²³.

IC50: concentración máxima de la media inhibitoria (Figuroa Diaz, Mollinedo Moncada, 2017)¹⁹.

Metabolitos secundarios: Compuestos orgánicos sintetizados por plantas o cualquier otro organismo. Los metabolitos secundarios de las plantas pertenecen a tres grupos terpenoides, fenólicos y alcaloides.

Materiales biológicos: biomaterial pueden hacer referencia a, animales, los tejidos de animales, biomasa biomolécula, fluido corporal materia orgánica, derivada de los seres vivos, etc (García, 2004)²³.

Método de Brand-Williams o DPPH: proceso por el cual se evalúa la actividad antioxidante usando el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) (Figuroa Diaz, Mollinedo Moncada, 2017)¹⁹.

Polifenoles: compuestos químicos formado por un grupo fenol, que están presente variedades de plantas. Los polifenoles se subdividen en taninos hidrolizables y fenilpropanoides (García, 2004)²³.

Porcentaje de inhibición del radical DPPH: indica la capacidad antioxidante de la sustancia estudiada, entonces si presenta mayor porcentaje de inhibición del radical DPPH entonces tendrá un poder antioxidante elevado (Figuroa Diaz, Mollinedo Moncada, 2017)¹⁹.

Prostaglandina E 2 (PGE 2): Sustancia química que se sintetiza a partir de la prostaglandina H2, estas sustancias son mediadores de la inflamación y hay estudios que corroboran que su presencia aumenta la sensación de dolor en el tejido, al aumentar la frecuencia del disparo de potencial de acción en respuesta a un nivel dado de estímulo doloroso (Zegarra Piérola, 2007)¹⁷.

Tramadol: analgésico de tipo opioide (Flórez J. 2014)¹⁸.

Toxicidad aguda: son manifestaciones adversas que ocurren tras la administración de sustancias, estas pueden causar daños inmediatos o el transcurso del tiempo. La administración se realiza por diferentes vías (Armino Paixao. 2017)¹⁴.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Materiales y equipo de laboratorio

3.1.1. Materiales de laboratorio

- Soporte universal
- Baguetas
- Balones
- Embudos
- Etiquetas
- Luna de reloj
- Papel de filtro
- Papel Tissue
- Papel toalla
- Papel Kraft
- Pinzas metálicas
- Porta embudo
- Probetas
- Tijeras
- Vasos de precipitación

3.1.2. Equipos

- Balanza Analítica Ohaus 200S
- Evaporador rotatorio marca BUCHI

- Espectrofotómetro UV-vis UNICO 2100
- pHmetro Hanna pH 210
- Placa calefactora IKA
- Estufa/incubadora Binder B-28
- Mufla Bamed
- Baño de ultrasonido, Ultrasonic UP02
- Agitador magnético IKA

3.1.3. Material biológico

Balb/C53/CNPB.

3.1.4. Material vegetal

Hojas, tallos y flores de la especie *Tiquilia paronychioides*

3.1.5. Reactivos

- Ácido Clorhídrico
- Hidróxido de Sodio
- Diclorometano
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Anhídrido Acético
- Limaduras de Magnesio
- Ácido ascórbico
- DPPH

3.1.6. Solventes

- Agua Destilada
- Etanol de 96°
- Metanol

3.2. Metodología

3.2.1. Diseño de investigación

Experimental

3.2.2. Población y muestra

- Material botánico:

Hojas, tallos y flores de la especie *Tiquilia paronychioides*.

- Material biológico:

Ratones, con peso promedio de 25 a 30 g, procedentes del Instituto Nacional de Salud (INS).

3.2.3. Técnicas y procedimientos de recolección de datos

3.2.3.1. Recolección y tratamiento de la muestra vegetal

La planta se recolectada en el mes de agosto del 2019 en la región y provincia de Ica, distrito del Rosario de Yauca. Esta operación se realizó durante la mañana, luego la planta fue colocada en recipientes hermético.

Se seco la planta a temperatura ambiente y bajo sombra, entre 2 a 3 semanas, conservada adecuadamente para su posterior estudio.

3.2.3.2. Obtención del extracto etanólico

La especie vegetal seca, fue triturada para realizar un macerado con etanol de 96° durante 2 semanas. Posteriormente se concentró el extracto utilizando un rotavapor o evaporador rotatorio, se obtuvo 55 g de extracto seco.

3.2.4. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico o “screening” fitoquímico, es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta. Consiste en la extracción de los principios activos de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración (Lock Sing, 1994)²⁴.

Se separó una parte correspondiente a la fracción “A”, el residuo se trató con solución diluida de HCl al 1% (2x20 mL), 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 constituyo la fracción “B”. la solución acida, parte soluble, se colocará en una pera de bromo que se neutralizo con hidróxido de amonio y extrajo con diclorometano (2 x 25 mL), obteniendo la fase diclorometanica (fracción “C”) y la acuosa, esta última se saturó con

sulfato de sodio anhidro y se extrajo con mezclas diclorometanica-etanol en una relación de 3:2 (2 x 25 mL) obteniendo dos fases, la orgánica (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.

3.2.4.1. 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, al tubo I se adiciona 1,0 mL de solución de NaCl 5%, al tubo II 1,5 mL de gelatina 1% y al tubo III una mezcla de gelatina-sal, si se observa precipitación con este último reactivo o con ambos el I y 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 libre

Reacción de Cloruro Férrico.- Se utilizó un tubo de ensayo al cual se le añadió 0,5 mL de la Fracción A y gotas de solución acuosa de FeCl_3 1%.

Si llegara a presentar en la reacción colores azul negro o azul verdoso, entonces se considera positivo.

- Detección de aminoácidos:

Reacción de Ninhidrina.- Se utilizaron dos tiras de papel de filtro, a estas se les agregaron sus sustancias con la ayuda de una pipeta capilar, a la primera se le agrego una gota de Fracción A más una gota del reactivo Ninhidrina al 2%, a la segunda (blanco) se le agrego 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 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. Para obtener resultados se esperó que la solución tenga un color anaranjado a rojo, si eso sucede se considera positivo.

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 (0,5 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 solución tenga un color rojo.

c. Fracción C

- Detección de esteroides y/o triterpenoides

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 evapora a sequedad para luego agregar 2 mL de HCL 1% y luego se agrega 2mL de HCl 1%. Para finalizar se realizaron reacciones de Dragendorff, Mayer, Hager, Wagner, siendo los resultados positivos si aparece un precipitado de color anaranjado, crema, y marrón respectivamente.

d. Fracción D

Se añadió 2,5 mL etanol a la fracción D, luego se realizaron las reacciones de detención de flavonoides, leucoantocianidinas y catequinas.

- Detección de Flavonoides

Se añaden 3 gotas de la fracción en mención más 5 limaduras de MG y gotas de HCL, se considera positivo si la reacción toma tonos naranja, violeta o rojo.

- Detección de Leucoantocianidinas y Catequinas.

Reacción de Rosenheim.- Para esta prueba se tomó 1,0 mL de la Fracción más 0,5 mL de HCl concentrado, luego se procedió a calentar por un tiempo 10 minutos a 100°C, se esperó que se enfrié para agregar 2 ml de agua más 1.0 mL de alcohol amílico, se considera positiva si toma un color que va desde un rosado débil a carmesí intenso.

- Detección de Esteroides y/o Triterpenoides

La fracción D se disolvió en diclorometano, para luego continuar con la reacción de Liebermann -Burchard.

e. Fracción E

- Detección de Flavonoides

Descrita anteriormente en la fracción A y D

- Detección de Leucoantocianidinas

Descrita anteriormente en la Fracción D

3.2.5. Estudio farmacológico

3.2.5.1. Actividad analgésica por el método de Hot Plate

En el método del HOT PLATE (placa caliente), el agente analgésico es una placa caliente, que se conecta para alcanzar una temperatura de 56°C. La placa esta provista de un cilindro transparente, que permite observar manifestaciones de dolor. Esta reacción es manifestada al lamerse las patas posteriores e incluso saltar (Jara López, 2019) ²⁵.

3.2.5.2. Procedimiento de la actividad analgésica por el método Hot Plate

Se utilizó ratones procedentes del INS “Instituto Nacional de Salud”, con peso promedio de 25 a 30 g. Los animales estuvieron expuestos durante 5 días al ambiente de experimentación (21 - 24°C), con la finalidad de aclimatarlos, su alimentación fue con comida especial para ratones y agua. 24 horas antes de empezar con la prueba se les dejó en ayunas, solo consumieron agua.

Para determinar la actividad analgésica, se tomaron al azar 20 ratones los cuales fueron distribuidos cinco en grupos de cuatro ratones cada uno, como se observa en la tabla.

GRUPOS	TRATAMIENTO	N°	DOSIS
1	Tween 2%	4	1ml/100g
2	Control positivo (Tramadol 100mg)	4	1ml/100g
3	Extracto	4	100 mg/ kg
4	Extracto	4	500 mg/kg
5	Extracto	4	750 mg/kg

Trascurrido 24 horas se aplicó las diferentes soluciones, como indica el cuadro, después de una hora cada ratón fue colocado en la placa caliente a temperatura de 56 °C.

Se anotó el tiempo de permanencia máxima de cada ratón, para luego expresar los porcentajes de analgesia aplicando la siguiente expresión:

$$\% \text{ Analgesia} = \frac{\text{promedio (t0)} - \text{promedio (t1)}}{\text{promedio (t0)}} \times 100$$

3.2.6. Evaluación de la toxicidad aguda oral

La metodología y el diseño experimental que se utilizó son los principios descrita por la OECD 425, en la directriz 423, (Pérez y Jimenez, 2008)²¹.

3.2.6.1. Animales de experimentación

Los animales fueron hembras, nulíparas y no embarazadas, 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.

3.2.6.2. 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 3 ratones.

3.2.6.3. Procedimiento para la evaluación de la toxicidad aguda oral

Se utilizó 6 ratones, hembras nulíparas y no embarazadas, distribuidas en 2 grupos de 3 ratones cada uno: grupo control y prueba límite a 2000 mg/Kg.

Antes de administrar la dosis, los animales permanecieron en ayunas por 12 h. Se administró a 3 ratones 2000 mg/Kg de

extracto (grupo de prueba limite) y solución de tween 2% (1ml/100g) a otros 3 ratones (grupo control)

Después de dosificar a los ratones, estos fueron observados por 4 horas, y continuamente durante 24 horas (con especial atención durante los primeros 30 minutos), las observaciones fueron por un total de 14 días, se prestó atención a posibles cambios de piel, pelo, ojos, y convulsiones, manifestaciones de temblores, salivación, sueño, diarrea, letargo y coma. Para concluir que la DL_{50} es superior a la dosis administrada los animales fueron pesados en los días 0, 7 y 14.

3.2.7. Evaluación de la actividad antioxidante

Método de la neutralización del radical 2,2 –difenilpicrilhidrazil (DPPH) IC_{50}

3.2.7.1. Fundamento:

El 2,2 –difenilpicrilhidrazil (DPPH), es un radical libre estable que experimenta una reacción de reducción ante un antioxidante, ocasionando una disminución de su absorbancia.

El DPPH disuelto en metanol adquiere un color violeta y cuando reacciona con sustancias atrapadoras de radicales libres donadoras de hidrógeno, este color cambia a amarillo

ligero o transparente, produciendo la desaparición del color a medida que disminuye la absorbancia a 517 nm. El mecanismo de reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrogeno proveniente de la sustancia donadora de hidrogeno, para generar el compuesto difenilpicrilhidrazina y un radical libre (Gaviria Mendoza, 2015) ²⁶.

El resultado se expresa como IC₅₀ (concentración inhibitoria).

3.2.7.2. Descripción de la técnica:

La actividad antioxidante del extracto de *Tiquilia paronychioides* fue determinada usando el método 2,2 – difenilpicrilhidrazil (DPPH). La inhibición de los radicales libres por el extracto etanólico disuelto en solvente apropiado fue evaluada por espectrofotometría a 517 nm, frente a la absorbancia del radical de DPPH.

3.2.7.3. Preparación de la muestra:

Se inicia el experimento preparando:

- El extracto etanólico seco (Muestra) a una concentración de 3 mg/mL diluido en metanol.
- solución de DPPH (Control) a 0.1Mm, se tomó 3.1 mg de reactivo de DPPH y 100 mL de metanol.

Se realizaron lecturas (517 nm) por triplicados de la solución de DPPH (control), con la ayuda de espectrofotómetro UV- vis, obteniendo como resultados un valor de absorbancia no menor de 0,9, ni mayor a 1,1.

3.2.7.4. Preparación de las diluciones:

A partir de la concentración inicial del extracto en metanol, se prepara las siguientes diluciones: se mezclaron 2900 µL de solución madre con 100 µL de solución de extracto (concentraciones: 1,25; 2,5; 5; 10 mg/ml). Se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min en la oscuridad y se midió la absorbancia a 517 nm. El ensayo se realizó por triplicado y el % de inhibición del radical DPPH se calculó usando la fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Absorción (blanco)} - \text{Absorbancia (muestra)}}{\text{Absorbancia (blanco)}} \times 100$$

3.2.8. Técnicas de procesamiento de la información

Los resultados del presente trabajo fueron analizados mediante el software bioestadística SPSS versión 24.

Los resultados que a continuación son descritos son expresados en promedios (media).

3.2.9. Principios éticos en la investigación

Para los ensayos se utilizaron animales, estos son manejados siguiendo principios descritos en el Institute for Laboratory Animal Research (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2011)²⁷ y la declaración de la Asociación Médica Mundial sobre el uso de animales de experimentación (Declaración de la AMM sobre el Uso de Animales en la Investigación Biomédica, 2017)²⁸, con la finalidad de mantener un buen cuidado al utilizar animales de experimentación.

CAPITULO IV

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Evaluación fitoquímica cualitativa de *Tiquilia paronychioides*

Tabla N° 1. “Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Tiquilia paronychioides*”

Fracción	Metabolitos	Resultados
A	Taninos	-
	Aminos libres	+
	Flavonoides	+
	Grupo fenólicos libres	+
B	Triterpenoides y/o esteroides	+
	Nafto y antraquinonas	+
	Flavonoides	+
C	Triterpenoides y/o esteroides	+
	Alcaloides	-
D	Flavonoides	+
	Leucoantocianidinas y catequinas	+
E	Flavonoides	+
	Leucoantocianidinas	+
	Grupo fenólicos libres	+

(+) Positivo; (-) Negativo.

Fuente: Datos de los autores.

4.1.2. Actividad antioxidante

Tabla N° 2. “Actividad antioxidante por el método DPPH de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Tiquilia paronychioides*”

Concentración (mg/mL)	% Inhibición del Radical DPPH
10	91,857
5	60,581
2,5	36,877
1,25	22,458

Fuente: Datos del autor

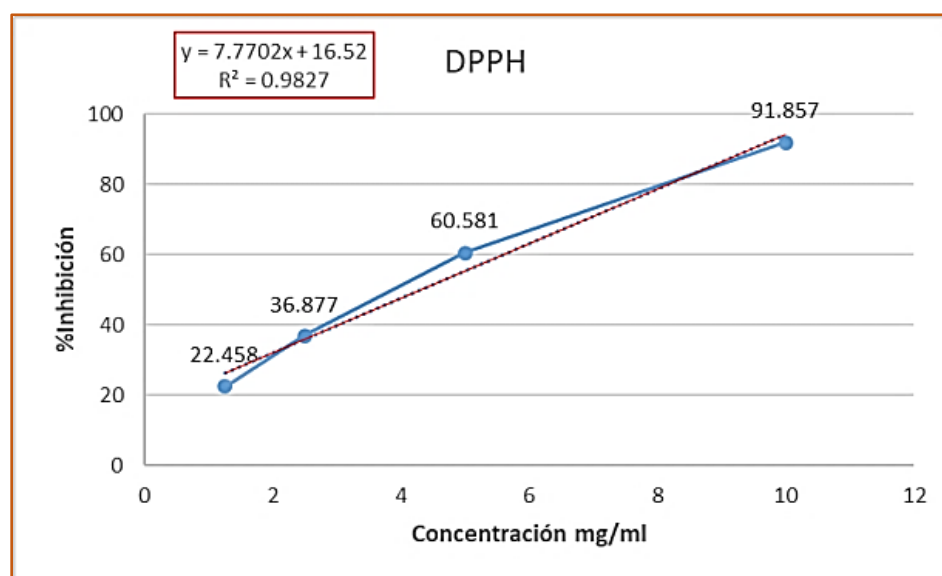


Fig. 1 “Correlación entre el porcentaje de inhibición y las concentraciones del extracto etanólico de *Tiquilia paronychioides*”

Fuente: Datos de los autores.

El valor IC_{50} de *Tiquilia paronychioides* fue 4,31 mg/mL.

4.1.3. Actividad analgésica

Tabla N° 3. “Actividad analgésica del extracto etanólico de *Tiquilia paronychioides*”

Grupo experimental	N	Promedio de tiempo de reacción	% de analgesia
Control negativo	4	5,27	-
Control positivo	4	14,51	63,68
Extracto 100mg/kg	4	5,59	5,72
Extracto 500mg/kg	4	7,57	30,38
Extracto 750mg/kg	4	10,91	51,69

Fuente: Datos del autor.

El mayor % de actividad analgésica, de los extractos a diferentes dosis, es de 51,69% a dosis de 750 mg/Kg, siendo menor al control positivo (tramadol).

4.1.4. Prueba de toxicidad aguda

Grupos	N	Peso corporal (g)		
		Día 0	Día 7	Día 14
Grupo de prueba limite (2000mg/Kg)	3	28	29	31
Grupo control	3	28	30	32

Fuente: Datos del autor.

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

4.2. DISCUSIÓN

Los metabolitos secundarios encontrados en el extracto etanólico de *Tiquilia paronychioides*, son contrastados con el trabajo de investigación de Artemio Chang (2009), en dicho trabajo realizó un tamizaje fitoquímico de las flores de *Tiquilia paronychioides* obtenidas en la ciudad de Lima. En el tamizaje fitoquímico se encontraron metabolitos que coinciden con los metabolitos obtenidos en el estudio presente; metabolitos como: flavonoides, triterpenoides y/o esteroides, catequinas y leucoantocianidinas (Artemio Chang, 2009)¹¹. Por consiguiente, se ratifica la presencia de dichos metabolitos.

Oscar Herrera (2016), señala que muchas plantas con polifenoles y flavonoides, evidencia una fuerte actividad antioxidante y analgésica (Herrera Calderón, 2016)²⁹, esto es comparado con los datos encontrados en la evaluación fitoquímica y actividad analgésica del extracto etanólico de *Tiquilia paronychioides*. Al analizar los resultados de la evaluación fotoquímica en la fracción A, B, D y E, se deduciendo de manera cualitativa la presencia de gran cantidad de flavonoides; la actividad analgésica a dosis de 750 mg/Kg de extracto, si bien no supera al control positivo, no descarta la presencia de actividad analgésica ya que supera al tiempo de reacción del grupo control negativo (tween 2%).

La actividad analgésica puede estar relacionada a su uso tradicional como antiinflamatorio, ya que la inflamación está relacionada al dolor. Crespo L y Taboada Y (2021), señala que los mediadores proinflamatorios como la prostaglandina, bradicinina, factor de necrosis tumoral y sustancia P, aumentan la sensación de dolor al aumentar la frecuencia del disparo de potencial de acción, lo que se conoce como sensibilización periférica, en respuesta a un nivel dado de estímulo doloroso (Crespo P y Taboada, 2021)³⁰.

En el informe técnico anual hecho por instituto de medicina tradicional concluyen, mediante prueba de toxicidad aguda cutánea, que las especies *Tiquilia paronychioides* no tienen efecto toxico, comparado con los resultados obtenidos de toxicidad aguda oral en nuestro trabajo se puede asegurar que la planta no es tóxica (Informe técnico de Essalud por medio del Instituto de medicina tradicional – IMET, 2017)⁹.

Se recomienda hacer estudios sobre la actividad antiinflamatoria para poder asegurar o descartar supuesta relación entre la actividad analgésica y antiinflamatoria; por consiguiente, la planta en estudio *Tiquilia paronychioides* se podría utilizar en medicina natural para aliviar los problemas inflamatorios, ya que, suprime una de sus características que es dolor, dándole un valor agregado a la utilización de la planta como depurativa en la ciudad de Ica.

CONCLUSIONES

- El extracto de *Tiquilia paronychioides* presentó los siguientes grupos de metabolitos secundarios: flavonoides, grupos aminos libres, leucoantocianidinas, grupo fenólicos libres, triterpenoides y/o esteroides, nafto y antraquinonas.
- El extracto de *Tiquilia paronychioides* por el método de DPPH tuvo una capacidad antioxidante con (IC₅₀) de 4,31mg/mL.
- El extracto de *Tiquilia paronychioides* a dosis de 750 mg/Kg mostró mayor % de actividad analgésica.
- El extracto de *Tiquilia paronychioides* no presentó toxicidad aguda a dosis de 2000 mg/Kg.

RECOMENDACIONES

1. Efectuar la actividad analgésica por otro método para tener una mejor comprensión del mecanismo de acción del proceso analgésico de la especie.
2. Se recomienda hacer estudios sobre la actividad antiinflamatoria para poder asegurar o descartar supuesta relación entre la actividad analgésica y antiinflamatoria.
3. Evaluar la actividad antioxidante por otros métodos para tener una mejor comprensión de la naturaleza de dicho efecto.
4. Evaluar la toxicidad subcrónica y crónica para descartar toxicidad a dicha dosis.

FUENTES DE LA INFORMACIÓN

1. Hernández A. Fitoterapia, Bases científicas y legales para su aplicación. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2005; vol. 4 (4): 71-74.
2. Torres V, Castro A. Fitoterapia. Rev. Act. Clin. Med [online]. 2014; 42(1): 2185-2189.
3. Chopade A, Sayyad, F. Antinociceptive effect of Phyllanthus fraternus extract in complete Freund's adjuvant induced chronic pain in mice. Biomed Aging Pathol. 2013; 3(1): 235-40.
4. Organización Mundial de la Salud. Estrategias de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2022. 1er. ed. Suiza: Ediciones de la OMS; 2013.
5. Arevalos C, Hastahuaman D. Informe de Producción de las Farmacias Naturales de Medicina Complementaria. Essalud. 2017; Vol.01: 5-10
6. Rainer w. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia-La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú. 1er. ed. Jr. San Martin-perú: Graficart SRL; 2015.
7. Vallejos A, Ruano C. Analgésico en el paciente hospitalizado. Cienc.Quim. 2015; 44(1): 1-25.
8. Trujillo, A. Efecto diurético del infuso de hojas de Tiquilia Paronychioides (Flor De Arena) en Rattus Rattus Var. Albinus. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote: 2018-2020.

Disponible en:

http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5857/DI_URESIS_FUROSEMIDA_TRUJILLO_RODRIGUEZ_ANA_MARIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

9. Instituto de medicina tradicional. Informe técnico anual. Essalud (Internet) 2017. Revisado: 08 de febrero del 2019.

Disponible en:

http://www.essalud.gob.pe/downloads/gcps/medicina_complementaria/Estadisticas/INFORME_DE_GESTION_IMET_2017.pdf

10. Huaman G, Sandoval M. Efecto del extracto acuoso de hojas de *Tiquilia paronychiode* (flor de arena) sobre la hiperplasia benigna de próstata, inducida por enentato de testosterona en ratas. En: XII Jornada de Investigación en Salud. 1er ed. Lima: Comité de ciencia; 2013.

11. Chang A, Klinar S, Castillo P y Katia P. Screening fitoquímico de *Gentianella alborosea*, *Desmodium sp.* y *Tiquilia paronychioides*. "FITOICA" Revista Científica. (Internet): 2009. 4p.

Disponible en

<http://bibliotecafarmaceutica.com/Fitoica/2009/Num%201/Art1.pdf>

12. Boom A, Orozco A, Jader D. Evaluación de la Actividad Antioxidante de Aceites Esenciales de Eucaliptos Cultivados en 6th. Ed. La serena: Scielo; 2018.

13. Mena Y, Gonzales D, Valido A. Actividad gastroprotectora y toxicidad aguda del extracto de hojas de *Cnidocolus Chayamansa* McVaugh. 1er. Ed. Santa Clara: Scielo; 2017.
14. Paixao A, Mancebo B, Ibis A. Evaluación de la Toxicidad Aguda Oral del extracto etanólico de *Tephrosia vogelii* Hook (kalembe). 2 sed. Ed. La Habana: Salud Anim; 2017.
15. Mendoza M. Evaluación farmacológica de la actividad analgésica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Jatropha gossypifolia* L. 1er. ed. Santa clara: trabajo de diploma; 2016.
16. León M, Santa cruz, J. Recomendaciones basadas en evidencia para el manejo del dolor oncológico (revisión de la literatura). R. anestesiología. 2019;42(1): p.45-55.
17. Zegarra J. Bases fisiológicas del dolor. Scielo. 2007; 24 (2): p.1-5.
18. Flores J. Farmacología Humana. 6 ed. España:Masson; 2014. p. 334-447.
19. Figueroa S, Mollinedo O. Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de *Hylocereus undatus* "pitahaya" e identificación de los fitoconstituyentes. Tesis. Universidad Wiener. 2017.
20. Monroy A, Totosa A. Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de *Hylocereus undatus* "pitahaya" e identificación de los fitoconstituyentes. C.T. 2007; 6(6): 1-5.


21. Pérez M, Jimenez E. Evaluación de la Toxicidad Aguda de un Extracto de *Boldoa purpurascens* Cav. por el Método de las Clases. *Lat. Am. J. Pharm.* 2008; 27 (2): 250-4.
22. Toledo M. Estudio fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de “*triumfetta semitriloba*” jacq (moteccepo) y análisis de parámetros reológicos del mucílago. Tesis. Universidad nacional Mayor de San Marcos. 2015.
23. Garcia D. Los metabolitos secundarios de las especies vegetales. *Pastos y Forrajes.* 2004; 27 (1): 1-12.
24. Lock O. Investigación Fitoquímica. Perú. Fondo editorial PUCP. 1994; 1(1): pp 7-10.
25. Jara D. Actividad Analgésica del Decocto de Hojas de *Rosmarinus officinalis* (ROMERO) y *Urtica dioica* (ORTIGA) en *Rattus rattus* var. *Albinus*. Tesis. Universidad Católica de los Ángeles Chimbote. 2019.
26. Gaviria, Andrés.; E. Correa, Claudia. Evaluación de las Actividades Antioxidante y Antitopoisomerasa de Extractos de Plantas de la Ecorregión Cafetera Colombiana. *Rev Facultad de Ciencias Básicas.* 2015; 11(1): 86-101.
27. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.* [Internet]. 8. a ed. Washington DC: The National Academies Press; 2011. 248 p. Disponible en: <http://nap.edu/12910>

28. The World Medical Association. Declaración de la AMM sobre el Uso de Animales en la Investigación Biomédica [Internet]. 2016 [citado 2 de marzo de 2017]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policias-post/declaracionde-la-amm-sobre-el-uso-de-animales-en-la-investigacionbiomedica/>
29. Herrera, O; Enciso, E. Phytochemical screening, antioxidant activity and analgesic effect of *Waltheria ovata* Cav. roots in mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2016; 6: pp.1000-1003.
30. Crespo P y Taboada Y. Mediadores inflamatorios: su relación con el dolor crónico y problemas asociados. 2021; 28(1): 1-10.

ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

<p>TITULO: EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, ANALGÉSICA Y TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA ESPECIE <i>Tiquilia paronychioides</i> (flor de arena)</p> <p>Formulación del problema</p> <p>¿Posee actividad antioxidante, analgésica y toxicidad aguda el extracto etanólico de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i>?</p> <p>Objetivo General</p> <p>•Evaluar la actividad analgésica, antioxidante y toxicidad aguda de la extracto etanólico de las hojas, tallos y flores de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i>.</p>	<p>Objetivo Especifico</p> <ul style="list-style-type: none"> Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas, tallos y flores de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i>. Determinar el efecto analgésico del extracto etanólico de hojas, tallos y flores de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i> en ratones cepa Balb/C53/CNPB. Determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de hojas, tallos y flores de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i> en ratones cepa Balb/C53/CNPB. Establecer la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto etanólico de hojas, tallos y flores de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i>. 	<p>Hipótesis</p> <p>El extracto etanólico de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i> presenta actividad antioxidante, analgésica y toxicidad aguda.</p> <p>Variables</p> <p>-Variable independiente: Extracto etanólico de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i></p> <p>-Variable dependiente: Actividad antioxidante, analgésica y toxicidad aguda del extracto de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i>.</p> <p>Metodología</p> <p>Tipo: Básica Nivel: Aplicativo analítico Diseño de Investigación: pre-experimental</p>	<p>Población y muestra</p> <p>Material botánico: Hojas, tallos y flores de la especie <i>Tiquilia paronychioides</i></p> <p>Material biológico: Ratones un peso promedio de 25 a 30g, procedentes del Instituto Nacional de Salud (INS).</p> <p>Métodos, técnicas y procedimientos de recolección de datos</p> <p>Actividad analgésica por el método de hot plate</p> <p>Los animales son distribuidos al azar en cinco grupos de cuatro ratones. Se calculara el tiempo de permanecía en el hot plate después de aplicar las diferentes concentraciones.</p>	<p>Actividad antioxidante por el método de DPPH</p> <p>La actividad antioxidante del extracto de <i>Tiquilia paronychioides</i> fue determinada usando el método 2,2 – difenilpicrilhidrazil (DPPH). La inhibición de los radicales libres por el extracto etanólico disuelto en solvente apropiado fue evaluada por espectrofotometría a 517 nm, frente a la absorbancia del radical de DPPH.</p> <p>Evaluación de la toxicidad aguda por el método de las clases</p> <p>La metodología y el diseño experimental que se utilizará es la descrita por la OECD 425 “Organización Económica para el Comercio y Desarrollo”.</p>	<p>Técnicas De Procesamiento De La Información</p> <p>Los resultados del presente trabajo fueron analizados mediante el software bioestadística SPSS versión 24.</p>
---	---	--	--	---	---

ANEXO 2

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

"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 316-USM-2019

LA JEFE (e) 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 **Arturo Jimmy Mendoza Ramirez**, estudiante de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica; ha sido estudiada y clasificada como: ***Tiquilia paronychiodes* (Phil.) A Richard**. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: BORAGINACEAE

GENERO: *Tiquilia*

ESPECIE: *Tiquilia paronychiodes* (Phil.) A Richard

Nombre vulgar: "Flor de arena"
Determinado por. Mg. María Isabel La Torre Acuy

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

Lima, 27 de setiembre de 2019


Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/ddb 

Figura: Constancia botánica

ANEXO 3

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO
CERTIFICADO SANITARIO N° 174-2019	
Producto : Ratón albino	Lote N° : M-27-2019
Especie : <u>Mus musculus</u>	Cantidad : 60
Cepa : Balb/C53/CNPB	Edad : 02 meses
Peso : Mayores 25 g.	Sexo : macho/hembra
Guía de remisión : 0037895	Destino : Quintana Gamonal, Carla
Chorrillos : 24 - 06 - 2019	
<p>El Médico Veterinario que suscribe, Arturo Rosales Fernández, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia: PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 24 de junio del 2019 (Fecha de emisión del certificado)</p> <p>NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>	
	 M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586

Figura: Certificado sanitario de ratones

ANEXO 4

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO

YO, Dra. Santos Haydee Chávez Orellana, docente de principal de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, Adscrito en el departamento de Química Farmacéutica , deja constancia que el presente trabajo de tesis titulado: "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, ANALGÉSICA Y TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA ESPECIE *Tiquilia paronychioides* (flor de arena".

Ha sido revisado y evaluado, estando expedido para su presentación ante la dirección de grados y títulos y ser sustentado en el acto público.

Ica, 16 de marzo del 2021



Dra. Santos Haydee Chávez Orellana
DNI 21449243

Figura: Constancia de asesoramiento

ANEXO 5

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO

El Dr. Felipe Surco Laos, docente de principal de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, Adscrito en el departamento de ciencias químicas de ciencias químicas, deja constancia que el presente trabajo de tesis titulado: "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, ANALGÉSICA Y TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA ESPECIE *Tiquilia paronychioides* (flor de arena)".

Ha sido revisado y evaluado, estando expedido para su presentación ante la dirección de grados y títulos y ser sustentado en el acto público.

Ica, 16 de marzo del 2021



Felipe Surco Laos
21466230

Figura: Constancia de asesoramiento

ANEXO 6

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO

El Dr. Jorge Antonio Garcia Ceccarelli, docente de la categoría Principal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, Adscrito al departamento de Ciencias Químicas, deja constancia que el presente trabajo de tesis titulado: "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, ANALGÉSICA Y TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA ESPECIE *Tiquilia paronychioides* (flor de arena)".

Ha sido revisado y evaluado, estando expedido para su presentación ante la dirección de grados y títulos y ser sustentado en el acto público.

Ica, 16 de marzo del 2021



Jorge Garcia Ceccarelli

Figura: Constancia de asesoramiento