



UNAP



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

TESIS

**“TOXICIDAD A DOSIS ÚNICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
Campsiandra angustifolia SPRUCE EX BENTH (HUACAPURANA) EN
RATONES ALBINOS CEPA BALB/C”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

**JOSÉ ANTONIO PÉREZ CHOTA
FRANCISCO CANDELARIO SÁENZ VÁSQUEZ**

ASESORA:

Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.

IQUITOS, PERÚ

2025

ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°007-JCD/UI-FFyB-UNAP-2025

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los veintiocho (28) días del mes de abril de 2025, a horas 13:00., se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "TOXICIDAD A DOSIS ÚNICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *CAMPSIANDRA ANGUSTIFOLIA* SPRUCE EX BENTH (HUACAPURANA) EN RATONES ALBINOS CEPA BALB/C", con Resolución Decanal N°099-FFyB-UNAP-2025, presentado por los bachilleres: JOSÉ ANTONIO PÉREZ CHOTA y FRANCISCO CANDELARIO SÁENZ VÁSQUEZ, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico que otorga la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, de acuerdo a Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°263-2023-FFyB-UNAP, está integrado por:

- ❖ Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr. Presidente
- ❖ Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mtro. Miembro
- ❖ Q.F. CLAUDIO ADRIANO APAGÜEÑO ARÉVALO, Dr. Miembro

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas:

adecuadamente

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública de la tesis ha sido aprobada con la calificación bueno.
Estando el bachiller apto para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Siendo las 14:30 se dio por terminado el acto académico.

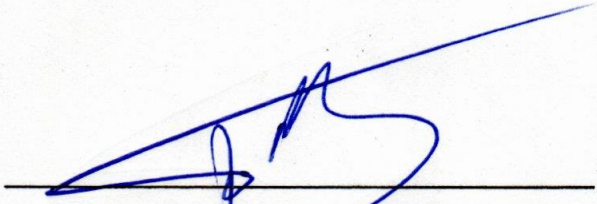

Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.
Presidente


Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mtro.
Miembro

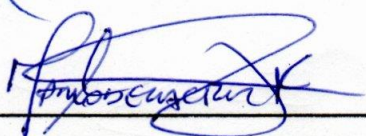

Q.F. CLAUDIO ADRIANO APAGÜEÑO ARÉVALO, Dr.
Miembro


Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.
Asesor

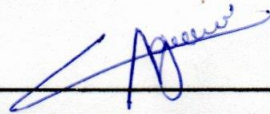
JURADO Y ASESORA




Q.F. José Daniel Torres Tejada, Dr.
C.Q.F.P: 05857
Presidente



Q.F. Mario Javier De La Cruz Flores, Mtro.
C.Q.F.P: 13374
Miembro de jurado



Q.F. Claudio Adriano Apagüeño Arévalo, Mtro.
C.Q.F.P: 16870
Miembro de jurado



Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay, Dra.
C.Q.F.P: 03468
Asesora

PEREZ CHOTA / SAENZ VASQUEZ

FFB_TESIS_PEREZ CHOTA_SAENZ VASQUEZ.pdf

 26-30MAY
 26-30MAY
 Universidad Nacional De La Amazonia Peruana

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid::20208:463986001

Fecha de entrega
2 jun 2025, 12:42 a.m. GMT-5

Fecha de descarga
2 jun 2025, 12:48 a.m. GMT-5

Nombre de archivo
FFB_TESIS_PEREZ CHOTA_SAENZ VASQUEZ.pdf

Tamaño de archivo
411.8 KB

32 Páginas

9526 Palabras

47.065 Caracteres




3% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- Bibliography
- Small Matches (less than 10 words)

Top Sources

- 3%  Internet sources
- 1%  Publications
- 2%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

Dedicada a Dios Padre Todopoderoso, porque nos dio la vida, la sabiduría y la inteligencia. Bajo su protección caminamos en la confianza de que podíamos contar con Él para superar cada problema que se nos presentaba en el camino. Con Él todo sin Él nada.

Francisco y Antonio

A mis queridos padres **Francisco** y **Rosario**, soporte de mi existencia; todo lo podían para procurar la superación de sus hijos. Gracias por su disciplina, su afecto, asistencia y aliento. A mis hermanos, compañeros de mi infancia y adolescencia, cada uno con sus fortalezas apoyaron a mi crecimiento profesional.

Francisco

A mi amada madre **Nidia** y abuelos **Angélica** y **José**, quienes son los pilares más importantes en mi vida, me cuidaron con amor y supieron darme confianza para desarrollar mis conocimientos habilidades y destrezas. Este logro es de ustedes. A **Ignacio** quien siempre está a la expectativa de mis logros y para quien soy guía, ya que soy su hermano mayor.

Antonio

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Frida Enriqueta Sosa Amay, por su profesionalismo para asesorarnos en el desarrollo de la tesis, trabajo arduo y meticulado que nos hizo valorar la labor de investigación en la disciplina de la toxicología.

Al Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong, por su apoyo en el proceso de punción cardiaca, técnica que requiere de precisión y experticia, finalmente pudimos lograr adquirir destreza con un poco de práctica.

A toda mi familia, más allá de mis padres y hermanos, nos sentimos orgullosos de abuelos, tíos y primos; quienes nos alentaron a seguir adelante para culminar con éxito nuestra carrera profesional.

A los docentes de nuestra alma mater, la Facultad de Farmacia y Bioquímica; sin duda cada uno de ellos dejaron huellas que marcaran para siempre nuestra labor profesional, gracias a todos por sus enseñanzas y experiencias.

Al personal administrativo de la Facultad de Farmacia y Bioquímica que siempre supieron orientarnos en cada trámite documentario, dándonos confianza y seguridad, para seguir avanzando en nuestra formación emocional.

INDICE DE CONTENIDO

	Páginas
Portada	i
Acta de sustentación	ii
Jurado y asesora	iii
Resultado del informe de similitud	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Indice de contenido	vii
Indice de tablas	ix
Tabla de abreviatura	x
Resumen	xi
Abstract	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases teóricas	5
1.2.1. Aspectos generales de la especie en estudio	5
1.2.2. Ensayos de toxicidad de sustancias de prueba	6
1.2.3. Criterios de valoración de la toxicidad aguda	8
1.2.4 Valoración de la clínica del animal a través del comportamiento	9
1.3. Definición de terminos basicos	11
CAPITULO II: HIPOTESIS Y VARIABLES	12
2.1. Formulación de hipótesis	12
2.2. Variables y su operacionalización	12
2.2.1. Variables	12
2.2.1.1 Variables independiente	12
2.2.1.2 Variables dependiente	12
2.2.2. Operacionalización de variables	13
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	14
3.1. Método y diseño de investigación	14
3.2. Diseño muestral	14
3.3. Procedimiento de recolección de datos	15
3.4. Procedimiento y análisis de la información	17
3.5. Aspectos éticos	17
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	18
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	24
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	29

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	30
CAPÍTULO VIII: FUENTES BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	35
Anexo 1. Matriz de consistencia	35
Anexo 2. Instrumentos de recolección de datos	36
Anexo 3. Observaciones de toxicidad aguda en los órganos blancos asociados a la acción de la droga en experimentación de signos tóxicos en Órgano- Sistema.	38
Anexo 4. Fases de estudio de las drogas: test de Irwing	39
Anexo 5. Constancia de la especie muestreada	41
Anexo 6. Constancia del Comité de Ética del Hospital Regional de Loreto	42
Anexo 7. Certificado de los modelos biológicos	43
Anexo 8. Flujograma del proyecto de investigación.	44
Anexo 9. Flujograma de los cortes histológicos.	46

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Reporte de pesos (g) de los modelos biológicos <i>M. musculus</i> hembras (♀) y de sus órganos, del grupo control negativo inoculados con dimetilsulfóxido (DMSO)	18
Tabla 2. Promedios de los pesos por grupos experimentales de los extractos de <i>C. angustifolia</i> (huacapurana).	19
Tabla 3. Promedios de los pesos de los órganos, por grupos experimentales de los extractos de los órganos vegetales de <i>C. angustifolia</i> (huacapurana)	19
Tabla 4. Manifestaciones de comportamiento de los ratones albinos (♀) de la cepa balb C que recibieron los diferentes extractos etanólicos (raíz, corteza y hojas) de <i>C. angustifolia</i> (huacapurana) a una dosis de 25 mg/kg por vía oral.	20
Tabla 5. Manifestaciones de comportamiento de los ratones albinos (♀) de la cepa balb C53 que recibieron los diferentes extractos etanólicos (raíz, corteza y hojas) de <i>C. angustifolia</i> (huacapurana) a una dosis de 200 mg/kg respectivamente por vía oral	21
Tabla 6. Parámetros bioquímicos de los ratones albinos (♀) de la cepa balb C del grupo control negativo que recibieron DMSO.	22
Tabla 7. Valores bioquímicos de los animales inoculados con los diferentes extractos (raíz, corteza y hojas) de <i>C. angustifolia</i> (huacapurana) con dosis de 25 y 200 mg/kg de m.c.	22

TABLA DE ABREVIATURA

APG	Grupo para la Filogenia de las Angiospermas
C	Campsiandra
CTA	Clases Tóxicas Agudas
DL ₅₀	dosis Letal Media.
DMSO	Dimetilsulfóxido
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
G	Gramos
Hb	Hemoglobina
IMED	Instituto de Medicina Tradicional
MT	Medicina tradicional
NAS	Academia Nacional de Ciencias
OECD	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
OMS	La Organización Mundial de la Salud.
RC	Rompe Calzón, Bebidas Afrodisiacas Hidro-etanólica
SGA	Sistema Globalmente Armonizado
SNC	Sistema Nervioso Central
TA	Toxicidad Aguada
TGO	Transaminasas Glutámico Oxalacética
TGP	Transaminasa Glutámico Pirúvica
TSA	Toxicidad Sub Aguda
TSC	Toxicidad Subcrónica

RESUMEN

Todo recurso natural requerido como agente terapéutico, requiere en principio de demostrarse su inocuidad, por lo que determinar su toxicidad aguda es el paso preliminar antes de verificar su eficacia. **Objetivo:** Determinar el potencial tóxico agudo del extracto etanólico de *Campsiandra angustifolia* Spruce Ex Benth (huacapurana). **Metodología:** estudio toxicológico de tipo descriptivo y diseño experimental, que valoró parámetros clínicos, bioquímicos y anatómicos en ratones albinos cepa Balb /C. **Resultados:** El grupo DMSO tuvo en promedio un diferencial de peso entre el día 0 y el 14avo día de 5,24 g (DS de 1,757), en los grupos experimentales predominó la pérdida de peso entre 2,06 a 4,41 g) y la toxicidad medida por el parámetro muerte fue de 60% para el extracto de la raíz a 25 mg/kg y para las hojas fue de 40% para la corteza y las hojas a la dosis de 200 mg /kg; las variables microscópicas observadas se acompañó de alteraciones vasculares y daño tisular en los órganos examinados por microscopía. **Conclusiones:** la toxicidad de los extractos etanólicos fue para la raíz altamente tóxico y para la corteza y las hojas moderadamente tóxico.

Palabras clave: Toxicidad aguda, bioquímica de ratones, dosis límite.

ABSTRACT

Every natural resource required as a therapeutic agent, requires in principle to demonstrate its safety, so determining its acute toxicity is the preliminary step before verifying its efficacy. Objective: To determine the acute toxic potential of the ethanolic extract of *Campsiandra angustifolia* Spruce Ex Benth (huacapurana). Methodology: Descriptive toxicological study and experimental design, which assessed clinical, biochemical and anatomical parameters in albino mice Balb / C strain. Results: The DMSO group had on average a weight differential between day 0 and the 14th day of 5.24 g (SD of 1.757), in the experimental groups weight loss predominated between 2.06 to 4.41 g) and toxicity measured by the death parameter was 60% for the root extract at 25 mg / kg and for the leaves it was 40% for the bark and leaves at a dose of 200 mg / kg; The observed microscopic variables were accompanied by vascular alterations and tissue damage in the organs examined by microscopy. Conclusions: The toxicity of the ethanolic extracts was highly toxic to the root and moderately toxic to the bark and leaves.

Keywords: Acute toxicity, biochemistry of mice, limit dose.

INTRODUCCIÓN

La terapéutica es inherente a la existencia de la humanidad, en sus inicios la medicina se basó en recursos naturales, hasta llegar a nuestros días con productos farmacéuticos en gran parte de origen vegetal. Sin embargo, la medicina natural subyace y la versatilidad química de las plantas han alimentado a la ciencia y a la industria farmacéutica, sin dejar de prevalecer como tal (1). La medicina natural o tradicional esta sistematizada según contextos y enfoque filosófico, creencias, cultura, habilidades y el conocimiento del medio ambiente; logrado trascender de la zona rural a las ciudades y algunas como la medicina tradicional china, gracias a los estudios que la respaldan tiene un espacio en nosocomios de atención primaria de la salud (2).

Los conocimientos, aptitudes y practicas medicinales ancestrales se han popularizado entre foráneos de diversa procedencia (3). Es tendencia mundial mostrar interés por el uso de plantas medicinales; a las cuales consideran más inocuas y porque muchas veces han tenido éxito en curaciones donde la medicina occidental toco su umbral de ineficacia (4). Sin embargo, se reportan muy pocos estudios de seguridad sobre los preparados vegetales; los cuales son muy necesarios para la manipulación y consumo de sustancias químicas (5).

La seguridad de las especies vegetales depende de la valoración del umbral de su toxicidad o inocuidad, que orientara otros estudios como los de eficacia (6). Su consumo indiscriminado puede ocultar riesgos, que desencadenen mecanismos patológicos, que terminen en episodios de morbi-mortalidad, los cuales erróneamente no se relacionan al consumo de una determinada especie botánica.

La valoración de la toxicidad aguda es una prueba inicial de seguridad y la dosis única es útil para identificar daño tisular en los órganos que pueden desencadenar con la muerte del animal y da un primer acercamiento a la dosis tóxica (6). El conocimiento ancestral sobre el cual se basa el uso etnomedicinal

muchas veces no se conoce con precisión; pero la adquisición de recursos y productos vegetales es popular en los mercados citadinos.

Existe un fuerte arraigo a la medicina ancestral; la cual requiere revalorarse y documentarse científicamente, para que sea una alternativa en la “*atención primaria de salud*”. La Organización Mundial de la Salud (OMS) se ha manifestado a favor de su incorporación a la atención primaria de la salud, por su aceptabilidad y practicidad a nivel global (7)

Los sistemas tradicionales de medicamentos, en base a diferentes especies de flora, han sido y siguen siendo la solución en la atención de salud de poblaciones de muchas regiones como Latinoamérica, Asia y África, entre otras partes del mundo. La cobertura de la salud en la amazonia loreana pasa por un problema de acceso a los establecimientos de salud por la extensa y a veces inaccesibilidad geográfica; así como por la baja accesibilidad a especialidades farmacéuticas (7). Es por eso que, se requiere contar con especies vegetales de uso terapéutico con estudios de calidad, seguridad y eficacia.

La corteza del tronco de la especie *Campsiandra angustifolia* Spruce ex Benth (huacapurana), reporta algunos estudios farmacognósticos (fitoquímica) y de actividad farmacológica (8); pero no cuentan con métrica toxicológica, información básica para garantizar un uso seguro. Los estudios de toxicidad deberían preceder a los estudios fitoquímicos y farmacológicos de preclínica y clínica (9); a fin de que, la corteza que contiene el agente activo siga difundiendo su uso por sus bondades curativas (10) (11). Para iniciar el estudio toxicológico es urgente determinar el valor tóxico agudo la solución etanólica de *C. angustifolia* (huacapurana) en ratones albinos cepa Balb /C.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES

En el año 2023, en la revisión sistemática de reportes de etnomedicina, fitoquímica y etnofarmacología de especies de Fabaceae en Zimbabue (1959 al 2022). La información tomada de Google Scholar, Science Direct, Scopus, PubMed, libros, disertaciones, tesis e informes científicos de comunidades rurales, periurbanas y marginales con déficit de servicios de atención primaria. De 101 (6,6%) cerca de 665 especies de uso etnomedicinal destacan los géneros Indigofera, Senna, Albizia, Rhynchosia y Vachellia; preferentemente los arbustos (39,0%), árboles (37,0%) y hierbas (18,0%) y de los órganos las raíces (80,2%), hojas (36,6%), corteza del tronco (27,7%) y frutos (8,9%). Entre los 134 usos, destacan los problemas gastrointestinales, respiratorios, fertilidad, e infecciones de transmisión sexual, entre otros. Algunos estudios fitoquímicas y farmacológicas, certificaron su utilidad en salud; pero concluyeron que, es imprescindible, conocer el riesgo histotóxico, las alteraciones bioquímicos y parámetros farmacocinéticos (12).

En el año 2022 se publicó una revisión sobre medicina tradicional. El insumo fue tomado de la base de Scopus y el análisis se hizo con VOSviewer.Var1.6.6, Bibliometrix y R studio. El estudio mostró un incremento sostenido de los estudios sobre etnofarmacología desde 1990; con un total de 22 071 autores siendo el más productivo Yiling Wang (303) del Instituto de Control de Drogas de Shanghai, China, mientras que de las revistas con mayor cantidad de publicaciones fue Journal of “Evidence-based Complementary and Alternative Medicine” y “Journal of Ethnopharmacology” y los líderes y financistas fueron instituciones chinas, japonesas e hindúes. En conclusión el análisis sigue un patrón global de investigación en medicina tradicional (MT), útil para decisiones políticas; pero refieren que falta colaboración en los países en desarrollo, en esta época presionada por lo verde y natural (2).

En el año 2022, se publicó el perfil de toxicidad aguda (TA) y subaguda TSA de *Erodium guttatum* en roedores menores siguiendo la Directiva de la OCDE. Los

ratones sobrevivieron a la dosis máxima (2000 mg/kg de masa corporal) y complementariamente la toxicidad subaguda reveló un incremento discreto de células blancas, plaquetas y hemoglobina; así mismo hubo un descenso de la concentración de la enzima aspartato aminotransferasa, y un incremento de la alanina aminotrasferasa, que eran concordantes con ligeros cambios histopatológicos en el tejido hepático; a nivel sérico la creatinina y la urea estaban normales pero con muy ligero cambio en el tejido renal y pancreático. Concluyeron que el extracto de la especie botánica no dio signos clínicos de daño tóxico (13).

En ese mismo año 2022 se dio la métrica de TA y subcrónica (TSC) de los extractos hidroetanólicos de hoja, corteza de tronco y raíz de *Pterocarpus santalinoides*. El diseño experimental de TA se dio como dosis máxima 5000 mg/kg de m.c. y la TSC a dosis diaria diferenciada de 500 y 1000 mg/kg de m.c. en *Rathus novergicus* por 28 días. Los extractos de los 3 órganos no resultaron mortales; pero en el caso de la corteza los animales inoculados con 1000 mg/kg registraron cambios en el pelaje y signos de aletargamiento en las ratas, más sin alteraciones macroscópicas en hígado y riñones, más si presentaron diarrea y caída de la masa corporal. Concluyeron que la dosis única de *P. santalinoides* no es tóxica; pero las dosis repetidas si mostraron algunos signos de afectación (3).

En el año 2020, reportaron la TA de la decocción de folias de *Sesbania pachycarpa* DC. e *Indigofera berhautiana* Gillett (Fabáceas) en ratones cepa NMRI; a dosis de 5, 50, 300 y 2000 mg/kg de m.c. Los extractos de ambas especies resultaron inocuos con 0% de mortalidad en todas las concentraciones y el promedio de la ganancia de peso para los controles y las especie *S. pachycarpa* DC e *I. berhautiana* Gillett a la dosis máxima fue de 1, 2 y 3 g respectivamente. Concluyeron que ambas especies no son toxicas a dosis terapéutica (14).

1.2. BASES TEÓRICAS

1.2.1. Aspectos generales de la especie en estudio

A. Clasificación Taxonómica según APG de *C. angustifolia* spruce ex Benth (15)

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Rosidae
Orden	: Fabales
Familia	: Fabaceae
Subfamilia	: Caesalpinioideae
Tribu	: Caesalpinieae
Género	: Campsiandra
Especie	: angustifolia spruce ex Benth
Nombre Común	: huacapurana

Género ***Campsiandra***, corresponde a árboles inermes. Posee hojas alternadas imparipinnadas, constituidas por nueve foliolos grandes que se disponen de forma opuesta o casi opuesta, con forma alargada y terminación puntiaguda. El raquis es aplanado, las estípulas son pequeñas, caedizas o pueden estar ausentes. Las flores, que se agrupan en racimos terminales cortos y en forma de corimbo, pueden ser blancas o rosadas. Los sépalos son libres y dispuestos de manera imbricada, al igual que los pétalos, que son oblongos. Presenta entre 15 y 60 estambres, cuyas anteras se abren longitudinalmente. Los frutos de 20 por 5 cm, legumbre aplanada, recta o curvada, coriácea, bivalvo y marginada en la sutura dorsal. El género *Campsiandra* reporta 23 especies, pero de ellas son aceptadas 18 especies (15).

Posee hojas alternas, imparipinnadas, compuestas por nueve foliolos grandes que se disponen de forma opuesta o casi opuesta, con forma alargada y terminación puntiaguda. El raquis es aplanado

De acuerdo al screening fitoquímico de la corteza de la especie *C. angustifolia*, se reporta presencia de metabolitos secundarios como saponinas y taninos, también en menor cantidad presencia de triterpenos y esteroides. En cuanto a los metabolitos primarios se reporta contenido de aminoácidos (16)

Dentro de los usos etnomédicos, de la especie *C. angustifolia* se consume la decocción de la corteza de tronco en casos de malaria (17), también se consume macerado en aguardiente en caso de dolores reumáticos, fiebre en catarsis intestinal y en otras dolencias febriles. Asociado a otras cortezas en forma de bebidas afrodisiacas hidro-etanólica, que tienen nombres muy sugestivos “siete raíces”, “21 raíces” y “RC”. se consume como tónico energizante (16).

Por otro lado, también se reporta estudios de metalo-toxicidad por cadmio, ya que se encontró valores superiores al máximo permitido en material herbal para uso en salud (6) .

1.2.2. Ensayos de toxicidad de sustancias de prueba

Los ensayos biológicos son muy útiles para determinar la toxicidad de sustancias y productos químicos. Los modelos biológicos pueden ser organismos como bacterias, algas, especies de flora y fauna; las cuales al recibir una concentración conocida de una sustancia experimental dan una respuesta que se traduce en una métrica de la relación dosis/efecto. Los niveles de respuesta pueden darse a los diferentes niveles de la organización de los seres vivos. Y se evalúa de forma cuantitativa (individuos que muestran el efecto) o por grado de afectación (18).

En los ensayos de toxicidad, de acuerdo con el tiempo de duración y el número de especies en prueba se puede clasificar en a) ensayo de toxicidad aguda b) ensayo de toxicidad crónica y c) ensayos multi especies.

Tanto la toxicidad aguda como la crónica pueden darse en un sistema termodinámico, cerrados donde el medio puede o no ser renovado o abierto. El sistema cerrado sin recambio de medio es práctico y de bajo costo, presenta una

dinámica estática. El sistema cerrado con recambio tiene una dinámica de recambio de solución diaria o de cambio de recipiente de los animales de experimentación. El sistema abierto busca mantener a lo largo del tiempo de evaluación una constante de las condiciones, es más costoso, puede requerir de sistemas de bombeo en equipos con diseños apropiados para ello.

La actividad medida en el caso de la toxicidad aguda son los efectos no esperados; (letal o subletal), que aparecen en los modelos biológicos, durante el tiempo de experimentación de la sustancia en experimentación. El tiempo de duración depende de la especie, de manera que la duración puede ser de horas o días(18).

La toxicidad aguda es un ensayo toxicológico preclínico de “todo o nada” se evalúa si el modelo biológico vive o muere, luego de la exposición a la sustancia de prueba; donde los animales dentro del periodo de experimentación pueden experimentar mínimamente dentro de las 24 h) cambios de comportamiento o letalidad. Esto se observa en los estudios *in vitro* de citotoxicidad, a estudios de una o dos semanas como los ensayos *in vivo* en roedores.

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico OECD en las diferentes temáticas de la categoría de “Seguridad Química y Bioseguridad” regula ensayos biológicos que sirven de guía a 33 países, a fin de uniformizar los ensayos y su plan de análisis (6).

Directiva 401 dio origen a la directiva 423 de la OCDE (1996) para el Ensayo de Productos Químicos que se actualiza con periodicidad. Esto tomado en un acuerdo internacional basado en una revisión sobre el historial de los valores de la dosis letal cincuenta (DL₅₀), para la clasificación de sustancias químicas y la suficiencia de la prueba en el uso de individuos solo del sexo femenino. Se estableció en esta guía un procedimiento mínimo con 3 animales, administrados con una dosis única alta adecuadamente prefijadas y el efecto medido dentro de los 14 ó 21 días, es la mortalidad que incluye a los animales sacrificados por estar en estado de agonía. Estos criterios permiten evaluar y clasificar el riesgo de los productos y compuestos químicos (6).

La Directiva 401 en sus anexos muestra una versatilidad de pruebas de toxicidad oral aguda, su elección e información para ejecutar, así como la elección de las dosis según la naturaleza de las sustancias a ser administradas y evaluadas según la Directriz de prueba 423 y signos que identifiquen a los animales que hay que sacrificar por sufrimiento indebido(19).

La Organización mundial de la salud (OMS) relaciona la dosis letal media (DL 50), con la toxicidad. De acuerdo con los resultados es posible clasificar las sustancias en concordancia con el Sistema Globalmente Armonizado; de manera que, se considera rangos de toxicidad en base a un historial de publicaciones de dosis letales 50 para una versatilidad de sustancias. Es así que se considera para la vía oral, muy tóxico a resultados igual o menor a 25 mg/kg de m.c., tóxico entre 25 a 200 y nocivo entre 200 a 2000 mg/kg (6).

Si bien el efecto principal a medir es la muerte de los animales, considerando la contribución de seres vivos a la ciencia en bien de la humanidad; es que, se suele incluir en muchas investigaciones los estudios de parámetros bioquímicos y de histopatología de los órganos parenquimales básicamente suelen complementar el estudio básico de toxicidad, que puedan orientar otros estudios posteriores, farmacológicos como toxicológicos (20).

1.2.3. Criterios de valoración de la toxicidad aguda

El **criterio principal** para evaluar la toxicidad aguda según la directiva de la OCDE es la muerte espontánea del animal dentro del periodo de experimentación, luego de la inoculación con una dosis única de prueba. La TA para compuestos o mezclas de sustancias químicas se basa en utilizar una **dosis límite** generalmente prefijada en 2 g/kg y excepcionalmente va a 5 g/kg (21). De acuerdo a la prueba principal se pueden usar varias dosis predeterminadas, eso ayuda a que probar la repetibilidad de la prueba principal.

La prueba de TA ayuda a estimar la dosis letal 50 (DL₅₀) con un intervalo de confianza, y así determinar rangos definidos de exposición dentro de los cuales se espera la ocurrencia de muerte. La prueba de TA da información consistente que permite clasificar la sustancia química en ensayo, según el Sistema Globalmente Armonizado (SGA) de sustancias y mezclas químicas de la presente Directriz OCDE 425. Es decir, la TA determina valores en rango de DL₅₀ según la clasificación de sustancias químicas sin que la DL₅₀ sea precisa. El método determina la DL₅₀ entre dos dosis una > 0% DL₅₀ < 100% (21).

Internacionalmente para la TA se ha aprobado el uso de animales hembras, por ser más sensibles que los machos; de preferencia se usan ratas u otro roedor. La elección de la prueba principal permite trabajar a diferentes dosis teniendo en cuenta que la pendiente dosis respuesta no sea muy inclinada y la dosis máxima sea 2 g / kg. Las dosis se eligieron según el historial de dosis de prueba trabajadas con otras especies de uso en étnomedicina, que da cuenta que su consumo está muy difundido en diferentes grupos de la región Loreto; esto con el fin de comparar.

1.2.4. Valoración de la clínica del animal a través del comportamiento.

La afectación de la sustancia de prueba se evalúa en los animales observando los signos de toxicidad. La OCDE hace referencia a prestar atención a las manifestaciones conductuales del animal que se asocian a un determinado sistema, el mismo que al verse afectado determina el comportamiento. De allí que es necesario observar transformaciones en la piel y mucosas, pelaje, ojos oreja y cola. Así también los cambios en los sistemas: respiratorio, circulatorio, autónomo y nervioso central, somatomotor que se relacionan a la conducta. Es relevante observar la ocurrencia de temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, sueño y coma (21).

En los anexos 3 y 4 se considera tablas que permiten asociar la conducta con una estructura funcional o campo nervioso, que sirvieron para valorar la clínica del animal.

Los **pesos** corporales individuales de los animales es importante registrarlos semanal; normalmente el animal va a ganar peso; por lo que, la interrupción de la ganancia de masa indica afectación sobre todo en el hígado u otro órgano, de manera que la diferencial de peso entre el día cero y catorce es un criterio importante para evaluar la TA(21).

Las **pruebas bioquímicas** en clínica contribuyen a determinar el estado funcional de los órganos internos. La directriz de la OCDE no exige el estudio bioquímico para los animales sometidos a una evaluación toxicológica aguda, pero deja abierta la posibilidad de hacerlo; pero si son importantes en evaluación de TSA. Sin embargo, los valores pueden aportar información. Los ratones son muy útiles en investigación farmacéutica por su rápida reproducción y manejo en el laboratorio. Cuando se mide la TA siempre se incluye un grupo control para comparar con los grupos experimentales; pero es importante tener valores históricos referenciales (22).

Existen publicaciones científicas de valores hemáticos y bioquímicos de ratones cepa Swiss y de otros roedores como la rata, que sirven de parámetros para comparar. La técnica de extracción común es la punción cardiaca previa anestesia; que puede ser con éter dietílico (22), ketamina /diazepam. Es conveniente que el suero sea transparente sin trazas de hemolisis, ni lipemia; siempre debe esperarse unos 15 a 20 min antes de centrifugarlo, para poder separar el suero.

Se conoce que la volemia del ratón representa el 7% de la masa corporal del ratón (22). Sin embargo, existe la posibilidad de determinar con tiras reactivas y un equipo digital los valores de hemoglobina (Hb), glucosa y lípidos; para ello se necesita unas gotas de sangre total de del extremo caudal del ratón. De esa manera, se pueden obtener diferentes parámetros bioquímicos.

La histología de los órganos, las manifestaciones macroscópicas importantes deben consignarse por individuo; sin embargo, también es posible registrar los cambios microscópicos. Ver si el corte histológico es normal o por el contrario presenta algunas alteraciones vascular o tisular pueden ser indicios de afectación

de algún determinado órgano; que puede deberse a la sustancia de prueba y de ser analizada bajo la luz de la estadística podría ser de utilidad para orientar otros estudios farmacológicos y toxicológicos (21).

1.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Toxicidad a dosis única: es la medición de la toxicidad aguda luego de la inoculación de una sola dosis de una sustancia de prueba. Se busca valorar la manifestación de eventos adversos en la conducta del animal, que den indicios de afectación en el sistema nervioso o motor del animal de prueba (3).

Periodo de observación: Dentro del tiempo considerado que mínimo debe ser de 14 días, se procura identificar manifestaciones de comportamiento de conducta que indiquen afectación en el sistema nervioso o alteración motora sobre todo durante las 4 a 6 primeras horas de inoculados y de manera especial la muerte del animal (6).

Pruebas bioquímicas: Son los valores de sustancias químicas que normalmente se miden en sangre para verificar el estado de ciertos órganos internos (22).

Signos Clínicos: en los animales se observan las manifestaciones de conducta como temblores, convulsiones, salivación, diarrea, sedación, aletargamiento entre otros; pero también es importante registrar el tiempo de ocurrencia; así mismo toma en cuenta el deceso espontáneo y los pesos al inicio, a la semana y al final del periodo de evaluación (23).

Necropsia: De todos los animales para visualizar alteraciones vasculares y tisulares que orienten el daño hacia determinados órganos (28).

Dimetilsulfóxido (DMSO): Es una especie química orgánica de múltiples usos, como solvente polar que se liga a moléculas orgánicas e inorgánicas, criopreservador, insumo farmacéutico como componente activo (analgésico y

antiinflamatorio) y como vehículo para productos tópicos. El DMSO cuenta con la aceptación por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA) en casos de cistitis intersticial (3).

CAPITULO II: HIPOTESIS Y VARIABLES

2.1. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

H₁. Los extractos etanólico de raíz, corteza y hojas de la especie *C. angustifolia* en estudio no muestran signos tóxicos agudos por vía oral en *Mus musculus* balb/C a las dosis de 25, 200 y 2000 mg/kg.

2.2. VARIABLES Y SU OPERACIONALIZACIÓN

2.2.1. Variables

2.2.1.1 Variable independiente

Extracto etanólico constituido por varias soluciones de corteza, raíz y hojas molidas y maceradas en etanol al 96%.

2.2.1.2 Variable dependiente

Toxicidad aguda, determinada siguiendo las Directrices de la OECD N°423 – Clases Tóxicas Agudas CTA, para medir el daño oral agudo que puedan ocasionar los extractos vegetales en ratones albinos (6).

.2.2.2. Operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Tipo por naturaleza	Indicadores	Escala de medición	Valores de las categorías	Medios de verificación
V. independiente Extracto etanólico	Producto de la maceración a T°. Amb. 25 °C de los órganos de cada especie con etanol por 48 hrs. Con renovación de solución y posterior evaporación del mismo, hasta obtener un extracto seco.	Cuantitativo	Dosis de: 25, 200 y 2000 mg/kg	escala		Fichas de recojo de datos
V. dependiente Toxicidad aguda	Son efectos medibles u observables en los ratones, luego de ser administrados con diferentes concentraciones de solución etanólica de la raíz, corteza y hojas de <i>C. angustifolia</i> Spruce Ex Benth (huacapurana)	Cualitativo Cualitativo Cualitativo	- Signos clínicos de toxicidad - Valores bioquímicos -Características macroscópicas de órganos - Características histo-anatómicas de cortes de órganos	nominal nominal nominal nominal	Presencia = 1 Ausencia = 2 Normal = 1 Alterado = 2 Normal = 1 Alterado = 2 Normal = 1 Alt.vascular = 2 Alt.tisular = 3	Fichas de recojo de datos

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. MÉTODO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El estudio fue de tipo descriptivo, experimental, se observaron parámetros clínicos, bioquímicos y anatomo-histológicos (tejidos, órganos y sistemas) en el modelo biológico *Mus musculus* cepa Balb /C tratados con las diferentes concentraciones del extracto vegetal propuestas para el estudio.

3.2. DISEÑO MUESTRAL

Población: La población vegetal estuvo representada por los individuos de la especie *C. angustifolia* (huacapurana), que habitan en los transectos por donde incursionan al bosque los lugareños (materos).

Muestra: Estuvo representada por Aprox. 2 kg de cada órgano a evaluar como son raíz, corteza y hojas procedentes de un árbol de *C. angustifolia* (huacapurana) que fue georeferenciado (s° 03 49 48.6 w073 22 30.3). El muestre fue por conveniencia, para ello se incursionó al bosque por un transecto y se eligió un árbol de la especie en estudio, que cumplió con los criterios de inclusión de ser adulto de apariencia sana, libre de plantas parásitas y hojas sanas.

Unidad de análisis: Fue el potencial toxicológico da raíz, corteza y hojas de *C. angustifolia*. La unidad de muestreo fue un árbol de la especie en estudio, que habita en las cercanías de un transepto del bosque aledaño accesible desde Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas, región Loreto, cuya georeferenciación se muestra líneas arriba.

Población animal: Fueron los ratones albinos *Mus musculus* cepa Balb C criados en un bioterio para animales menores. La muestra animal estuvo representada por ratones hembra, de 4 a 6 semanas que luego de adquirirse de un centro de producción animal pasaron por un periodo de cuarentena en el Laboratorio de Farmacología experimental de la FFB-UNAP.

Tipo de muestreo de los modelos biológicos: La conformación de los grupos de trabajo tanto experimentales como el control negativo se realizó por muestreo aleatorio simple. Los ratones se extrajeron de la jaula y se asignaban a uno de los grupos de trabajo, previamente elegido por la extracción de una bolilla que contenía el número de la jaula. En un ánfora (cajita) se tenían las bolillas con los números de las jaulas.

3.3. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se adoptó el método de las Clases Tóxicas Agudas según la directiva 423 y 425 (OECD Guideline For Testing of Chemical). Se adquirieron los animales del Instituto de Medicina Tradicional (IMED). La evaluación duró 2 semanas. Los datos se registraron en las fichas de reporte analítico consideradas en el anexo 2, entre ellos, la masa corporal, el comportamiento conductual, los valores bioquímicos y las observaciones de los cortes anatómo-histológicos.

El procedimiento fue el siguiente:

- a. Se recolectaron y acondicionaron las muestras vegetales.
- b. Se prepararon los extractos etanólicos, con 50 g de muestra en etanol en cantidad suficiente para alcanzar un nivel por encima de 2 cm del material vegetal. La extracción se hizo en frío en oscuridad y con renovación de solvente cada 2 a 3 días.
- c. Los animales se pusieron en aclimatación de una semana, en condiciones de exposición a la luz, alternados con 12 horas de oscuridad, a 25°C y a una humedad no mayor del 70%; con comida y bebida *at libitum*. (a libre disposición)
- d. Del extracto seco de cada órgano en prueba de la especie vegetal en estudio, se prepararon las soluciones de trabajo a 25 mg/mL y 200 mg/mL, estas concentraciones permitieron volúmenes de inóculo por debajo de 0,5 mL que se constituía en una única dosis.
- e. Se formaron los grupos al azar con cinco ratones cada grupo. Los ratones se identificaron con una marca y se les acomodó en jaulas

- (microambientes), observándolos durante cinco días para evaluar la convivencia.
- f. En el primer día (día cero) se registró el peso de cada animal; después se repitió el registro de peso al séptimo y catorceavo día.
 - g. Se calcularon las dosis individuales según peso de cada ratón [V.I.= (dosis * $W_{\text{ratón}}$) / Concentración].
 - h. Se procuró un ayuno de 4 horas previas a la administración, pero se dejó el acceso al agua.
 - i. Se valoró el potencial toxicológico agudo de cada órgano vegetal con la dosis más baja (25 mg/Kg), con la administración de una dosis única mediante una sonda nasogástrica.
 - j. Después de dos semanas se trabajó con los grupos experimentales correspondientes a la siguiente dosis (200 mg/Kg). Se consideró un grupo control negativo.
 - k. La dosis de 2000 mg/Kg no fue necesario administrarla debido a los resultados ostensibles que se presentaron con la dosis de 200 mg/Kg; por lo que se dio por terminada la prueba. Esto fue porque luego de inoculada la dosis de prueba de 200 mg/Kg, se observó variaciones comportamentales en los animales durante las 4 horas de observación.
 - l. Durante los catorce días se les observó dos veces al día y a los animales que perdían la vida se les practicó la autopsia. El alimento les fue restituido luego de dos horas de la administración de la dosis de prueba.
 - m. Al catorceavo día se registra la masa de cada animal y se da inicio a las mediciones por **pruebas rápidas** de valores bioquímicas que consiste en cortar la puntita de la cola del ratón con una tijera, desechar la primera gota y verter una o dos gotas de sangre total en los equipos digitales para leer la hemoglobina, glucosa, colesterol y triglicéridos.
 - n. Posteriormente se anestesió a los animales con cloroformo para practicarles la punción cardíaca y obtener las muestras para el resto de las pruebas bioquímicas. La sangre se coloca en un microtubo, se deja reposar durante 15 min, luego con un palillo de dientes se desprende el borde del coágulo de las paredes del microtubo, se centrifuga durante 3 a 5 min a 1500 rpm. Luego se extrae el suero con una micropipeta, que se trasfiere a otro microtubo y a partir de allí se realizan las mediciones de

los demás parámetros bioquímicos como son urea, creatinina, TGO, TGP, fosfatasa alcalina. Solo se añade una mínima cantidad de suero más el reactivo requerido para cada prueba según los kits de reactivos de Human.

- o. A los animales sacrificados se les practicó la necropsia para extraer los órganos a observar. Los órganos considerados para observar fueron el cerebro, corazón, pulmones, hígado y riñones, a los cuales se les realizó el estudio macroscópico (observación física visual y registró los pesos de cada órgano) y microscópico (observación en busca de alteraciones tisulares).

3.4. PROCEDIMIENTO Y ANÁLISIS DE INFORMACIÓN

La data registrada fue procesada en Excel y los datos de naturaleza cuantitativa y cualitativa se presentada de acuerdo a la estadística descriptiva.

3.5. ASPECTOS ÉTICOS

El proyecto no consideró eliminar ningún individuo de la especie vegetal en la prueba, las muestras colectadas solo ocasionaron daños al árbol; pero que pueden ser auto superadas por el árbol. Se consideró el principio de las 3R de Russell y Burch; si bien no se pudo reemplazar la prueba *in vitro* por una prueba *in vivo*, se buscó reducir al mínimo el número de animales; pero que asegure obtener resultados con valor estadístico. Por otro lado, la metodología a seguir tomo en cuenta el refinamiento del trabajo con los animales por contribuir en bien de la humanidad. El proyecto del cual forma parte la tesis fue revisado por el Comité de ética del Hospital Regional de Loreto (Anexo 6).

Además, recibieron un trato digno de acuerdo con las normas de manejo de animales en investigación como es la Ley No 27265 de protección y bienestar animal y a la guía de la National Academy of Sciences (NAS).

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

En los grupos experimentales la tasa de mortalidad de los *M. musculus* (ratones albinos) expuestos a las soluciones etanólicas de los órganos (raíz, corteza y hojas) de *C. angustifolia* a la dosis de 25 mg/ kg de m.c. fue en promedio para los órganos vegetales de raíz, corteza y hojas de 60, 20 y 20 % y a la dosis de 200 mg/ kg fue de 80, 40 y 40 % respectivamente.

Tabla 1. Reporte de pesos (g) de los modelos biológicos *M. musculus* hembras (♀) y de sus órganos, del grupo control negativo inoculados con dimetilsulfóxido (DMSO)

Ratón	día 0	día 7	día 14	Diferencia de peso	pulmón	corazón	riñón	hígado	cerebro
Blanco	28,8	32,40	34,19	5.39	0,25	0,13	0,31	1,60	0,36
Cabeza	28,5	32,44	35,93	7.43	0,27	0,16	0,40	1,98	0,39
Lomo	28,8	36,6	31,75	2.95	0,36	0,14	0,32	1,37	0,46
Cola	28,0	30,18	32,15	4.15	0,22	0,14	0,34	1,79	0,40
P.D.D	27,9	31,96	34,19	6.29	0,29	0,22	0,40	1,80	0,44

De la tabla 1 se deduce que el grupo DMSO tuvo en promedio un diferencial de peso entre el día 0 y el 14avo día de 5,24 g con un rango de 2,95 a 7,43 g y una DS de 1,757. La diferencial de peso de los individuos en prueba de los diferentes grupos experimentales entre el día 0 y 14avo día tras la administración de las dosis de 25 y 200 mg/ kg en promedio fueron: para la raíz 25,74 /23,68 g y 26,02 / 23,7 g; para la corteza 29,04 / 29,62 g y 28,74 / 24,33 g y para las hojas de 27,48/27,77 g y 27,24 / 26,80 g respectivamente.

De la tabla 2 se deduce que al finalizar el experimento de toxicidad aguda de los extractos de *C. angustifolia* (huacapurana) distribuidos en 6 grupos experimentales, se encontró que en 4 grupos los ratones perdieron masa corporal (entre 2,06 a 4,41 g); siendo mayor la pérdida en el grupo experimental del extracto de corteza a una dosis de 200 mg/kg. En los grupos de corteza y

hojas (dosis de 25 mg/kg) la ganancia de masa corporal fue mínima de 0,29 y 0,58 g.

Tabla 2. Promedios de los pesos por grupos experimentales de los extractos de *C. angustifolia* (huacapurana).

Organo vegetal	Dosis (mg/kg)	día 1	día 7	día 14	Dif. de peso
Raiz	25	25.74	23.04	23.68	-2.1
Corteza	25	29.04	27.60	29.62	0.58
Hojas	25	27.48	25.96	27.77	0.29
Raiz	200	26.02	26.6	23.7	-2.32
Corteza	200	28.74	27.57	24.33	-4.41
Hojas	200	27.24	27.4	26.80	-0.44

Tabla 3. Promedios de los pesos de los órganos, por grupos experimentales de los extractos de los órganos vegetales de *C. angustifolia* (huacapurana)

Organo vegetal	Raiz		Corteza		Hojas	
	25	200	25	200	25	200
pulmón	0.242 (± 0.128)	0.362 (± 0.227)	0.314 (± 0.091)	0.5 (± 0.222)	0.31 (± 0.172)	0.368 (± 0.209)
corazón	0.136 (± 0.024)	0.136 (± 0.049)	0.128 (± 0.025)	0.148 (± 0.031)	0.188 (± 0.097)	0.156 (± 0.097)
riñón	0.376 (± 0.080)	0.372 (± 0.050)	0.236 (± 0.084)	0.338 (± 0.050)	0.364 (± 0.106)	0.372 (± 0.120)
hígado	1.504 (± 0.499)	1.84 (± 0.602)	1.552 (± 0.466)	1.378 (± 0.499)	1.448 (± 0.120)	1.324 (± 0.183)
cerebro	0.322 (± 0.226)	0.342 (± 0.064)	0.386 (± 0.027)	0.28 (± 0.201)	0.36 (± 0.082)	0.292 (± 0.132)

La conducta de los ratones albinos (♀) de la cepa Balb/C que conformaron el grupo control negativo (DMSO) dejó ver una actividad espontánea en todos ellos y se registró una ganancia de pesos en todos, según fueron identificados como: blanco (5,39 g), cabeza (7,43 g), lomo (2,95 g), cola (4,15 g) y pata delantera derecha (PDD) (6,29 g); siendo la ganancia de masa corporal en promedio de 5,24 g (± 1,757) en este grupo. Además, todos los ratones estaban vivos al finalizar los 14 días que duró la prueba de toxicidad aguda.

Tabla 4. Manifestaciones conductuales de los ratones albinos (♀) de la cepa balb C que recibieron los diferentes extractos etanólicos (raíz, corteza y hojas) de *C. angustifolia* (huacapurana) a la dosis única de 25 mg/kg por vía oral.

Ratón	Comportamiento	Condición final	Afectación
Raíz		60 % de muerte	
Blanco	Respiración rápida	Muerto día 7	Exitación SNC
Cabeza	Actividad espontánea	Vivo día 14	ninguna
Lomo	Actividad espontánea	Vivo día 14	ninguna
Cola	Actividad espontánea	Muerto día 13	ninguna
P.D.D	Actividad espontánea	Muerto día 12	ninguna
Corteza		20 % de muerte	
Blanco	Actividad espontánea	Vivo día 14	ninguna
Cabeza	Respiración rápida	Muerto día 8	Exitación SNC
Lomo	Respiración rápida, temblores	Vivo día 14	Exitac SNC
Cola	Muy tranquilo	Vivo día 14	Depres SNC
P.D.D	Temblores	Vivo día 14	Exitación SNC
Hojas		20 % de muerte	
Blanco	Actividad espontánea	Vivo día 14	ninguna
Cabeza	Respiración rápida y pasivo	Muerto día 12	Exitac/depre SNC
Lomo	Actividad espontánea	Vivo día 14	ninguna
Cola	cola curvada	Vivo día 14	Exitación SNC
P.D.D	cola curvada	Vivo día 14	Exitación SNC

A la dosis de 25 mg/kg m.c. el grupo raíz mostró un comportamiento con actividad espontánea, más la mortandad fue del 60 %. En los grupos corteza y hojas en cada uno se reportó un 20 % de muertes y referente al comportamiento mostraron actividad espontánea en un 20% y 40% respectivamente y la afectación por excitación del SNC en ambos fue de 60% (respiración rápida y cola curvada) y un ratón además alterno la excitación con pasividad, dos presentaron cola de Straub y un animal presentó temblores. Con respecto a las muertes en los tres grupos excepto una, se dieron predominantemente en la segunda semana de la prueba.

Tabla 5. Manifestaciones conductuales de los *M. musculus* (♀) cepa balb C que recibieron los diferentes extractos etanólicos (raíz, corteza y hojas) de *C. angustifolia* (huacapurana) a una dosis de 200 mg/kg respectivamente por vía oral

Ratón	Comportamiento	Condición final	Afectación
Raíz		80% de muerte	
Blanco	Actividad espontánea	Vivo día 14	ninguna
Cabeza	Adormilado	Muerto día 2	Depres SNC
Lomo	Respiración rápida, ataxia	Muerto día 1	Exitac/depre SNC
Cola	Agitación y ataxia	Muerto día 1	Exitac/depre SNC
P.D.D	Adormilado	Muerto día 3	Depres SNC
Corteza		40% de muerte	
Blanco	Respiración rápida, quieto	Muerto día 2	Exitac/depre SNC
Cabeza	Agitación y luego quieto	Vivo día 14	Exitac/depre SNC
Lomo	Activo, luego adormilado	Muerto día 2	Exitac/depre SNC
Cola	Actividad espontánea	Vivo día 14	ninguna
P.D.D	Orejas rojas, agitado y tiembla	Vivo día 14	Exitac SNC
Hojas		40% de muerte	
Blanco	Respiración rápida	Vivo día 14	Exitac SNC
Cabeza	Adormilado (analgesia)	Vivo día 14	Depres SNC
Lomo	Adormilado	Vivo día 14	Depres SNC
Cola	Respiración rápida	Muerto día 2	Exitac SNC
P.D.D	Ataxia	Muerto día 1	Depres SNC

Mas con la inoculación de 200 mg/ kg de m.c. la mortalidad para los extractos de la corteza y hojas fue de 40 % en cada grupo y en el grupo raíz la mortalidad fue de 80 %; en cuanto al comportamiento, este fue alternado entre manifestaciones de quietud, agitación, respiración rápida, ataxia, cola de Straub y temblores.

Con respecto a las muertes en el grupo raíz a la dosis de 200 mg/kg hubo 80% de muertes y se dieron en la primera semana de la prueba, él único sobreviviente estaba moribundo. En el grupo corteza y hojas en cada una ocurrieron dos muertes que también se dieron en la primera semana

Tabla 6. Parámetros bioquímicos de los *M. musculus* (♀) de la cepa balb C del grupo control negativo que recibieron DMSO.

Ratón	Hb (mg/dL)	Glucosa (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicer. (mg/dL)	TGO (mU/mL)	TGP (mU/mL)	FA (mU/mL)
Blanco	13,7	163	0,39	188	161	60	45	120
Cabeza	16,5	129	0,77	136	177	104	14	237
Lomo	18,8	133	0,85	201	158	333	335	253
Cola	18,3	152	0,40	191	92	24	32	81
P.D.D	16,1	172	0,60	156	142	175	530	242

Tabla 7. Valores bioquímicos de los animales inoculados con los diferentes extractos (raíz, corteza y hojas) de *C. angustifolia* (huacapurana) con dosis de 25 y 200 mg/kg de m.c.

Org. vegetal	Raíz		Corteza		Hojas	
	25	200*	25	200	25	200
Hb	15.50 (± 0.283)	16.30	15.35 (± 0.759)	15.5 (± 0.873)	16.03 (± 0.479)	15.53 (± 0.862)
Glucosa	134.50 (± 21.920)	95.00	137.75 (± 15.130)	152.67 (± 4.041)	128.50 (± 28.065)	87.00 (± 6.245)
Creatinina	0.69 (± 0.127)	---	0.88 (± 0.678)	0.503 (± 0.140)	0.618 (± 0.249)	0.55 (± 0.069)
Colesterol	201.00 (± 9.899)	213.00	196.50 (± 35.819)	186.33 (± 13.576)	207.75 (± 29.859)	202.67 (± 27.209)
Triglicéridos	162.50 (± 125.158)	204.00	226.50 (± 42.430)	133.33 (± 12.014)	203.50 (± 67.392)	169.33 (± 16.743)
TGO	127.50 (± 9.192)	---	79.75 (± 40.459)	156.67 (± 46.972)	77.00 (± 18.655)	211.33 (± 180.278)
TGP	79.50 (± 0.707)	---	67.50 (± 13.102)	28.67 (± 7.638)	44.50 (± 19.958)	39.33 (± 9.815)
FA	98.50 (± 3.535)	---	106.00 (± 47.756)	189.00 (± 81.615)	90.00 (± 68.401)	187.33 (± 55.824)

* En el grupo raíz a la dosis de 200 mg/kg solo sobrevivió un ratón, por lo que se pudo medir los valores de creatinina y de las enzimas marcadoras hepáticas.

En los órganos extraídos de cada animal del grupo control negativo (DMSO) se evaluaron los parámetros de color, aspecto y consistencia que en su mayoría mostraron características normales. A los *M. musculus* de los grupos experimentales a la dosis de 25 mg/kg los órganos internos presentaron color,

aspecto y consistencia cercano al grupo control. A la dosis de 200 mg/kg los órganos de los animales de los diferentes grupos experimentales algunos presentaron a la evaluación física del color cierta palidez u oscuridad; el aspecto en general fue aparentemente liso y la consistencia algo blanda y poco depresible.

Los extendidos de la histología de los órganos internos de los *M. musculus* del grupo control negativo (DMSO) el 44% presentaron histologías normales y el resto presentaron congestión ligera. En el caso de los cortes histológico de los grupos experimentales (dosis de 25 mg/kg) tanto en las láminas del corazón como de los órganos parenquimales se observó 6 (8%) histologías normales, 19 (25,3 %) con alteración vascular a veces con extravasación de glóbulos rojos y 50 (66,7%) con daño tisular. Siendo el daño tisular de los órganos en el siguiente orden: los pulmones > corazón > riñones = cerebro > hígado.

En las láminas histológicas (dosis de 200 mg/kg) se observó 1(1%) normal, 24 (32%) con alteración vascular con presencia de micro coágulos y hemorragia y 50 (67%) laminas con daño tisular. Siendo la alteración tisular de los órganos en el siguiente orden: los pulmones > hígado = cerebro > corazón = riñones.

En total se observaron 7 (4,6%) histologías normales, 43 (28,7%) con alteración vascular y 100 (66,7%) con daño tisular; el daño fue mayor en los pulmones > cerebro > corazón = hígado > riñones. En el corazón se pudo apreciar lesiones de infarto y en los órganos parenquimales se observó isquemia periférica y en otros casos multifocal, necrosis que a veces era segmentaria y otras total; en los pulmones se observó atelectasia, neumonía focal o general y hepatización y en el cerebro necrosis e isquemia (Anexo 9).

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Los ratones son fisiológicamente muy semejantes a los humanos debido a estas características son elegibles para diferentes estudios preclínicos farmacológicos y toxicológicos. Hay reportes muy variados sobre la bioquímica de los roedores, las cuales en parte dependen de condiciones no solo de micro o macro ambiente, sino también de la alimentación y la cepa y otros factores. Esta variabilidad determina lo importante que es comparar los resultados de los grupos bajo test de prueba con el grupo control (24).

En los grupos experimentales los ratones que llegaron vivos al final del periodo de observación mostraron pérdida de peso a diferencia del grupo control negativo donde todos los ratones tuvieron un incremento de peso. En el caso de los ratones que murieron dentro del tiempo de duración de la observación, se registró su masa corporal post mortis. Según lo reportado por el “Centro de investigación del Hospital General Universitario de Valencia” que trabajó con roedores (ratas) la ruptura del incremento de peso corporal, así como la alteración de anomalías macroscópicas y microscópicas en los órganos y la incidencia de muerte se relacionan al efecto hepatotóxico (25).

Los resultados descritos en el párrafo 1 (capítulo IV) muestran que la tasa de mortalidad de *C. angustifolia* (Fabaceae) fue de 53,3%, frente a una tasa de 0% en el grupo control. Comparado con lo reportado por Ouattara y col. quienes reportaron una tasa de mortalidad de 0%, en un ensayo de toxicidad aguda a 200 mg/kg con dos especies de Fabáceas *Sesbania pachycarpa* DC. e *Indigofera berhautiana* Gillett, adicionalmente reportaron pérdida de peso en los animales que recibieron el extracto de *I. berhautiana*, hecho que suele relacionarse a daño preferentemente en el hígado (14).

En los animales de los test en prueba a la dosis de 25 mg/kg, los efectos conductuales en algunos animales se relacionaron a manifestaciones de comportamiento normales y en otros animales indicaban excitación del SNC. Mientras que en el conjunto de animales del test en prueba a 200 mg/kg se observó que algunos individuos mayormente presentaban manifestaciones de

comportamiento dual a veces conductas que indicaban depresión y otras veces excitación del sistema nerviosa central (SNC). Contrariamente otros animales manifestaron depresión del SNC al presentar ataxia y disminución de la actividad motora y un último grupo solo tuvo manifestaciones de excitación del SNC.

Así mismo Chillón y col. encontraron que los animales inoculados con el extracto etanólico de *E. globulus* presentaron un comportamiento de ansiedad y excitación; estos resultados muestran en parte cierta similitud en el comportamiento manifestado por los ratones inoculados con los extractos de los órganos de la especie de *C. angustifolia* (Fabaceae) seleccionadas para el presente estudio (26).

También Saxena reportó la observación de parámetros de comportamiento como acicalamiento, pereza, mordedura, tacto, reacción al dolor, temblores, convulsiones, agarre, pupilas retorcidas, predominantemente en las cuatro primeras horas; y solo observaron un comportamiento normal en las ratas que recibieron el extracto metanólico de la preparación ayurvedica ghrita (27). Esto es diferente de lo observado en el presente estudio, donde las manifestaciones de comportamiento a la dosis 25 mg/kg más de la mitad mostraron un comportamiento normal y el resto tuvo manifestaciones de excitación del SNC. Y a la dosis de 200 mg/kg las manifestaciones de comportamiento fueron predominantemente de depresión del SNC.

Al comparar la diferencia de peso reportada por Chillon y col. donde los animales tuvieron una ganancia de masa corporal en promedio para *Morinda citrifolia* 2,2 g y *Peperomia glauca* 3,7 g (26). En el presente estudio el grupo control mostró una ganancia de peso en todos los animales, siendo el promedio (5,24 g) mayor al reportado por Chillon y col.; pero en los grupos de animales inoculados con los extractos de los órganos de *C. angustifolia* hubo, en general pérdida de peso en promedio de 3,24 g.

En los grupos experimentales de la especie *C. angustifolia* (huacapurana) cinco ratones que recibieron dosis de 25 mg / kg y ocho ratones de la dosis de 200 mg / kg murieron y en ambas dosis fue a predominio del grupo inoculado con el extracto de la raíz y a mayor dosis la muerte se dio muy al inicio de la

investigación. Estos resultados difieren con los estudios revisados, donde hubo ausencia de muerte en la prueba de diferentes especies vegetales a la dosis límite de 2000 mg/kg; tres de las cuales eran fabáceas (3,13,14).

Los ratones del control negativo mostraron pesos de los órganos internos, dentro del porcentaje normal en relación con su masa corporal (28); a diferencia de los ratones de los grupos experimentales, donde los pesos de los órganos en algunos casos superaron el peso y pocos estuvieron por debajo del porcentaje del peso del órgano en relación a la masa total del animal.

La evaluación de la **bioquímica** en los animales es muy importante porque aporta información clínica. La **glucosa** tanto en los controles como en los grupos experimentales estuvieron dentro de los valores normales (98-152 mg /dL) para roedores, excepto en el grupo inoculado con el extracto de hojas a la dosis de 200 mg/kg cuyo valor promedio estuvo por debajo del valor mínimo (7 mg/dL); este resultado por debajo del rango indicaría que sería conveniente evaluar la histopatología del páncreas y ver la densidad de islotes de Langerhans. Según lo reporta el Centro de Investigación del Hospital General Universitario de Valencia la glicemia en roedores es mayor que en los seres humanos (25).

Los valores de creatinina de los grupos experimentales y del control, se encontraron dentro del rango de valores normales reportados para roedores (0,4 a 1,5 mg/dL), lo que indicaría que la función renal no estaría afectada (25).

Los valores de parámetros que ayudan a evaluar la función hepática, como glutámico oxalacética transaminasa (AST o GOT) en el grupo control el 80% de los animales tuvieron valores dentro de lo normal para ratas entre 49 a 173,099 U/L (19); otro autor reportó para ratones valores entre $95,63 \pm 26,00$ U/L (24). En los animales de los grupos experimentales la dosis de 25 mg/ kg se observó que los ratones presentan valores promedios casi en rango; pero fue más alto en el grupo raíz. Así mismo entre los grupos de esta dosis se dio la muerte espontánea de cinco ratones (33,3 %) durante el periodo de observación, siendo mayor la mortandad en el grupo raíz 60%). Si se tiene en cuenta que la muerte es el principal parámetro a evaluar en la TA y que este suceso se relaciona con

afectación al hígado, según lo reporta el “Centro de investigación del Hospital General Universitario de Valencia” (25) es importante tenerlo en cuenta.

De los animales que recibieron 200 mg/ kg m.c. (corteza y hojas) los valores fuera de rango tendieron a incrementarse. En el caso del grupo raíz solo sobrevivió un ratón y estaba moribundo; por lo que, no se le pudo extraer la sangre del corazón para evaluar el perfil hepático y renal. Por otro lado, las muertes para raíz y corteza en esta dosis se duplicaron y en el caso de raíz se puede decir que fue total, porque el único sobreviviente estaba moribundo. La GOT existe en varios órganos por lo que no es determinante para evaluar el hígado, pero es contributiva.

La enzima Glutámico pirúvico transaminasa (ALT o GPT) es un marcador hepático cuyos valores de los ratones del grupo control (40%) presentaron valores por encima o por debajo de los valores reportados como normales para su pariente roedor más cercano la rata (49 a 173,099 U/L) (19); otro autor para ratones reportó valores entre $30,85 \pm 7,50$ U/L (24).

En los conjuntos de test en prueba de 25 mg/kg los valores promedios estuvieron dentro o ligeramente por debajo de los valores normales dados para ratas y fuera de rango para los de ratones. A la dosis de 200 mg/kg para el grupo de corteza y hojas los valores promedios estuvieron alrededor del límite inferior. En el caso del grupo raíz a esta segunda dosis solo un ratón sobrevivió, pero estaba moribundo y no permitió medir los parámetros que ayudan a evaluar al hígado, porque el ratón murió al inicio de la extracción de la sangre.

Con respecto a la fosfatasa alcalina (FA) en todos los controles de acuerdo a la tabla 6, algunos valores estuvieron por encima de los valores normales para ratones ($190,18 \pm 37,19$ U /dL). En los conjuntos de test en prueba de 25 mg/kg los promedios estuvieron por debajo del límite inferior. Para los conjuntos de test en prueba de 200 mg/kg los valores estuvieron cercanos al límite superior (18,24).

En la microscopía de los órganos en los animales del grupo control solo se observó signos de congestión ligera en el 56% de los órganos, que bien puede

deberse al estrés creado por la manipulación de los animales y sobre todo a la extracción sanguínea por punción cardiaca, ya que fueron anestesiados con éter etílico.

En los conjuntos de test en prueba de 25 mg/kg tanto en el extendido del corazón como en los órganos parenquimales, se observaron cambios vasculares en el 25,3 % consistentes en extravasación de glóbulos rojos; pero lo que predominó fue el daño tisular en el 66,7% de los animales. Estos resultados ameritan realizar estudios a dosis repetida (TSA) a fin de verificar la afectación a los órganos.

A la dosis de 200 mg/kg se observó en mayor afectación de tipo vascular como presencia de micro coágulos, hemorragia; en el corazón isquemia. En los órganos parenquimales en general se observó isquemia periférica o multifocal; en los pulmones neumonía focal o general, isquemia y hepatización y en el cerebro isquemia. Estos resultados indican que la dosis ya es tóxica, sin llegar a producir en todos los animales la muerte dentro del período de prueba.

Los resultados permiten determinar que la toxicidad de *C. angustifolia* se presentó a 200 mg/kg; por lo que no se evaluó la toxicidad a la dosis de 2000 mg/kg; ya que a una dosis 10 veces menor se observó el efecto de muerte en casi la mitad de los individuos de los grupos experimentales.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

La especie *C. angustifolia* (huacapurana), mostró toxicidad aguda en ratones albinos *Mus musculus* cepa Balb C a la dosis de 200mg/kg de masa corporal.

La toxicidad de las soluciones experimentales se evidenció con el incremento de dosis y al parecer afectó la normal ganancia de masa corporal de los ratones; así mismo la conducta de los animales a la dosis de 25 mg/kg fue normal y en algunos casos se evidenció excitación del SNC y a la dosis de 200 mg/kg se evidenció manifestaciones de comportamiento de depresión del SNC y en menor medida signos de excitación.

Las características macroscópicas de los órganos parenquimales de los ratones albinos *M. musculus* Balb C expuestos a las soluciones experimentales de *C. angustifolia* (huacapurana), en ambas concentraciones, no mostraron gran diferencia en color, viscosidad y consistencia con respecto a los controles negativos, a pesar que el extracto de 200 mg/kg resultara toxico.

Los parámetros bioquímicos de hemoglobina, glucosa, creatinina, TGO, TGP y fosfatasa alcalina de los ratones expuestos a las soluciones experimentales de raíz, corteza y hojas de *C. angustifolia* no reportaron mayor variación por fuera del rango normal. En el caso del colesterol y triglicéridos no se pudo comparar porque no se encontraron valores referenciales para roedores.

Las características microscópicas de los órganos parenquimales expuestos a las soluciones experimentales de raíz, corteza y hojas de *C. angustifolia* (huacapurana) a la dosis de 25 mg/kg de m.c. mostraron alteraciones vasculares; más a la dosis de 200 mg/kg mostraron signos de afectación en los tejidos parenquimales, observados en los cortes histológicos.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

Los resultados permiten determinar que la dosis de consumo debe quedar por debajo de 200 mg/ kg de m.c.; por lo que es recomendable determinar la concentración de los marcadores químicos en las bebidas alcohólicas que se expenden para consumo humano y su cuantificación para tener más información sobre el riesgo que representa su consumo.

Es necesario continuar con otros estudios de toxicidad, para determinar efectos en otros órganos a dosis subaguda y en células germinales.

Se requiere trabajar la TA a otras dosis cercanas por debajo y por encima de 200 mg/kg para mejorar el rango de estimación de la dosis letal 50.

CAPÍTULO VIII: FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

1. Liu W, Le J, Dong J. Unprecedented reorganization of development history of traditional medicine: Part I. <https://doi.org/10.1142/S2575900020100035> [Internet]. el 8 de julio de 2021 [citado el 2 de noviembre de 2021];03(03):145–51. Disponible en: www.worldscientific.com
2. Hussein Musa H, Hussein Musa T, Oderinde O, Hussein Musa I, Olatokunbo Shonekan O, Yinka Akintunde T, et al. Traditional herbal medicine: overview of research indexed in the scopus database. *Adv Tradit Med* [Internet]. 2022;(0123456789). Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13596-022-00670-2>
3. Ayéna ACT, Dosseh K, Idoh K, Agbonon A, Gbeassor M. Comparative Physicochemical Screening and Toxicology of Hydroethanol Extracts of the Parts of *Pterocarpus santalinoides* l'Hér. ex DC. (Fabaceae) in Wistar Rats. *Sci World J.* 2022;2022.
4. Petrovska BB. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacogn Rev.* 2012;6(11):1–5.
5. Liu S, Zhang B, Zhou J, Lei Q, Fang Q, Kennelly EJ. Herbal plants traded at the Kaili medicinal. *J Ethnobiol Ethnomed* [Internet]. 2021;17(67):2–37. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13002-021-00495-4>
6. Chemicals OG for the T of. OECD 420. Acute Oral Toxicity, Acute Toxic Class Method. OECD Guideline for Testing of Chemicals. 2001.
7. World Health Organization. Traditional and Complementary. World Health Organization. 2018. p. 1–11.
8. Schmeda-Hirschmann G, Burgos-Edwards A, Theoduloz C, Jiménez-Aspee F, Vargas-Arana G. Male sexual enhancers from the Peruvian Amazon. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2019;229(October 2018):167–79. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.10.007>
9. Rengifo-Salgado E, Rios-Torres S, Malaverri L, Arana-Vargas G. Saberes ancestrales sobre el uso de flora y fauna en la comunidad indígena Tikuna de Cushillo Cocha , zona fronteriza Perú-Colombia-Brasil Ancestral

- knowledge about the use of flora and fauna in the indigenous community Tikuna. *Rev Peru Biol.* 2017;24(1):67–78.
10. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Inst Nac Salud [Internet]. 2018;1:13. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf
 11. Santos Cabral ME, De Queiroz Dias D, Lima Sales D, Paiva Oliveira O, Alves Teles D, De Araujo Filho JA, et al. Evaluations of the antimicrobial activities and chemical compositions of body fat from the amphibians *Leptodactylus macrosternum* Miranda-Ribeiro (1926) and *Leptodactylus vastus* Adolf Lutz (1930) in Northeastern Brazil. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2013;2013.
 12. Maroyi A. Medicinal Uses of the Fabaceae Family in Zimbabwe: A Review. *Plants.* 2023;12(6):1255.
 13. Benrahou K, Mrabti HN, Assaggaf HM, Mortada S, Salhi N, Rouas L, et al. Acute and Subacute Toxicity Studies of *Erodium guttatum* Extracts by Oral Administration in Rodents. *Toxins (Basel).* 2022;14(11):1–12.
 14. Ouattara MB, Bationo JH, Kiendrebeogo M, Nacoulma OG. Phytochemical Screening and Acute Toxicity Evaluation of Leaves Extract of Two Fabaceae's Species: <i>Sesbania pachycarpa&/i> DC. and <i>Indigofera berhautiana&/i> Gillett. *J Biosci Med.* 2020;08(07):28–34.
 15. Duke JA, Vasquez Martinez R. Amazonian Ethnobotanical Dictionary [Internet]. Washington, D.C.; 1994. 1–222 p. Disponible en: <http://www.crcpress.com/>
 16. Celis P, Huamán D. Características Farmacognósticas de *Campsiandra angustifolia* (huacapurana) de uso terapéutico tradicional en la ciudad de Iquitos- 2013 [Internet]. 2014. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNAP_c96492e76b5910703067c59055906211
 17. Kvist LP, Christensen SB, Rasmussen HB, Mejia K, Gonzalez A.

- Identification and evaluation of Peruvian plants used to treat malaria and leishmaniasis. 2006;106:390–402.
18. Castro-murillo M, González-Betancur J, Gonzáles-Camacho S. Ensayos biológicos regulados por nombras OECD: características, criterios de elección y aspectos relevantes. Rev Toxicol [Internet]. 2002;23(4):1–16. Disponible en: <https://rev.aetox.es/wp/wp-content/uploads/2018/02/Biological-assays-regulated-by-OECD-normative-REV-FIL.pdf>
 19. OECD Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method [Internet]. 2001. Disponible en: https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/iccvam/suppdocs/feddocus/oecd/oecd_gl423.pdf
 20. Paixao A, Mancebo B, Regalado AI, Chong D, María Sánchez L. Artículo Original Evaluación de la Toxicidad Aguda Oral del extracto etanólico de *Tephrosia vogelii* Hook (kalembe) Oral Acute Toxicity of a *Tephrosia vogelii* Hook (kalembe) ethanolic extract. Rev Salud Anim [Internet]. 2017;39(2):2224–4697. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ras/v39n2/ras02217.pdf>
 21. Organisation for Economic Cooperation and Development. Test guideline 425: acute oral toxicity - Up-and-Down Procedure. Guidel Test Chem. 2001;(December):26.
 22. Ávila Illanes JA, Mamani Choquehuanca B, Ruiz Pinell G. Determinación de valores de referencia hematológicos y bioquímicos en ratones albinos suizos criados y reproducidos en el bioterio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. La Paz-Bolivia. Rev CON-CIENCIA [Internet]. 2013;1:69–83. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2310-02652013000100009&script=sci_abstract
 23. Bello J, López de Cerain A. Fundamentos de ciencia toxicológica [Internet]. Díaz de Sa. 2001. 1–26 p. Disponible en: <https://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479784720.pdf>

24. Arrúa Báez W, Centurión Quintana JR, Montalbetti Moreno Y, Heinichen Almada OY. Determinación de parámetros bioquímicos de animales del Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Asunción. Rev la Soc Científica del Paraguay. 2023;28(1):126–40.
25. Bolani B, Calvo MA, Cejalvo D, Gimeno L, Gimeno O, Lloris JM. Hematología y Bioquímica Clínica de la Rata. Parte 1. Cent nvestigación, Hosp Gen Univ Val [Internet]. 1989; Disponible en: file:///C:/Users/frida/Downloads/kipdf.com_parte-1-centro-de-investigacion-hospital-general-u_5ac861871723ddd4d6d3089c.pdf
26. Chilón-Cornejo V, Arroyo-Acevedo J, Barrera R, Chamba D, Dietz R, Abal H. Toxicidad oral aguda de los extractos etanólicos de *Eucalyptus globulus* , *Morinda citrifolia* , *Peperomia glauca* , *Schinus molle* y *Zea mays* en ratones BALB / c 53 Acute oral toxicity of *Eucalyptus globulus* , *Morinda* Materiales y métodos. 2018;3(1):9–17.
27. Saxena R, Mishra A. Evaluation of Acute Toxicity of the Methanolic Extract of Dhatryadi ghrita in Wistar Rats. 2020;1–6.
28. Fuentes Yañez MM. Peso de los órganos en relación al peso corporal en ratones NMRI/UCLA. Influencia de las variables edad, sexo, y su combinación. 1997; Disponible en: [http://www.ucla.edu.ve/dveterin/departamentos/CienciasBasicas/gcv/contar.asp?varconta=3kubrugij#:~:text=Así%2C Fuentes y Ramírez \(1997,0.68\) y entre los órganos%2C](http://www.ucla.edu.ve/dveterin/departamentos/CienciasBasicas/gcv/contar.asp?varconta=3kubrugij#:~:text=Así%2C Fuentes y Ramírez (1997,0.68) y entre los órganos%2C)

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLE	INDICADORES	ÍNDICES
<p>Toxicidad aguda del extracto etanólico de <i>C. angustifolia</i> Spruce Ex Benth (huacapurana) en ratones albinos cepa Balb /C.</p>	<p>Problema general:</p> <p>¿Cuál es el potencial tóxico agudo del extracto etanólico de <i>C. angustifolia</i> Spruce Ex Benth (huacapurana) en ratones albinos cepa Balb /C?</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar el potencial tóxico agudo del extracto etanólico de <i>C. angustifolia</i> Spruce Ex Benth (huacapurana) en ratones albinos cepa Balb /C.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>a. Obtener el extracto etanólico de las hojas, raíz y corteza de la especie en estudio y las soluciones de prueba a inocular a los animales de experimentación.</p> <p>b. Identificar las características clínicas de los ratones albinos <i>Mus musculus</i> Balb /C, expuestos a diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>C. angustifolia</i> (huacapurana)</p> <p>c. Identificar las características anatomó-histológicas de los órganos de los ratones albinos <i>Mus musculus</i> Balb C/53, expuestos a diferentes concentraciones del extracto etanólico de <i>C. angustifolia</i> (huacapurana).</p>	<p>Hi: El extracto etanólico de los órganos de la especie en estudio. no producen toxicidad aguda en <i>Mus musculus</i> Balb/C.</p>	<p>V. independiente</p> <p>Extracto etanólico.</p> <p>V. dependiente</p> <p>Toxicidad aguda.</p>	<p>Dosis de: 25, 200 y 2000 mg/kg</p> <p>Signos clínicos de toxicidad</p> <p>-Valores de los parámetros bioquímicos.</p> <p>-Características macroscópicas</p> <p>-Características anatomo-histopatológicas</p>	<p>Inocuo, Tóxico: nivel bajo, medio o alto.</p> <p>Presencia /ausencia Normales / Alterados</p> <p>Normales / Alterados</p> <p>Normales /alteración vascular oalteración tisular</p>

Anexo 2. Instrumentos de recolección de datos

A. Tarjeta de información de signos clínicos

ENSAYO: TOXICIDAD AGUDA				TIEMPO: 14 días			
INVESTIGADORES:				FECHA DE INICIO:			
Bach.				FECHA DE TÉRMINO:			
Bach.							
Dra. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY							
MODELO BIOLÓGICO: <i>Mus musculus</i>				SEXO: Hembras			
DOSIS EXPERIMENTAL: XX mg/mL				CONCENTRACIÓN:			
DROGA O PLANTA: <i>Campsiandra angustifolia</i> (huacapurana)				ORGANO:			
EFECTO A EVALUAR: Muerte				FACTOR:			

Animal	Marca	W (g) día 1	W (g) día 7	W (g) día 14	V.I (mL)	Hra de Adm.	Observación del comportamiento
1	cabeza						
2	lomo						
3	cola						
4	Pata delantera						
5	Pata trasera						

B. Reporte analítico de los parámetros bioquímicos Grupo (xx mg/Kg m.c.)

Control de pruebas bioquímicas (mg/dl ó U/L)								
Ratón	Hemoglobina	Glucosa	Colesterol	Triglicérido	TGO	TGP	Fosfatasa alcalina	Urea
1								
2								
3								
4								
5								

C. Reporte del estudio macroscópico Grupo (xx mg/Kg m.c.)

Ratón		Observación macroscópica			
		Riñón	Hígado	Pulmón	Cerebro
1	Peso Aspecto Color Consistencia				
2	Peso Aspecto Color Consistencia				
3	Peso Aspecto Color Consistencia				
4	Peso Aspecto Color Consistencia				
5	Peso Aspecto Color Consistencia				

D. Reporte del estudio histo-anatómico Grupo (xx mg/Kg m.c.)

Ratón	Observaciones microscópicas			
	Riñón	Hígado	Pulmón	Cerebro
1				
2				
3				
4				
5				

Anexo 3. Observaciones de toxicidad aguda en los órganos blancos asociados a la acción de la droga en experimentación de signos tóxicos en Órgano- Sistema.

Sistema	Observación	Signos Tóxicos
SN y motor	Comportamiento	Actitud, vocalización, sedación, cabeza caída, posición sentada con cabeza erguida, depresión severa, inquietud, acicalamiento excesivo, irritabilidad, comportamiento agresivo, hostilidad defensiva, fiereza, actividad bizarra, confusión
	Movimiento	Crispadura, temblor, ataxia, catatonía, parálisis, movimientos forzados, convulsiones.
	Reactividad a estímulo	Anestesia, pasividad, hiperestesia, irritabilidad.
	Reflejo cerebral y espinal	Pereza, ausencia.
	Tono muscular	Rigidez y flacidez.
Sistema nervioso autónomo	Tamaño de pupila	Miosis, midriasis, reflejo pupilar luminoso
	Secreciones	Salivación, lacrimación, descarga nasal, micción, sudoración.
Cardiovascular	Palpación región cardíaca	Alteración de la frecuencia cardíaca (bradicardia, arritmia, estremecimiento) vasoconstricción, vasodilatación, hemorragia.
Respiratorio	Carácter y respiración	Jadeo, disnea, bradipnea, Cheyne y Stokes, hipopnea.
Ocular	Parpado	Ptoxis.
	Globo	Exoftalmos, nistagmo.
	Transparencia	Opacidades.
Gastrointestinal	Función	Diarrea, constipación.
	Aspecto abdominal	Flatulencia, contracción.
	Heces	No formadas, coloración, evacuaciones sanguinolentas,
Cutáneas	Color, turgor, integridad	Piloerección, alopecia, eritema, edema, hinchazón, necrosis.
Mucosas	Conjuntiva, boca	Congestión, hemorragia, cianosis,
Otros	T° de la piel y rectal	Alta, baja
	Lugar de inyección	Hinchazón
	Estado general	Postura anormal, adelgazamiento

Anexo 4. Fases de estudio de las drogas: test de Irwing

Antes de ensayar cualquier sustancia en el hombre debe existir un adecuado y amplio estudio farmacológico y toxicológico en animales de experimentación.

El test de Irwing o screening farmacológico consiste en la realización de un conjunto de pruebas con la finalidad de observar la respuesta en el modelo animal y tener una aproximación del tipo de actividad biológica que puede producir la droga a ensayar. Se fundamenta en la observación de los efectos sobre el SN generalmente en ratones. Los registros se hacen después de 15 minutos después de la administración de la droga. Se dispone de una tabla para calificar del 0 a 4 las manifestaciones normales; si el valor normal es cero se calificará según la intensidad hasta 4, y si el valor es 4 este aumentará hasta 8 ó disminuirá hasta cero, considerándose supernormales más de 4 y subnormales menos de 4.

I. Estado de Vigilia

1. Actividad espontánea	4
2. Foco visual	4
3. Estereotipia	0
4. Pasividad	0

II. Conducta

1. Grooming	4
2. Vocalización	0
3. Inquietud	0
4. Irritabilidad	0
5. Temor	0

III. Excitación del S.N.C.

1. Actividad motora	4
2. Reacción de alarma	0
3. Cola de Straub	0
4. Temblores	0
5. Espasmos	0
6. Convulsiones clónicas	0
7. Convulsiones tónicas	0
8. Fasciculaciones	0
9. Frecuencia respiratoria	4
10. Amplitud respiratoria	4

IV. Depresión del S.N.C.

1. Actividad motora	4
2. Ataxia	0
3. Analgesia	0
4. Catatonía	0
5. Frecuencia respiratoria	4
6. Amplitud respiratoria	4

V. Signos autonómicos

1. Ansiedad	0
2. Micción	0
3. Salivación	0
4. Piloerección	0
5. Frecuencia cardíaca	4
6. Frecuencia respiratoria	4

VI. Efectos oculares

1. Enoftalmos	0
2. Exoftalmos	0
3. Diámetro pupilar	4
4. Reflejo pupilar	4
5. Reflejo oculopalpebral	4
6. Apertura palpebral	4
7. Lacrimación	0
8. Ptosis palpebral	0
9. Cromodiacriorrea	0

VII. Tono muscular

1. Tono de los miembros	4
2. Fuerza de aprehensión	4
3. Distensión corporal	0
4. Tono corporal	4
5. Tono abdominal	4

VIII. Reflejos

1. Reflejo de flexión	4
2. Reflejo de enderezamiento	4
3. Respuesta al tacto	4
4. Respuesta al dolor	4

IX. Observaciones dérmicas

1. Palidez	0
2. Hipertermia	0
3. Cianosis	0

X. Muerte

1. Súbita	0
2. Lenta	0

Anexo 5. Constancia de la especie muestreada.



Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense - AMAZ

INSTITUCION CIENTIFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CODIGO DE AUTORTIZACION AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica, presentado por FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, pertenecen al proyecto de investigación titulado: TOXICIDAD AGUDA EN RATONES ALVINAS CEP BALB/C, DE DOS ESPECIES VEGETALES AMAZONICAS DE USO MEDICINAL EN LAS COMUNIDADES NINA RUMI-ZUNGARO COCHA; han sido DETERMINADAS en este Centro de Investigación y Enseñanza, Herbarium Amazonense-AMAZ, del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la UNAP-CIRNA-UNAP, como se indica a continuación:

N°	Nombre Vulgar	Nombre Científico	Familia
1	huacapurana	<i>Campsiandra angustifolia</i> Spruce ex Benth.	Fabaceae

Se expide la presente constancia a la interesada, para los fines que estime conveniente.

Atentamente,

Iquitos, 17 de diciembre del 2021


Richard J. Huancanca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



Anexo 6. Constancia del Comité de Ética del Hospital Regional de Loreto.



"HOSPITAL REGIONAL DE LORETO "FELIPE ARRIOLA IGLESIAS"

CONSTANCIA No 050- CIEI – HRL – 2022

El director del Hospital Regional de Loreto; a través de la Oficina de Apoyo a la Docencia e Investigación, y el Comité Institucional de Ética e Investigación (CIEI), **HACE CONSTAR** que el presente proyecto de Investigación, consignado líneas abajo, fue **APROBADO**, en cumplimiento de los estándares del Instituto Nacional de Salud (INS), acorde con las prioridades Regionales de Investigación, Balance Riesgo/beneficio y confiabilidad de los datos, entre otras. Siendo catalogado como: **ESTUDIO CLÍNICO CON RIESGO MEDIO** según detalle:

Título del Proyecto: **TOXICIDAD AGUDA EN RATONES ALBINOS CEPA BALB C/53 DE DOS ESPECIES VEGETALES AMAZÓNICAS DE USO MEDICINAL EN LAS COMUNIDADES DE NINA RUMI A ZUNGAROCOCHA.**

Código de Inscripción: **ID-050 CIEI-2022.**

Modalidad de investigación : **EXTRA – INSTITUCIONAL.**

Investigador (es): **Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY. Dra.
Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNAP.**

Cualquier eventualidad durante su ejecución, los investigadores reportarán de acuerdo con las Normas y plazos establecidos, así mismo emitirán el informe final socializando los RESULTADOS obtenidos. El presente documento tiene vigencia hasta el 13 de setiembre del 2023. **El trámite para su renovación será un mínimo de 30 días antes de su vencimiento.**

Punchana, 13 de setiembre del 2022.



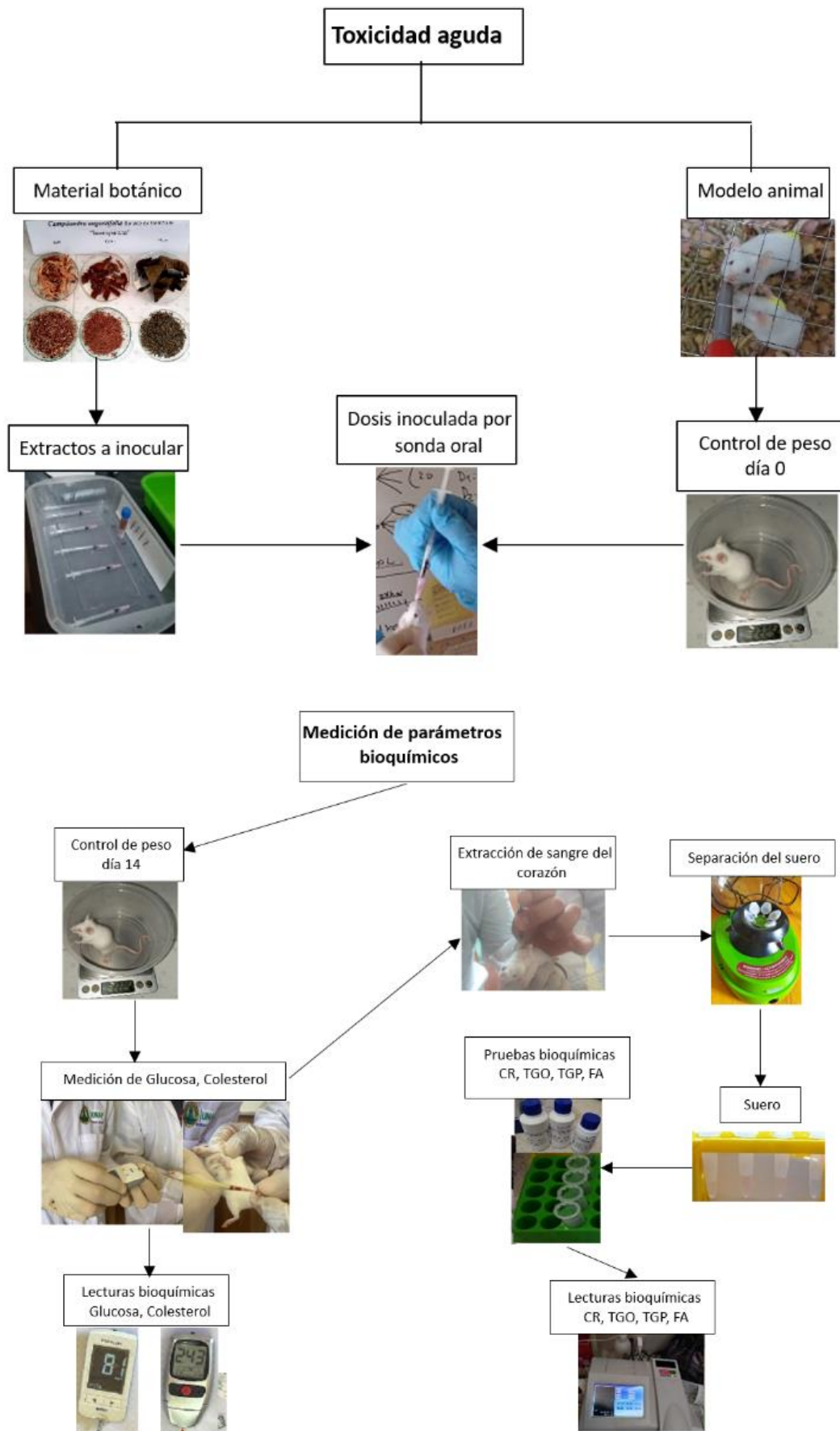
MMBP/JGGA/MSEV/JLGP.

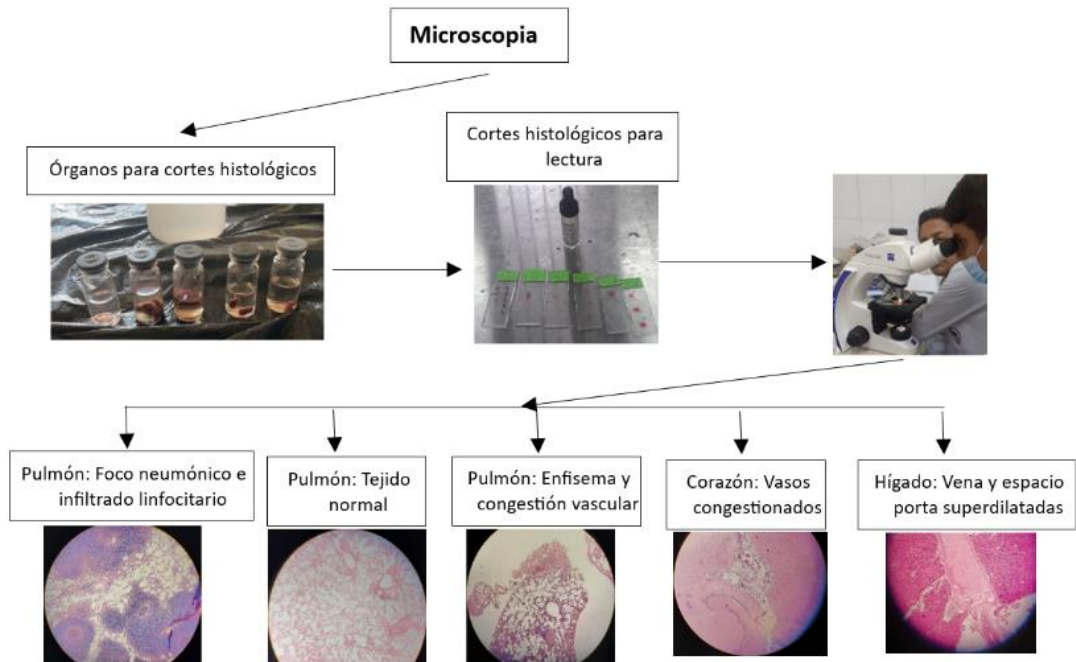
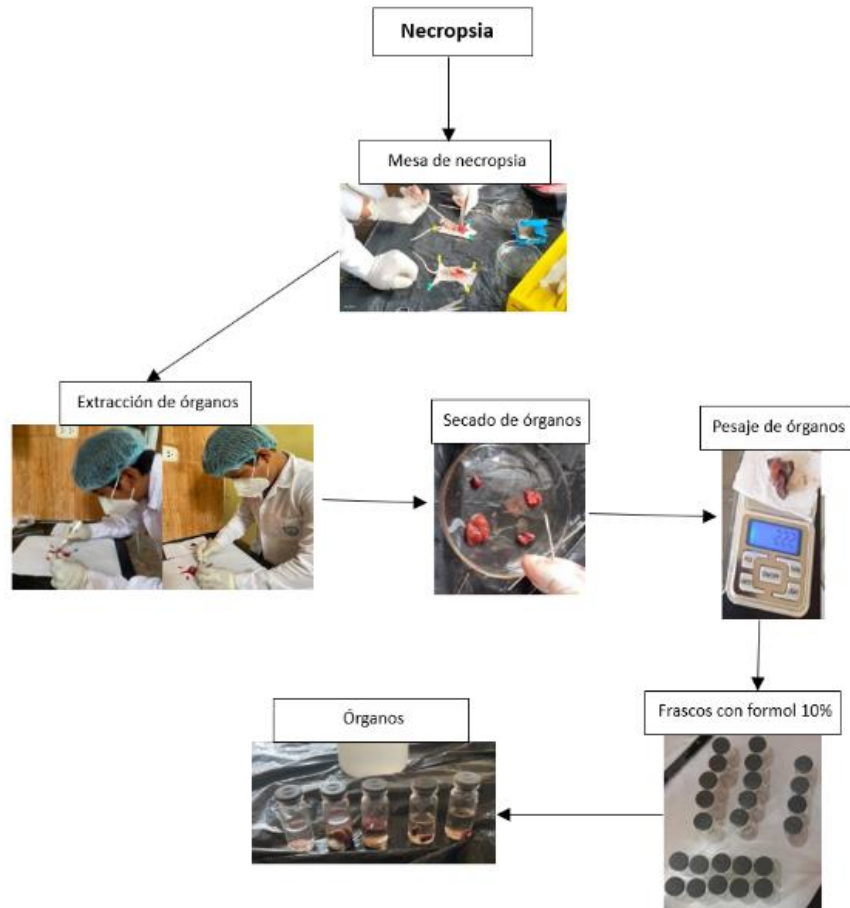
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD - LORETO
HOSPITAL REGIONAL DE LORETO
"FELIPE ARRIOLA IGLESIAS"
Miguel Martín Bacca Pinto
Dr. MIGUEL MARTÍN BACCA PINTO
CMP N° 38690 - RNE 27553
Director General

Anexo 7. Certificado de los modelos biológicos.

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO
CERTIFICADO SANITARIO N° 058-2023	
Producto : Ratón albino	Lote N° : R - 18 - 2023
Especie : <u>Mus musculus</u>	Cantidad : 50
Cepa : Balb/C	Edad : 2 meses
Peso : 21 - 36 gr.	Sexo : hembra
Guía de remisión : EG003-000000158	Destino : UNAP Iquitos Registro único de contribuyentes N°20180260316
Fecha : 15 - 07 - 2023	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Jorge Ruiz Alarcón Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <ul style="list-style-type: none">• Referencia: PRT-CNPB-002-BIO, Procedimiento: "Control Sanitario de Animales del Bioterio"	
Chorrillos, 12 de julio del 2023 (Fecha de emisión del certificado)	 M.V. Jorge Ruiz Alarcón. C.M.V.P. 5052
<p>NOTA: El Bioterio no se hace Responsable por el estado de Los animales, una vez que Éstos egresen del mismo.</p>	

Anexo 8. Flujograma del proyecto de investigación.





Anexo 9. Flujograma de los cortes histológicos.

