

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**EVALUACION PRELIMINAR DE TOXICIDAD DE VEINTE PLANTAS
UTILIZADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL EN EL SALVADOR
POR MEDIO DEL BIOENSAYO *Artemia salina***

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

KELLY MARIANA BAUTISTA HERNANDEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

SEPTIEMBRE 2020

SAN SALVADOR EL SALVADOR CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. REINA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIA

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL CALIFICADOR

ASESORAS DE AREA EN APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES

Licda. Rina Antonieta Toledo Mendoza

MAE. Nancy Zuleyma Gonzales Sosa

DOCENTES ASESORAS

MScQ. Sonia Maricela Lemus Martínez

Licda. Thania Gisella Benítez López

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al personal del Centro del Centro de Investigaciones para La Salud CENSALUD de la Universidad de El Salvador al Dr. Saúl Rodríguez Peña, Stanley Rodríguez, quien me apoyo en la realización de la parte experimental.

Dra. Sonia Merino investigadora quién me brindo su ayuda en la búsqueda del crustáceo

Ing. Mario Delgado e Ing. Miguel Delgado por permitirme la realización de la parte experimental en las instalaciones del Laboratorio “Las animas” departamento de La Paz.

Lic. Eduardo Leiva por brindarme su ayuda y su conocimiento en el área botánica, además, por ser un buen compañero de trabajo.

Lic. Dagoberto Rodríguez curador de Herbario “La Laguna” por colaborarme en la identificación botánica de las muestras.

Quiero agradecer muy especialmente a los docentes asesores y jurado calificador, Maestra Cecilia Gallardo y Maestra Nancy Zuleyma, Licenciada Rina Toledo Mendoza, Maestra Maricela Lemus y Thania Benítez. Quienes han dirigido el presente trabajo y me han facilitado los medios necesarios para cumplir los objetivos propuestos me han orientado y apoyado en el proyecto.

DEDICATORIA

A mi madre gracias por la paciencia, por haberme apoyado en todo el camino haberme guiado, educarme, brindándome siempre confianza en mí misma y haber sido valiente en todos los desafíos. En este camino, he aprendido a no rendirme y a esforzarme por cumplir las metas, aun sabiendo que tengo mucho por mejorar te doy gracias a dios por enseñarme a ser perseverante.

Familia Romero por brindarme una amistad sincera y ayudarme brindándome ánimos en el cumplimiento de esta meta.

Leonardo Romero, compañero de aventuras y locuras siempre tu optimismo y paciencia me ha llevado a asumir nuevos retos. Me has acompañado en un largo camino apoyarme en cada momento de este trabajo

INDICE

	Pág. N°
RESUMEN	
CAPITULO I	
1.0 INTRODUCCION	xvii
CAPITULO II	
2.0 OBJETIVOS	
CAPITULO III	
3.0 MARCO TEORICO	23
3.1 Generalidades de la medicina tradicional	23
3.2 Toxicidad de las plantas medicinales	23
3.2.1 Ensayos de toxicidad	23
3.2.2 Ensayos de toxicidad crónica	24
3.3 Métodos alternativos de toxicidad	25
3.3.1 Ensayo de toxicidad por dosis fijas (FDP)	26
3.3.2 Método de clases de toxicidad (TCM)	26
3.3.3 Procedimiento sube y baja (Up and Down OECD 425)	26
3.4 Generalidades de los bioensayos	27
3.4.1 Bioensayo <i>Artemia salina</i>	28
3.5 Generalidades de <i>Artemia salina</i>	30

3.6 Ciclo de vida de <i>Artemia salina</i>	35
3.6.1 Metabolismo de quistes	35
3.6.2 Desarrollo de estadíos larvales	37
3.6.3 Reproducción	39
3.7 Monografías de plantas medicinales	41
CAPITULO IV	
4.0 Diseño metodológico	91
4.1 Tipo de estudio	91
4.2 Investigación de bibliográfico	91
4.3 Investigación de campo	92
4.3.1 Universo y muestra	92
4.4 Selección de las plantas medicinales	92
4.5 Recolección de especies vegetales	93
4.6 Identificación botánica	94
4.7 Parte experimental	95
4.8 Desarrollo del bioensayo <i>Artemia salina</i>	97
4.8.1 Procedencia de los quistes de <i>Artemia salina</i>	97
4.8.2 Procedimiento de desinfección del agua marina	98
4.8.3 Procedimiento de eclosión de los quistes	99
4.8.4 Procedimiento del bioensayo <i>Artemia salina</i>	99
4.9 Método estadístico Probit	104

4.9.1 Cálculo de LC ₅₀ mediante el método estadístico de Probit	104
4.9.2 Verificación estadística de los resultados de LC ₅₀	105
4.9.3 Procedimiento para determinación del Chi-cuadrado χ^2	105
4.9.4 Error estándar e intervalo de confianza	106
CAPITULO V	
5.0 Discusión e interpretación de resultados	109
5.1 Recolección e identificación de especies	109
5.2 Elaboración de las diferentes concentraciones a partir de los extractos seco de cada especie vegetal	112
5.2.1 Obtención y rendimientos de extractos	112
5.3 Determinación de la concentración letal media por medio del bioensayo preliminar de <i>Artemia salina</i>	115
5.3.1 Resultados de proceso de eclosión	115
5.3.2 Resultados del bioensayo	116
5.4 Análisis de la LC ₅₀ mediante el método estadístico Probit o prueba de Finney	118
5.4.1 Resultados de mortalidad según el método Probit	119
5.5 Verificación estadística de los resultados de LC ₅₀	121
5.5.1 Resultados de distribución de Chi-cuadrado χ^2	121
5.5.2 Resultados de error estándar	123
5.5.3 Resultados del intervalo de confianza al 95%	124
5.6 Clasificación de la toxicidad según los lineamientos de CYTED	125

5.7 Investigación bibliográfica sobre especies vegetales cuyos extractos resultaren tóxicos en el bioensayo de <i>Artemia salina</i>	128
5.7.1 Relación de la composición química con la toxicidad	128
CAPITULO VI	
6.0 CONCLUSIONES	131
CAPITULO VII	
7.0 RECOMENDACIONES	134
BIBLIOGRAFIA	
GLOSARIO	
ANEXOS	

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. Recolección de muestras vegetales
2. Ficha de recolección
3. Muestra de plantas recolectadas
4. Procedimiento de identificación y ficha de identificación botánica
5. Material y equipo de laboratorio
6. Preparación de soluciones
7. Preparación del material vegetal
8. Esquema de preparación de extractos secos y esquema de preparación de las concentraciones de 2000, 200 y 20 $\mu\text{g/mL}$
9. Procedimiento de eclosión de los quistes de *Artemia salina*
10. Procedimiento del bioensayo *Artemia salina*
11. Esquema del método Probit y resultados de mortalidad para cada muestra.
12. Análisis Probit de las muestras estudiadas

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		Pág. N°
1.	Distribución geográfica mundial de la Familia <i>Artemia</i>	31
2.	Morfología y proceso de eclosión de quistes	36
3.	Ciclo de vida de <i>Artemia salina</i>	36
4.	Nauplio	37
5.	Metanauplio	38
6.	Juveniles	38
7.	Estado adulto macho	39
8.	Estado adulto hembra	39
9.	Etapas de reproducción fertilización	40
10.	Hembra adulta antes de puesta de quistes	40
11.	Ciclo reproductivo de <i>Artemia</i>	41
12.	Baja leche	42
13.	Caña de cristo	43
14.	Campanita	46
15.	Flor barbona	47
16.	Flor de muerto	50
17.	Flor manita	52
18.	Falso ruibarbo	54
19.	Flor de china	56

20.	Flor azul	58
21.	Guayaba	61
22.	Golondrina	63
23.	Hoja de aire	65
24.	Hierba de cáncer	68
25.	Hierba de víbora	70
26.	Maracuyá	72
27.	Melón amargo	75
28.	Pie de venado	78
29.	Quiebra piedra	81
30.	Nim	84
31.	Nopal	87
32.	Diagrama general del llenado de los viales	100
33.	Esquema general de las diluciones	103
34.	Resultados para <i>Euphorbia lancifolia</i>	117
35.	Análisis Probit de <i>Euphorbia lancifolia</i>	120

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°	Pág. N°
1. Condiciones ambientales para obtener un alto grado de eclosión	29
2. Ventajas del Bioensayo <i>Artemia salina</i>	30
3. Análisis proximal de la composición química de <i>Artemia salina</i>	34
4. Selección de plantas medicinales	93
5. Especificaciones del control de calidad de los quistes	97
6. Composición química de los quistes de <i>Artemia salina</i>	98
7. Definición de los parámetros estadísticos para desarrollar el cálculo del Probit esperado.	105
8. Definición de parámetros para la distribución de Chi-cuadrado X^2	106
9. Definición de parámetros para calcular el intervalo de confianza y el error estándar	107
10. Muestras vegetales codificadas	111
11. Recopilación bibliográfica de las muestras clasificadas como altamente tóxicas	128

INDICE DE TABLAS

TABLA N°	Pág. N°
1. Rendimiento del proceso de extracción	113
2. Resultados de mortalidad para <i>Euphorbia lancifolia</i>	119
3. Cálculo de LC ₅₀ mediante cada regresión lineal	121
4. Resultados de Chi-cuadrado para <i>Euphorbia lancifolia</i>	122
5. Resultados del error estándar para <i>Euphorbia lancifolia</i>	123
6. Resultados del intervalo de confianza para <i>Euphorbia lancifolia</i>	124
7. Clasificación de toxicidad según CYTED	125
8. Resultados de dosis letal media LC ₅₀ de las veinte muestras	126

RESUMEN

Los bioensayos son pruebas alternativas que involucran organismos vivos, unidades celulares o moleculares estas pruebas permiten conocer el efecto citotóxico de extractos naturales a diferentes concentraciones, generalmente los bioensayos son pruebas preliminares y ofrecen resultados cuantificables en 24 horas.

Esta investigación se centra en la evaluación y verificación de la concentración letal media (LC_{50}) en veinte extractos etanólicos de plantas medicinales mediante el bioensayo *Artemia salina*, a través del cual se evidencia la mortalidad de los nauplios en diferentes concentraciones demostrando así la toxicidad. El análisis de los resultados se basó en la cuantificación de la LC_{50} por el método estadístico Probit versión 2.5. Todos los resultados de LC_{50} fueron verificados mediante la distribución Chi- X^2 , error estándar e intervalo de confianza al 95%.

Los resultados fueron comparados con los criterios del programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el desarrollo CYTED y luego fueron clasificados según el nivel de toxicidad.

A partir de los resultados se concluye que once plantas fueron clasificadas como moderadamente tóxicas y nueve fueron como altamente tóxicas, siendo la composición química de cada una de las especies la responsable de estos resultados. Según la revisión bibliográfica algunas plantas contienen alcaloides, compuestos cianogénicos, antraquinonas entre otros, por tanto, se recomienda que estas plantas no deben utilizarse en periodos prolongados ni altas concentraciones debido a que ponen en riesgo la salud del consumidor.

La obtención de los extractos se realizó en el Centro de Investigaciones en Salud CENSALUD dentro de la Universidad de El Salvador. El bioensayo *Artemia salina* se culminó en las instalaciones del Laboratorio “Las Animas” ubicado en playa Zunganera departamento de La Paz.

CAPITULO I
INTRODUCCION

I. INTRODUCCION

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que en la región centroamericana existe un incremento en la utilización de plantas medicinales o preparados naturales para combatir enfermedades como la diabetes, hipertensión, problemas gastrointestinales entre otros. Las plantas o preparados naturales se pueden encontrar generalmente en los mercados y son prescritas por curanderos o comerciantes llamados “especieros o suchileros” que prometen aliviar las enfermedades mediante el consumo empírico de las especies

Culturalmente se tiene la creencia errónea que “Las plantas medicinales no generan efectos adversos, mucho menos peligro por lo que son adecuadas para cualquier tipo de paciente y que no requieren de una cuidadosa dosificación y seguimiento durante su utilización” este fenómeno cultural pone en riesgo la salud de la población salvadoreña que desconoce los efectos tóxicos de las especies.

Según la Organización de la Salud (OMS), advierte que el consumo desmesurado de plantas o hierbas medicinales puede generar efectos tóxicos en las células del organismo y recomienda evaluar la toxicidad de plantas para establecer las concentraciones en las cuales se produce un efecto nocivo, además, recomienda alertar a la población no utilizar empíricamente las plantas y desarrollar estudios de toxicidad en productos elaborados.

Los estudios de toxicidad permiten analizar el perfil de seguridad de un compuesto natural, estos proporcionan información importante sobre la concentración capaz causar un efecto nocivo en el organismo. Los extractos naturales con interés terapéutico deben ser evaluados preliminarmente por medio

de diferentes bioensayos. Uno de los métodos empleados es el bioensayo de *Artemia salina*, este consiste en utilizar los nauplios (el primer estadio larvario del crustáceo), y exponerlo a diferentes concentraciones de un extracto vegetal y luego cuantificar el número de nauplios muertos en cada dilución. A partir de este método se obtiene resultados cuantificables y precisos como la concentración letal media LC₅₀. Debido a la diversidad de plantas que son utilizadas con fines terapéuticos es importante evaluar preliminarmente la toxicidad de plantas utilizadas por la población salvadoreña por medio del Bioensayo *Artemia salina*.

El trabajo de campo estuvo conformado por la recolección de 20 muestras en la Estación experimental de la Facultad de Ciencias Agronómicas departamento de La Paz y Cerro Guazapa departamento de Cuscatlán.

La parte experimental consistió en la preparación de los 20 extractos utilizando la técnica de maceración y llevando los extractos a sequedad, además, se realizó la preparación de las concentraciones (2000, 200 y 20 µg/mL), el procedimiento de eclosión de los quistes y el desarrollo del bioensayo *Artemia salina* utilizando la metodología propuesta por CYTED.

A partir de los resultados obtenidos en el bioensayo *Artemia salina* se tabularon todos los promedios de mortalidad en cada concentración y fueron ingresados en el programa Probit versión 2.5 y convertidos a unidades de probabilidad (Datos Probit) para comparar la desviación de los resultados experimentales, después el programa brinda una regresión lineal en donde se calcula la LC₅₀. Todos los resultados de LC₅₀ fueron verificados por medio de la distribución de Chi X², error estándar e intervalo de confianza al 95% y luego se clasificó el nivel de toxicidad

por medio de las especificaciones del Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología (CYTED)

Según los resultados de LC_{50} once muestras presentaron una toxicidad moderada entre las concentraciones de (100-500 $\mu\text{g/mL}$), y nueve muestras presentaron una toxicidad alta entre las concentraciones de (10-100 $\mu\text{g/mL}$) por lo cual no se recomienda en la medida de lo posible no emplear ni consumir las plantas analizadas.

La investigación fue realizada en el periodo de mayo a julio del 2019 en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud CENSALUD Universidad de El Salvador y en el Laboratorio “Las animas” Playa la zunganera departamento de La Paz.

CAPITULO II
OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar preliminarmente la toxicidad de veinte plantas utilizadas en la medicina tradicional en El Salvador por medio del bioensayo *Artemia salina*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1 Identificar cada una de las plantas utilizadas en medicina tradicional por taxónomo del jardín botánico “La laguna”
- 2.2.2 Elaborar las diferentes concentraciones a partir de los extractos secos de especies vegetales
- 2.2.3 Determinar la concentración letal media por medio del bioensayo preliminar de *Artemia salina*
- 2.2.4 Analizar la LC_{50} mediante el método estadístico Probit o prueba de Finney
- 2.2.5 Realizar investigación bibliográfica sobre especies vegetales cuyos extractos resultaren tóxicos en el bioensayo de *Artemia salina*.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

III. MARCO TEORICO

3.1 GENERALIDADES DE LA MEDICINA TRADICIONAL

La medicina tradicional (MTC) conlleva un conjunto de conocimientos relacionados a factores culturales y sociales propios de cada región, estas prácticas son implementadas a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud en su resolución 2014-2023 establece estrategias enfocadas en la integración de la MTC en sistemas de salud, expone el papel fundamental de los gobierno de cada país en establecer políticas y reglamentos concernientes basados en estudios etnomédicos de cada país, apreciando y fortaleciendo los conocimientos autóctonos por medio de investigaciones científicas, a su vez enfatiza la necesidad de capacitar al profesional de la salud sobre el uso racional, eficaz y seguro de las plantas medicinales para garantizar a los pacientes una atención en salud de calidad, asequible, y de acceso. ⁽⁶⁹⁾

3.2 Toxicidad de las plantas medicinales

El estudio del nivel de toxicidad procedente de las plantas constituye la base para la integración de la medicina tradicional (MTC) en los sistemas de salud, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada país debe garantizar que los tratamientos con plantas medicinales sean seguros, efectivos y confiables. Entre los ensayos destinados a evaluar la toxicidad de extractos se encuentran ensayo de toxicidad aguda, subaguda, crónica, subcrónica. ^(60,69)

3.2.1 ENSAYOS DE TOXICIDAD

Toxicidad aguda

Este ensayo tiene como finalidad determinar la dosis mortal mínima, que es la cantidad de droga necesaria para matar 1.0 kg de un animal siendo esta, la dosis más baja administrada que produce la muerte de un individuo. El ensayo consiste en administrar a roedores una droga durante 15 días, las vías de administración

son intramuscular, subcutánea, e intravenosa. Transcurrido los 15 días es necesario realizar autopsias para evaluar efectos nocivos en el organismo del roedor. (60,67)

Toxicidad sub aguda

Los estudios subagudos se definen como los efectos tóxicos que se manifiestan tras la administración repetida de una sustancia durante un corto periodo de tiempo 15-30 días. (60, 67)

Subcrónica de dosis repetidas

El objetivo de este ensayo es conocer los efectos tóxicos en un periodo de 90 días, este ensayo se realiza en roedores de ambos sexos, se establecen grupos de control, sin tratamiento, y con tratamiento con dosis diferentes, la administración es diaria y a su vez se realizan controles en los roedores sobre piloerección, posición de la cola, apariencia de la piel, parálisis, ataxia entre otros.

(60, 67)

3.2.2 ENSAYOS DE TOXICIDAD CRONICA

Este tipo de ensayos se desarrolla mediante las guías de la OECD, aportan una información muy valiosa para la evaluación de riesgos asociados a productos químicos y naturales. Este tipo de ensayos determina daños teratógenos y anatómofológicos durante 1-2 años, se realizan observaciones macroscópicas de los órganos internos de animales de experimentación. (60, 67)

- La teratogénesis: evalúa la toxicidad del desarrollo embrionofetal y se realiza generalmente en ratas y conejos; la sustancia de prueba es administrada a los roedores preñados durante el período de organogénesis. El periodo embrionario, durante el cual ocurre la organogénesis tiene lugar desde la tercera a la octava semanas en humanos y desde el sexto al decimoquinto día de gestación en

roedores. Durante este período de tiempo las transformaciones que ocurren en el embrión son muy rápidas, siendo de gran importancia la diferenciación de órganos. ^(60, 67)

- Carcinogénesis: los estudios de carcinogénesis tienen por objetivo determinar si la droga vegetal incrementa la frecuencia de lesiones tumorales o induce a la aparición de lesiones en los órganos y lesiones neoplásicas, es fundamental que los fármacos destinados a tratamientos crónicos en humanos cuenten con ensayo de carcinogénesis. El ensayo es ampliamente utilizado en roedores por 24 meses, las ratas y roedores son los organismos de elección ya que brindan valiosa información sobre la susceptibilidad a la inducción de tumores y a la vez, por contar con base de datos que respaldan la información sobre la aparición de tumores. La línea de ratas más empleadas para estudios carcinogénicos es: Fischer y la Sprague Dawley y los ratones son B6C3F1 y OF-1. ^(60,61)

3.3 METODOS ALTERNATIVOS DE TOXICIDAD

Como resultado de los avances científicos y éticos se han introducido los denominados métodos alternativos para la evaluación toxicológica, con el objetivo de reducir el número de animales empleados en ensayos y para disminuir el estrés y el sufrimiento de los mismos, dichos métodos alternativos son: método de dosis fija, método de las clases de toxicidad y método arriba y abajo.

Los protocolos de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE), se encargan de desarrollar directrices de ensayos de toxicidad, enfocadas a la reducción de animales y el refinamiento de las técnicas experimentales, dicha directrices están reconocidas en todo el mundo como unas herramientas de referencia en la evaluación de sustancias químicas y asegurar la aceptación de los resultados de las investigaciones. ^(60,61)

3.3.1 Ensayo de toxicidad por dosis fijas (FDP)

Según la Unión Europea UE y la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OCDE), los estudios de toxicidad de dosis repetidas tienen como finalidad caracterizar el perfil toxicológico de una sustancia tras una administración repetida.

El estudio consiste en administrar la droga por vía oral a grupos de 5 machos y 5 hembras a dosis preestablecidas de (5, 50, 500, 200mg/kg). En caso no se presente toxicidad, se aplica una dosis superior a otro grupo de roedores, si estos mueren o muestran una fuerte reacción toxica se aplica inmediatamente la dosis inferior, de esta manera se identifica la dosis establecida que no provoca toxicidad. ^(60,61)

3.3.2 Método de clases de toxicidad (TCM)

En este método consiste en utilizar tres roedores del mismo sexo por etapas, se administran dosis superiores o inferiores según, los resultados obtenidos en etapas previas frecuentemente se trabajan con dos o cuatro etapas con dosis de 25, 200 y 2000 mg/kg, si se observan que mueren dos o tres se introduce en la clase 1, si muere uno o ninguno se repite el experimento con otros roedores del mismo sexo en la siguiente dosis ^(60,67)

3.3.3 Procedimiento sube y baja (Up- and-Down UDP OECD 425)

En el desarrollo de este ensayo se emplea un solo animal en cada etapa, generalmente una rata hembra, y se aplica un factor de 3.2 arriba o abajo a la dosis previa, según se produzca o no la muerte de animal. ^(60,67).

El procedimiento empieza con una dosis inferior a la DL₅₀ prevista o con 175 mg/kg si no hay información disponible sobre la toxicidad del compuesto.

Trascurrido 48 horas se administra al segundo roedor una dosis calculada según, se produjera la muerte o no del primero. ^(60,67).

3.4 GENERALIDADES DE LOS BIOENSAYOS

Los bioensayos están definidos como pruebas vinculadas con organismos vivos y unidades celulares o moleculares que permiten investigar sobre sustancias químicas de origen natural capaces de ejercer actividades biológicas principalmente como citotoxicidad y efecto antitumoral. El principal objetivo de estos estudios es evaluar el nivel de estímulo necesario para obtener una respuesta en un grupo de individuos. ^(16, 17)

Ensayos in vivo: son aquellas pruebas que utilizan animales para verificar efectos terapéuticos, estos estudios son llamados preclínicos y son indispensables antes de realizar pruebas clínicas que involucren pacientes. Los estudios in vivo de genotoxicidad en los cuales se estudia el daño citogenético en la medula ósea mediante el método de detección de alteraciones cromosómicas. ^(16,17)

Ensayos in vitro: permiten detectar alteraciones de las funciones celulares básicas debido a la exposición a un compuesto prueba que conlleve daño celular estos ensayos conllevan modelos experimentales de microorganismos como: células, órganos aislados, cultivos celulares y líneas celulares. ⁽⁶⁰⁾.

Ensayos in vitro moleculares: tiene como objetivo actuar directamente a nivel sub-celular, ARN y ADN. Entre se encuentran: ensayo de captación de rojo neutro, ensayo de enlazamiento al azul kenacid y el ensayo dimetil-difenil-tetrazólico (MTT), la toxicidad celular se determina mediante la viabilidad celular es por ello, que se investiga las alteraciones en: el funcionamiento del ADN, síntesis de proteínas, daños en la membrana celular y en los organelos. ⁽⁶⁰⁾

En ensayos in vitro de líneas celulares: son la principal herramienta de apoyo para realizar evaluación citotóxica de drogas, estos estudios han permitido el descubrimiento de nuevos principios activos, mediante la implementación de técnicas sencillas estas a su vez generan resultados reproducibles y válidos. Estas técnicas permiten reducir el tiempo y el costo de las investigaciones, además, poseen una visión bioética sobre el uso de animales de laboratorio, las principales líneas celulares de investigación son: ⁽⁶⁰⁾

- Línea celular MCF-7 Cáncer de mama
- Línea celular HaCat Queratinocitos humanos
- Línea celular CaLo Cáncer cervicouterino.
- Carcinoma de células escamosas A-431
- Carcinoma humano de colon COL_2
- Leucemia linfocítica de ratón P-388
- Melanoma humano MEL-2

3.4.1 Bioensayo *Artemia salina*

La evaluación preliminar de actividad citotóxica de las plantas representa un papel importante para el establecimiento de los criterios de seguridad y efectividad promovidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la seguridad y eficacia de los fitofármacos y productos herbolarios por ello es necesario realizar y documentar estudios de su toxicidad.

El bioensayo de *Artemia salina*, es de mucha utilidad para la búsqueda de nuevas drogas con efectos biológicos, este método es considerado como una prueba general de toxicidad y un complemento de valoración farmacológica de extractos de plantas; tiene la ventaja de ser rápido y altamente sensible y es posible determinar la concentración letal media a partir de extractos secos, los resultados son verificados mediante el intervalo de confianza al 95%. ^(17, 20, 60)

Además, este método se utiliza para evaluar compuestos antitumorales debido a la correlación positiva entre la mortalidad de larvas de *Artemia salina* relacionado con la citotoxicidad de las células 9 KB (Carcinoma nasofaríngeo humano). ⁽²⁰⁾

Ventajas del bioensayo y parámetros de eclosión

La *Artemia salina*, es utilizada en los bioensayos y se encuentra en dos presentaciones: como biomasa, compuesta por nauplios y larvas adultas congeladas, deshidratadas y liofilizadas. En la forma de quistes es necesario realizar el proceso de eclosión y es utilizada para realizar los bioensayos. ^(16,17)

Para eclosionar los quistes es necesario mantener ciertas condiciones ambientales para obtener un alto porcentaje de eclosión. Ver cuadro N° 1

Cuadro N° 1 Condiciones ambientales para obtener un alto grado de eclosión. ^(20, 40,51,57)

Parámetros	Criterios de eclosión estandarizados
Temperatura	La temperatura adecuada para una eclosión optima oscila entre 25-35 °C. en
Salinidad	La Artemia se caracteriza por soportar un amplio margen de salinidad. En ambientes marino los niveles de salina rondan el 35% para condiciones de ensayo es necesario mantener de 120-150 ppt a esta concentración se llevará el ciclo de vida.
Oxigeno	El rango de oxígeno es entre 1.5-3 ppm, es recomendable no sobrepasar los niveles de oxígeno. se desarrolla una intensa coloración rojiza debido a un incremento en la concentración de hemoglobina.
Iluminación	La iluminación es esencial para lograr una eclosión máxima. Se debe utilizar una lámpara con potencia de 2000 Lux. (Unidades internacionales de Luminosidad). Este parámetro es imprescindible ya que produce calentamiento en la solución de eclosión y genera el movimiento fototactismo esta capacidad permite separar a los nauplios de las cáscaras.
pH	A fin de lograr una eclosión máxima se recomienda mantener el nivel de pH entre 7.5-8.9.
Estadío	Para procesos experimentales como pruebas de toxicidad es necesario utilizar los estadios larvales tempranos. Los quistes tienen que eclosionar bajo las mismas condiciones de oxígeno temperatura, luminosidad por 24 horas

El desarrollo de bioensayo de *Artemia salina* está fundamentado como un método alternativo de prueba, que se caracteriza por cumplir normativas bioéticas sobre el maltrato animal. Este método posee muchas ventajas que le han permitido evaluar el efecto tóxico de sustancias químicas contaminantes de agua, así como también el efecto citotóxico de los extractos naturales. Ver cuadro N° 2

Cuadro N° 2. Ventajas del Bioensayo *Artemia salina*. (20, 51,57)

Parámetro	Ventaja
Reproducible	El bioensayo de <i>Artemia salina</i> , se caracteriza por brindar resultados en veinticuatro horas, después de exponer a los nauplios a extractos vegetales de diferentes concentraciones y calcular la LC ₅₀
Condiciones	Este método no requiere condiciones asépticas para su implementación
Sensibilidad	Las células de <i>Artemia salina</i> son altamente mete sensible hasta concentraciones menores a 10 µg/mL,
Latencia	Los quistes pueden permanecer por amplios periodos de tiempo, hasta tener condiciones óptimas para la eclosión, esto se afecta su sensibilidad ni reproducibilidad.
Versatilidad	Este método es aplicado en diversas investigaciones como en toxicidad de insecticidas usados en la agricultura, el Instituto de Cáncer de Maryland lo utiliza para el descubrimiento de células antitumorales, además es estudios preliminares de toxicidad de extractos de plantas medicinales.
Bioética	Cumple con protocolos de investigación establecidos el comité de ética que establece realizar investigaciones basadas en buenas prácticas de laboratorio BPL, que aseguren el bienestar de organismos vivos sometidos a procesos experimentales. <i>Artemia salina</i> está clasificada en una escala zoológica inferior como no protegido.

3.5 GENERALIDADES DE ARTEMIA SALINA

La *Artemia* es un crustáceo que en estado adulto llega a medir 17-18 mm, posee un caparazón blando, la hembra adulta posee un ovisaco en el que incuba de 10-20 quistes según el tipo de cepas pueden ser sexos diferenciados o partenogénicas. Vive en aguas salina y debido a su elevado contenido de proteínas (50-60%), aminoácidos y ácidos grasos es empelado en la producción hidrobiológica y en acuicultura. (51,57)

Taxonomía de *Artemia*. ⁽⁵¹⁾

Phyllum: Artrópoda

Clase: Crustacea

Subclase: Branquiopoda

Orden: Anostraca

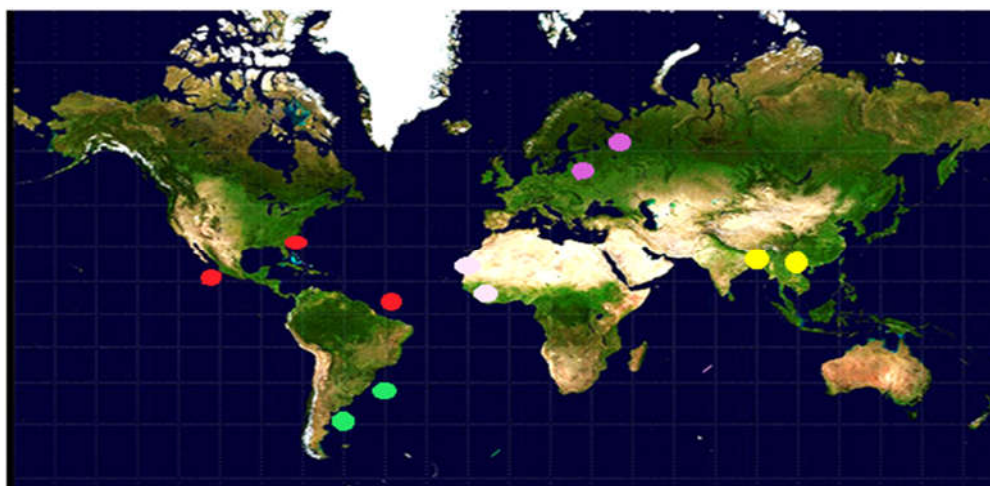
Familia: *Artemidae*

Género: *Artemia*

Distribución geográfica de *Artemia*

Se encuentra distribuida en muchas áreas del mundo, el género de *Artemia* fue descubierto en Inglaterra en la ciudad de Lymington, se desarrolla perfectamente en lagos salinos, es capaz de adaptarse a condiciones ambientales extremas ya que no posee defensa contra otros depredadores. Sin embargo, posee un sistema osmorregulatorio que le permite realizar cambios en su estructura branquial que le facilitan sobrevivir en los ambientes hipersalinos. ^(51,57)

Se conocen cinco poblaciones de *Artemia* distribuidas en 300 lagos salinos naturales y artificiales alrededor del mundo. (Ver figura N° 1). ⁽⁵⁷⁾



Artemia salina ● *Artemia franciscana* ● *Artemia permisilis* ● *Artemia sinica* ●
Artemia umanaia ●

Figura N° 1. Distribución geográfica mundial de la familia *Artemidae*

Hábitat

Habita exclusivamente en ecosistemas hipersalinos, caracterizados por su escasa diversidad biológica y ausencia de predadores. Los hábitats comprenden de lagos salados, temporales o permanentes, situados en zonas costeras o en entornos continentales.

La mayoría de los biotipos de *Artemia* están constituidos por aguas muy someras, en ocasiones puede encontrarse en medios de cierta profundidad y con estratificaciones físicas, químicas y biológicas importantes.

La diversidad de ecosistemas en los que se encuentra la *Artemia* sostiene que posee una gran capacidad de adaptación y tolerancia a las condiciones ecológicas. ^(63, 62)

Importancia económica. ⁽⁶²⁾

El inicio comercial de *Artemia* empezó en los años 50 cuando investigadores descubrieron que las larvas podían servir de alimento para otras especies. El incremento en la industria pesquera y camaronera de las larvas fue sobreexplotado lo que condujo a escases de los quistes y propició una oportunidad para que países como: Argentina, Australia, Brasil, Francia e Italia incursionaran en el mercado internacional como principales productores de quistes.

Actualmente, la producción de los quistes, su viabilidad y precio son relativamente estables gracias a las investigaciones sobre la biología de *Artemia*.

El precio de los quistes depende de la calidad, los más económicos se caracterizan por ser nauplios de gran tamaño y con poca cantidad de ácidos grasos esenciales, los quistes de alta calidad son aquellos que eclosionan de manera sincronizada dando pequeños nauplios libres de contaminantes y con altos niveles de ácidos grasos esenciales y proteínas.

Desde la década de los años 80 el consumo de quistes ha aumentado a cientos de toneladas anuales como resultado de las numerosas investigaciones científicas enfocadas a toxicidad. ⁽⁶²⁾

Alimentación ⁽⁶²⁾

Es un crustáceo basa su alimentación en la captura de bacterias, algas unicelulares, pequeños protozoos y detritos del medio en que vive, los apéndices son los que realizan esta función de filtración los movimientos que realizan los apéndices crean corrientes en dos direcciones opuestas: anal y oral; la oral es la que conduce el alimento hasta la boca del animal. Este mecanismo se evidencia en la etapa adulta de la *Artemia*.

En el estadio naupliar, la alimentación se lleva a cabo por las reservas vitelinas acumuladas dentro del organismo. A partir del segundo estadio larvario empieza la filtración de alimento por las antenas por tanto el mecanismo de alimentación es: filtrador simple, obligado y no selectivo que ingiere partículas entre 1-50µm. en los laboratorios es frecuente alimentar a los nauplios con algas del género Chateoceros este consumo incrementa las proteínas hasta un 70%. ⁽⁶²⁾

Composición química

La *Artemia* es uno de los organismos vivos más utilizados para la alimentación de especies en cultivo, su principal consumidor son los camarones debido a su composición química que presenta alto contenido de proteínas, ácidos grasos insaturados, y lípidos que juegan un rol fundamental en diversas funciones metabólicas de especies superiores.

El contenido de ácidos grasos depende del origen geográfico, en base a esto se clasifican en dos grupos: el primero larvas con alto contenido de ácido linolénico de un 30% y ausencia de ácido eicosapentaenoico, el segundo se denomina de tipo marino y presenta más contenido de ácido eicosapentaenoico hasta un 13%.

El ácido docosa-hexaenoico y el ácido linolénico se encuentra en cantidades ínfimas en los nauplios, mientras que los ácidos grasos más importantes presentes en los estados de quistes, nauplios y adultos son: ácido palmítico y oleico.

En los quistes se encuentra una cantidad considerable de lípidos estos proceden de reservas de vitelo de las hembras adultas ovíparas que son capaces de sintetizar, transformar y catabolizar los ácidos grasos que se obtienen en la dieta. Por tanto, los factores condicionantes de la cantidad de ácidos grasos son los factores ambientales y genotípicos.

Dependiendo de los factores genéticos propios de una determinadas especie o población de *Artemia*, como de las condiciones ambientales donde habite, el crustáceo presentará un determinado perfil en su composición química. Ver cuadro N° 3. ⁽⁵⁷⁾

Cuadro N° 3. Análisis proximal de la composición química de *Artemia salina* ⁽⁷⁵⁾

Componentes	Porcentaje
Cenizas	9-20%
Proteínas	52-74%
Carbohidratos	7-17%
Glucógenos	2-9%
Lípidos	8-16%
Fosfolípidos	4-6%
Colesterol	0.5-0.9%
Azúcares	3-4%
Ácido palmítico	Los ácidos grasos más importantes en el estado adulto.
Ácido linolénico	
Ácido palmitoleico	

3.6 Ciclo de vida de *Artemia salina*

3.6.1 Metabolismo de los quistes.

En esta fase los quistes pueden permanecer durante largos períodos de tiempo incluso años debido a que su metabolismo se detiene, a esta capacidad de permanecer en latencia se denomina criptobiosis. La morfología de los quistes está conformada por tres estructuras ^(26, 57)

- El corión: es la primera estructura, es una capa dura formada de lipoproteínas, quitina e impregnada con hematina (producto de descomposición de la hemoglobina), la concentración de hematina determina el color de la cáscara el cual varía de quiste marrón oscuro a marrón oscuro.

- La principal función del corión es proteger al embrión contra rupturas mecánicas y radiaciones ultravioletas, resistencia a las altas temperaturas y rupturas mecánicas. Además, el corión presenta gran higroscopicidad de tal forma que es capaz de captar agua del ambiente hasta un 200% de su peso, proceso de hidratación tras el cual el quiste pierde flotabilidad y reinicia el metabolismo que culmina en la ruptura del corión y salida del nauplio. ^(26, 57)

- La membrana cuticular: es la segunda estructura compuesta por varias capas la función que desempeña es crear una barrera que evite la penetración de CO₂ y como barrera de permeabilidad. ^(26, 57)

- La cutícula embrionaria: es una capa transparente y altamente elástica que queda separada del embrión por la membrana cuticular interna esta se transforma en membrana de eclosión.

En la figura N° 2. Se presenta el metabolismo de los quistes en eclosión, en condiciones favorables los quistes se hinchan adoptando una figura esférica, lo

que genera la ruptura de la cutícula externa y se hace visible en pre-nauplio, este continúa rodeado de la membrana embrionaria transcurrido un periodo de 24 horas el pre-nauplio deja definitivamente la membrana interna saliendo el nauplio

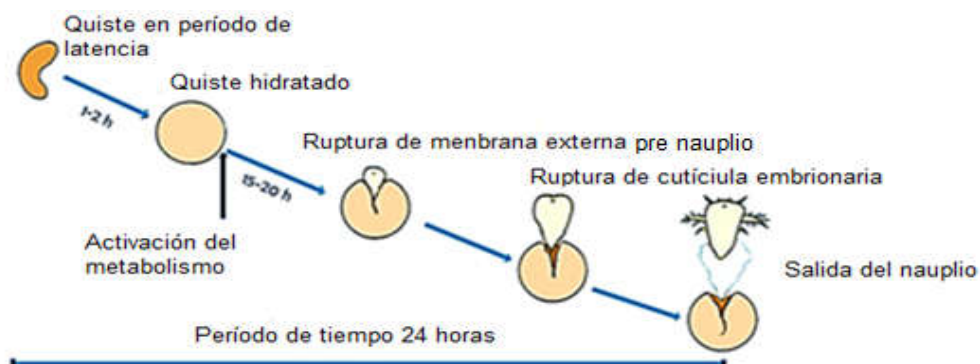


Figura N° 2. Morfología y proceso de eclosión de quistes (26, 62).

En la figura N° 3. Se presentan el ciclo de vida de la Artemia el cual consiste en los estadios larvales y en los estadios post-larvales

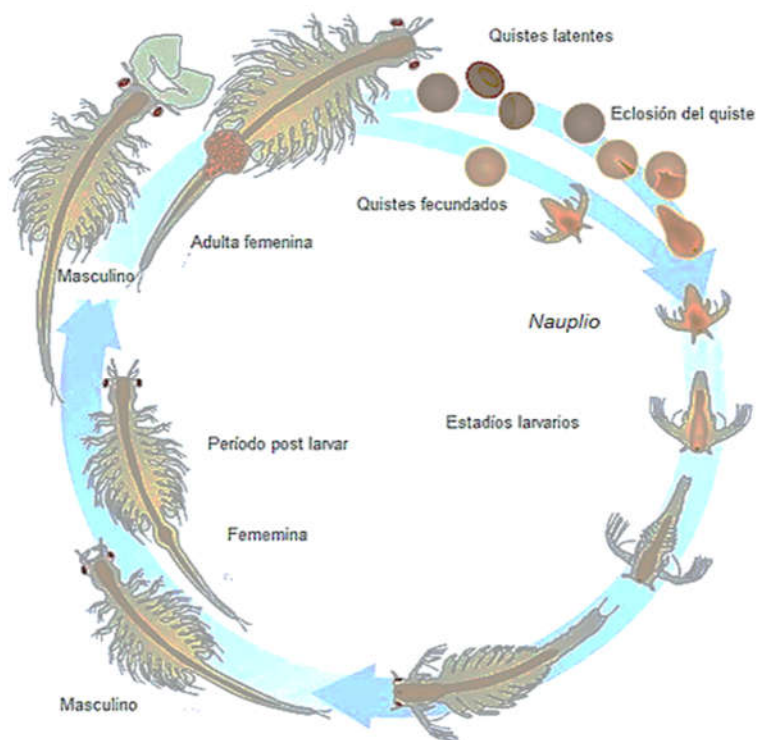


Figura N° 3. Ciclo de vida de *Artemia salina*. (26, 62)

3.6.2 Desarrollo de estadios larvales

Esta etapa de desarrollo puede dividirse en una serie de estadios larvales determinados por sucesivas mudas en las cuales la fisonomía del animal cambia hasta alcanzar el estado adulto. (16, 62,63)

Primero y segundo estadios larvales

El primer estadio larvario empieza cuando los quiste se hidrata con el agua salina tomando una forma esférica el embrión que se encuentra dentro empieza a activar su metabolismo, al cabo de 24 horas la membrana que recubre el quiste eclosiona liberando al nauplio este mide entre 400-500 micras de longitud, posee tres pares de anténulas o también llamados apéndices el primer par de anténulas tienen la función sensorial, el segundo par de anténulas ejercen las función locomotora y el tercer par de anténulas realizan la captura de alimento en el estado adulto ya que en estadio larvario los nauplios no poseen un sistema digestivo funcional. El nauplio es de color anaranjado por la presencia de carotenos en el vitelo, en la cabeza del nauplio se encuentra ubicado el ojo naupliar común en los crustáceos, el cual es un órgano simple es responsable del fototactismo. (16, 62,63)



Figura N° 4. Nauplio

Período metanauplio 3-5 estadio larvales

En este estadio larvario los nauplios se han desarrollado a metanauplios, pequeñas células de microalgas, y bacterias empiezan a ser captadas por el tercer par de anténulas estas son filtradas hasta llegar el tracto digestivo, se desarrollan las estructuras sensoriales. Este estadio ocurre aproximadamente

quince mudas en esta etapa aparecen las anténulas lobulares en la región torácica llamadas toracópodos importantes para la locomoción. (16, 62,63)



Figura N° 5 Metanauplio

Período post-metanaupliar estadios larvales 6 al 15

En este estadio se producen importantes cambios morfológicos como funcionales, se desarrollan los ojos laterales, las anténulas de locomoción se reducen a medida que se desarrolla los filopodios estos asumen la función de locomotora, filtradora, y transportadora de alimento hacia la región bucal, aparecen los apéndices lobulares en la región torácica y que se volverán toracópodos. La mandíbula se hace más prominente, la región genital de la larva masculina corresponde a los primeros segmentos del abdomen y la parte genital de la larva femenina está constituida por la región ovisaco. (16, 62,63)

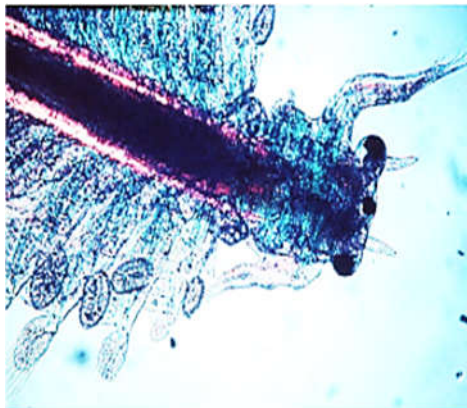


Figura N° 6. Juveniles

Período de desarrollo post-larval

Durante este período se completan todos los cambios morfológicos en el cuerpo y en la región genital los órganos sexuales externos (pares de penes y ovisaco) completan su desarrollo. El sistema reproductor masculino consta de un par de testículos, un par de conductos deferentes, y dos pares de penes, en la cabeza se desarrollan un par de antenas estas sujetan a la hembra para realizar la fecundación. (Ver figura N° 7). El sistema reproductor femenino consta de un par de ovarios y un par de oviductos (conductos que desembocan en el útero). El ovisaco es de forma triangular y contiene pequeñas espinas en posición ventral y lateral. (Ver figura N° 8). (16, 62,63)



Figura N° 7 Estado Adulto macho

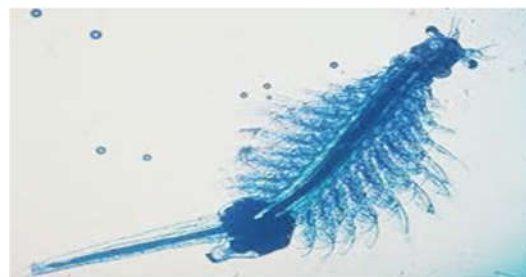


Figura N° 8 Estado Adulto hembra

3.6.3 Reproducción

Las hembras en estado adulto tienen la capacidad de reproducirse de forma ovovivípara que son nauplios completamente formados en ausencia de quistes y la forma ovípara quistes en estado de criptobiosis. Generalmente la reproducción es bisexual, aunque puede presentarse la partenogénesis o reproducción asexual que consiste en el desarrollo de un embrión sin la fertilización previa del óvulo o gameto. En estado adulto las hembras realizan dos puestas de quistes con diferencias de 10 días. La reproducción sexual inicia con la precócula del macho, cuando esté sujeta a la hembra en el extremo del útero con sus apéndices cefálicos prensiles (antenas) quedando en posición de monta y nadan durante largo tiempo en sincronía esto se conoce como paseo nupcial.

La cópula se realiza cuando el macho introduce el pene en el útero realizando la fecundación y solo es efectiva cuando los óvulos se encuentran en los sacos laterales de los oviductos situados en el útero. (16, 62,63)

Las hembras deben ser fertilizadas en cada puesta porque prescinden de la capacidad de almacenar el esperma introducido por los machos en una fecundación. (Ver figura N° 9). (16, 62,63)



Figura N° 9. Etapa de reproducción fertilización



Figura N° 10. Hembra adulta antes de puesta de quistes

El desarrollo embrionario se produce en el útero (Ver figura N° 10). Siguiendo con el proceso ovíparo los embriones son recubiertos por secreciones provenientes de las glándulas situadas en la membrana exterior y favorece a la formación de los quistes los cuales, se desarrollan fuera del útero mediante el mecanismo de criptobiosis, este posee dos componentes.

El primero es una capacidad de inactivación metabólica endógena y la segunda es la capacidad exógena, este mecanismo es de suma importancia ya que cuando los quistes son expulsados desde el ovisaco al medio exterior inicia la inactivación metabólica de modo que los quistes entran en fase de latencia.

Cuando los quistes se encuentran en condiciones ambientales optimas como temperatura, salinidad y oxígeno se suspende el estado de latencia y se reanuda el desarrollo. (16, 62,63)

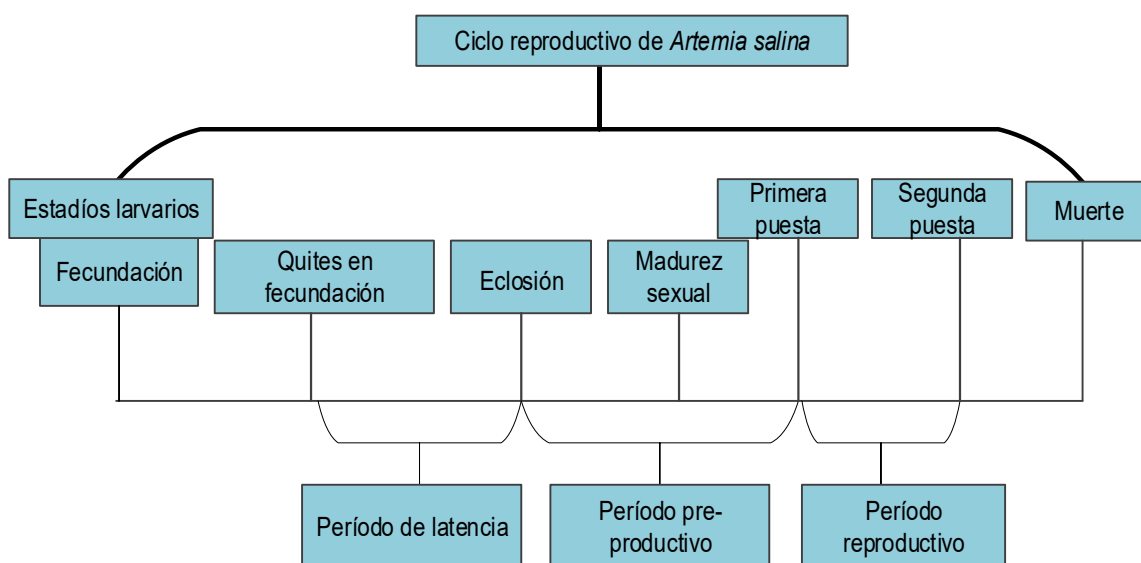


Figura N° 11. Ciclo reproductivo de la Artemia

3.7 MONOGRAFÍAS DE LAS PLANTAS MEDICINALES

Cada monografía cuenta con la descripción botánica, hábitat, composición química, usos etnomédicos, actividad farmacológica, y resultados bibliográficos de estudios de toxicidad

BAJA LECHE. (10, 52, 71)**NOMBRE CIENTIFICO.***Euphorbia lancifolia***NOMBRE COMUN.**

Baja leche, hierba lechera,

Hierba de la tristeza,

Ixbut, sapillo

FAMILIA.

Euphorbiaceae



Figura N° 12. Baja leche

HABITAT

Euphorbia lancifolia es nativa de Mesoamérica con una altitud comprendida entre 600-1900 msnm, su distribución va desde el Sur de México hasta Colombia.

DESCRIPCION BOTANICA.

Planta herbácea perenne, con tallos rollizos, verde pálido, hasta de dos metros o más de altura, contiene savia con apariencia de látex. Sus hojas alternas, peciolo erectos muy cortos de forma rómbico-lanceolados de 5-9 cm de largo acuminadas o agudas en la base, glabras por encima pálidas por debajo ligeramente pilosas aislados, oblongadas-lanceoladas, puntiagudos en sus extremos, Las flores son de color blanco pequeñas.

COMPOSICION QUIMICA

Análisis proximal del Ixbut (*Euphorbia lancifolia*) El contenido de la hoja es fibra cruda 16.2 gramos, humedad 9.2 gramos, nitrógeno 1.9 gramos, fósforo 400 mg,

carotenos 15 mg, vitamina C 73 mg, vitamina B₂, vitamina B₁, niacina 4.1 mg. calcio 1510 mg, hierro 53.3 mg, fosforo 400 mg, caroteno 15 µg.

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se realizó un estudio con el extracto fluido de *Euphorbia lancifolia* en un grupo de 86 pacientes post parto, los resultados fueron que en 54% de las pacientes aumentaron significativamente la producción de leche materna, en el grupo control no obtuvo ningún beneficio. Se ha administrado en mujeres a las que se han practicado cesáreas una infusión del extracto seco luego de 48 horas se obtuvo un aumento de lactancia materna en un 50%.

USOS ETNOMEDICOS

Amplio uso popular de propiciar la lactancia materna, (galactagoga), calma fiebres antiséptico y dolores de cuerpo. La infusión o decocción de hojas goza de una gran reputación para favorecer la producción de leche durante el periodo de lactancia de las madres.

TOXICIDAD

No se ha evidenciado la presencia de componentes tóxicos en esta especie.

CAÑA DE CRISTO. (49,70)

NOMBRE CIENTIFICO.

Costus scaber Ruiz & Pav.

NOMBRE COMUN.

Caña de cristo, Caña agria

FAMILIA.

Costaceae

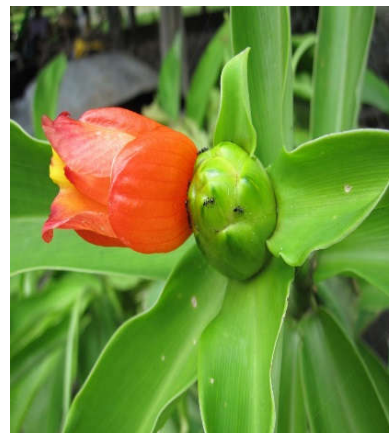


Figura N° 13. Caña de cristo

HABITAT

Originaria de Mesoamérica, se encuentra en climas cálidos, semicálidos y templado entre los 100-400 msnm, está asociada a bosques tropicales perennifolio.

DESCRIPCION BOTANICA.

Sus características más particulares se ven en sus hojas las cuales son ligeramente ovaladas, alternas, grandes, lisas de 10-50 cm de longitud, 8.0 cm de ancho en la parte media, peciolo transformado en vaina que envuelve el tallo. Dispuestas sobre el tallo en forma alterna. La inflorescencia es terminal, flores blancas con un parche amarillo y ápice rojizo; brácteas verdes en el ápice, rojizas en la superficie externa y color rojo en la superficie interna; pétalos amarillos. Puede alcanzar hasta 3 metros de altura. Su tallo es carnoso, el cual es utilizado para sacar el zumo.

COMPOSICION QUIMICA.

Las hojas contienen camferol, flavonoides, quercetina este es un flavonoide que posee propiedades contra alergias alimentarias y respiratorias. Posee efectos biológicos como antioxidante y un efecto sinérgico con la vitamina C. Se han aislado diosgenina, sitosterol, ácido tria-contanoico, oxácidos y esteroides de ácidos grasos ramificados, saponinas esteroidales.

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se han evidenciado los efectos de actividad antimicrobiana y antimicótica por el método de Kirby Bauer y de difusión en placa mediante un extracto etanólico de *Costus scaber* frente a los microorganismos de *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* y *Streptococcus mutans* siendo eficaz en un 65%.

USOS ETNOBOTANICOS

Las plantas de esta familia son conocidas como caña agria el zumo fresco de los tallos es un preparado muy utilizado para bajar la fiebre en zonas rurales; en algunos países se consume el zumo para aliviar la sed, algunos géneros de esta especie se utilizan para neutralizar los venenos de serpiente

El tallo se utiliza para combatir el paludismo, el zumo del tallo se toma tres veces al día. Se usa como diurético limpia y purifica los riñones, relajante muscular, antiespasmódico, inflamaciones del aparato urinario, tiene efecto emenagogo ya que aumenta la menstruación cuando es escasa, además de calmar los dolores menstruales, baja la fiebre. Se recomienda en el caso de nefritis, cálculos urinarios e inflamación de la vejiga.

Para las afecciones de riñones y vías urinarias se licuan las hojas, se endulza con miel, para combatir el mal de orín se realiza una infusión con el tallo de la planta, en forma de colirio se utiliza para infecciones en los ojos, se corta una parte del tallo tierno, se exprime para extraer unas gotas para luego aplicarse en los ojos, en afecciones de la boca se mastica trozos del tallo, para combatir la fiebre se pela el tallo y se saca el zumo el cual se mezcla con agua para bañar a la persona.

TOXICIDAD.

El estudio de toxicidad aguda en dosis repetidas se llevó a cabo en 4 ratones *Rattus norvegicus* a las cuales se les asignó un código individual que permite la identificación para el estudio de los signos como irritabilidad, convulsiones y piloerección después de 14 días se atribuyó que el extracto no presentó efectos colaterales

CAMPANITA. (22,74)**NOMBRE CIENTIFICO***Ruellia simplex* C. Wright*Ruellia brittoniana***NOMBRE COMUN**

Campanita

FAMILIA

Acanthaceae



Figura N° 14. Campanita

HABITAT

Nativa del Sur de América del Norte se distribuye en zonas tropicales desde América Central a Brasil, a unos 500 nmsm.

DESCRIPCION BOTANICA

Planta herbácea perenne, erecta de 1 metro tallos jóvenes cuadrados con entrenudos glabros o pubescentes. Las hojas son pecioladas de 2.5 cm de largo poseen laminas lanceoladas-lineares de 3.4-17 cm de largo atenuadas en el ápice y atenuadas en la base.

COMPOSICION QUIMICA

En las partes aéreas se han aislado compuestos como apigenina-7- β -glucorónido que son responsables de la actividad antidiabética, flavonoides, fenoles, saponinas, además de trihidroxi-7-o-glucoflavona, 5,7,4-trimethoxi-3-orto-rhamnoflavona, 2,2,4,6-tetrahidroxi-chalcona, ácido mirístico, ácido palmítico, 5,7,4-trimethoxi-3-orto-rhamnopiranosido, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido araquidónico, β -sitosterol.

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se ha evaluado el extracto acuoso de la raíz tuberosa en actividad antiinflamatoria, anticonceptivo, tratamiento de gastritis (utilizando modelos de ratas con gastritis inducida por etanol). En extractos de las hojas se utilizaron para comprobar el efecto hipoglucemiante en conejos y ratas con diabetes inducida por aloxano y diabetes tipo II inducida por estreptozotocina combinada con la nicotinamida. La actividad antiinflamatoria de *Ruellia simplex* se ha estudiado en una concentración de 100 µg/mL, usando como control a la vitamina C, el extracto mostró actividad antiinflamatoria del 4.2%. Se realizó la evaluación de la actividad cardiotónica de *Ruellia simplex* en corazón de ratón en extractos butanólico y acuosos los cuales fueron comparados frente a digoxina.

USOS ETNOBOTANICOS

Se administra en casos de gonorrea, sífilis, infecciones renales, afecciones respiratorias, infecciones de útero, diabetes, antiemético, cefaleas, fibrosis, infecciones de la piel.

TOXICIDAD

No se reporta estudios de toxicidad aguda o crónica.

FLOR BARBONA. (35,37)

NOMBRE COMÚN

Clavelina, guacamayo

NOMBRE CIENTÍFICO.

Caesalpinia pulcherrima (L.) Sw.

FAMILIA

Fabaceae



Figura N° 15. Flor barbona

HABITAT

Esta ampliamente distribuida en regiones tropicales desde México hasta Sudamérica y también en las Antillas. Su origen es de Centroamérica en zonas de 650 msnm, se encuentra naturalizada en los trópicos de Europa.

DESCRIPCION.

Arbusto de hasta 4 metros de altura, con espinas en las ramas jóvenes y vistoso follaje, hojas bipinnadas, alternas de 3-9 pinnas por hoja y de 6-12 hojuelas por pinna; las pinnas son redondeadas en el ápice, pálidas en el envés dehiscentes al madurar. Sus flores son rojas o amarillas dispuestas en corimbos terminales de color rojo con manchas amarillas, estambres prominentes. Las semillas presentan una forma aplanada, de aproximadamente 0.8 cm de largo de color verde oscuro lisa brillante lustrosa y muy dura. Las vainas de 12 x 13 cm, que contienen 8-10 semillas.

COMPOSICIÓN QUIMICA

Se han encontrado flavonoides inhibidores de la producción de óxido nítrico (NO) y de las citoquinas (TNF- α) y (factor de necrosis tumoral) e interleucina (IL-12) ambos mediadores de la inflamación glicósidos rotenoides, isoflavonoides, chalconas, esteroides. Los compuestos de 6 β -cinnamoyloxyvouacapen-5 α -ol también llamado Plucherrina J. de estructura molecular C₂₉H₃₆O₄ además el compuesto 6 β -cinnamoyl-7 β -hidroxi-vouvapen-5 α -ol (C₂₉H₃₆O₅). En extractos metanólico se evidencio la presencia de: alcaloides, saponinas, taninos, fenoles, flavonoides y terpenos.

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS.

En modelo inducido por edema articular inducido TPA mostro clara evidencia de la efectividad de *C. pulcherrima* contra la inflamación. El extracto etanólico de la

planta es efectivo contra el virus de la influenza y tiene propiedades antibacterianas, el extracto de las raíces se ha demostrado actividad antituberculosa. El estudio realizado con extracto etanólico al 96% confirmó la actividad antiinflamatoria empleado en el modelo murino de edema auricular inducido TPA, el ensayo in vivo fue realizado en ratones machos ICR (10-12 semanas con peso de 200-250 g) y hembras ICR (10-12 semanas; 25-35 y con peso de 25-35 gramos), además se ha realizado la prueba de concentración mínima inhibitoria (CMI) para el extracto de flores de *Caesalpinia pulcherrima* L. del cual se obtuvo inhibición frente a *Staphylococcus aureus* del 99.03%.

El efecto antimicrobiano in vitro de los extractos de flores de *C. pulcherrima* se empleó en métodos de micro dilución en caldos establecido por el CLSI determinando la concentración mínima inhibitoria frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*.

USOS ETNOMEDICOS

Las flores y flores se utilizan en infusión para el tratamiento de la hepatitis, diarrea, también tienen efecto vermífugo, anticonceptivo, antimicrobiano, diurético, usado como tratamiento de enfermedades como la malaria, artritis y dermatitis. El extracto alcohólico de hojas y flores, se aplica tópicamente para el tratamiento de dolores inflamación por artritis reumatoide, ayuda a la dismenorrea El foliolo de las hojas se utiliza por su efecto laxante fuerte en grandes cantidades puede ser narcóticas.

TOXICIDAD

En cantidades considerables induce el aborto en el primer mes de embarazo. En extracto etanólico obtuvo un LD₅₀ de 5656.85 mg/kg de peso en ratones albinos

FLOR DE MUERTO. (24,73)**NOMBRE COMUN**

Flor de muerto

NOMBRE CIENTIFICO

Tagetes erecta

FAMILIA

Asteraceae



Figura N° 16. Flor de muerto

HABITAT

Es Originaria de México y Centroamérica habita en climas cálidos, semicálidos, seco y templado desde 8-3900 msnm, adaptada a distintos habitats, cultivada en huertos y bosques tropicales caducifolio, sub-caducifolio.

DESCRIPCION BOTANICA

Planta erecta anual de 1.8 m de alto estriado a veces glabro (con vellosidades), hojas opuestas en la parte inferior, con hendiduras casi hasta la nervadura central y sus bordes con dientes, alternas en la parte superior, la inflorescencia son cabezuelas solitarias o agrupadas sobre pedúnculos de 15 cm provistos de brácteas. Las flores son de 5-8 frecuentemente amarillas a rojas sus láminas en forma de punteadas.

COMPOSICION QUIMICA

Las hojas contienen aceite esencial del que se han identificado geraniol, limoneno, linalol, mentol, ocimeno, beta-felandreno, dipenteno, alfa pineno, beta

pineno, saponinas, taninos, glucósido, cardiotónicos, cumarinas, antraquinonas y tagetona . Los flavonoides prevalecen en las hojas como comferitrín y camferol, flavonas, flavonol, y antocianidinas. Las flores y los pétalos son ricos en carotenoides de los que se han identificado la luteína, xantofila. Esteres, ácidos grasos, monoterpenos, di-penteno así como piretrinas. En las raíces se han detectado componentes azufrados de bitienilo y tertienilo.

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se ha realizado screening usando el ensayo colorimétrico in vitro toxicology- XTT Kit(Roche Diagnostic) de los aceites esenciales de *Tagetes erecta* en líneas celulares de melanoma B16F10, carcinoma de colon HT29, adenocarcinoma cervical Hela(26.02 ± 5.52), línea de carcinoma hepatocelular HepG2 (161.60 ± 1.41) y glioblastoma MO59J (38.69 ± 5.51). Los compuestos de naturaleza flavonoide y terpenoide son considerados agentes antioxidantes, lo que sugiere un uso potencial de estos extractos para el tratamiento de diferentes patologías como arterosclerosis, procesos antiinflamatorios, anticancerígenos y para reducir los niveles de colesterol.

Los extractos de hojas y flor de *Tagetes erecta* L. han demostrado actividad antimicrobiana frente a las diferentes bacterias Gram positivas y Gram negativas. De manera general el órgano que mostró los mejores resultados fue la flor, donde los extractos produjeron halos de inhibición contra algunos patógenos como (*S. aureus* ATCC 25923 y *S. epidermidis*) similares al control positivo. Los metabolitos secundarios encontrados en extractos de hojas y flores de *Tagetes erecta* L. muestran las potencialidades de esta planta en la medicina humana y animal, debido a la presencia en general de flavonoides, terpenoides y taninos que han sido referidos como agentes terapéuticos con diversas propiedades biológicas. Así mismo, la actividad antibacteriana observada sugiere el uso de esta especie para combatir enfermedades en animales y humanos provocadas

por bacterias patógenas y justifica el empleo etnobotánico de esta especie en diversas patologías

USOS ETNOMEDICOS

Tagetes erecta L. (flor de muerto) es una planta utilizada desde la antigüedad con diferentes propósitos en la medicina y la agricultura. Las hojas son utilizadas como agente antiséptico, para los trastornos de los riñones y los dolores musculares. Las flores en procesos febriles, problemas epilépticos, estomacales, trastornos en el hígado, para eliminar la sarna y también en tratamiento de enfermedades oculares. El uso del jugo de las flores como remedio para los resfriados, el reumatismo, la bronquitis y el lavado de la piel, Se utiliza para combatir gripe, enfermedades cardiovasculares, molestias o dolores estomacales diarreas, vómitos, dolor de cabeza.

TOXICIDAD

El extracto etanólico de la planta completa administrado por vía intraperitoneal en ratón presentó una dosis letal media en una dosis de 0.1 g/kg de peso.

FLOR MANITA. (56, 66, 76)

NOMBRE CIENTIFICO

Celosia argentea var. *cristata* (L.) Kuntze

NOMBRE COMUN

Flor manita,

Cresta de gallo

Siempre viva

FAMILIA

Amaranthaceae



Figura N° 17. Flor manita

HABITAT

Ampliamente distribuida en América, África, se cultiva como ornamental en países tropicales.

DESCRIPCION BOTANICA

Planta herbácea anual, tallo de 2 metros de alto, ramificado, arrugado y estriado. Hojas lanceoladas, lineales con margen foliar entero de nervios marcados entre 5 y 15 cm de longitud. La inflorescencia es una espiga gruesa densamente floreada terminal y solitaria o agrupadas en racimos de 1.5 cm de largo en ocasiones se presenta un brote fasciado y ampliamente expandido dividido en el ápice con pedúnculos glabros de 12 cm, brácteas florales lanceoladas de 6 mm de largo. Las flores hermafroditas, pediceladas de 2 mm de largo, perianto delgado y seco, con cinco estambres. Las semillas son de color café rojizo a negras de 1.5-2.0 mm de largo se encuentran en un capsula de 3-4 mm de largo, por cada fruto se encuentran 3-9 semillas.

COMPOSICION QUIMICA

El screening de *Celosia argentea L.* ha demostrado la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, como compuesto mayoritarios taninos saponinas, carbohidratos, mucilagos y negativo a glicósidos cardiotónicos, antraquinonas, terpenos, ausencia de cardenólidos, bufadienólidos, flavonoides, quinonas, además se han aislado tres péptidos bicíclicos: celogentina A, B y C, Se aislaron junto el péptido moroidina, pigmentos betaxantínicos, betalaínas, amarantina, ácido betalámico, 2.descarboxi-betalaina.

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se ha realizado el ensayo de actividad antimicrobiana con el método de difusión y el método de concentración mínima inhibitoria frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* a una concentración del extracto de 20 mg/mL el extracto

acuoso de la parte aérea mostro actividad contra *Plasmodium falciparum* capa ITG-2. Los extractos de la semilla han presentado actividad antitumoral y propiedades inmunomoduladora.

USOS ETNOMEDICOS

Tradicionalmente es utilizada para el tratamiento de úlceras de la piel, cicatrizar heridas, combate los cálculos renales, laxante, como antiinflamatorio, antipirética, antiespasmódica, las flores son usadas como tratamiento de la dismenorrea, disentería, menorragia, las hojas se usan para tratar la ictericia, heridas, dolor de oídos, la raíz se usa como anti veneno, diurético, como tratamiento de asma, afrodisiaco y utilizado en casos de picadoras de alacrán.

TOXICIDAD

Altas concentraciones de ácido betalámico, 2-descarboxi-betalaina pueden generar toxicidad, mas no se cuenta con estudios. Se realizó estudios de toxicidad de las partes aéreas de las plantas siguiendo los lineamientos de OCDE se administraron por vía oral dosis de 2, 4,6 mg/kg en ratones, se observaron cada 24 horas, al finalizar el estudio no se obtuvo mortalidad ni anormalidades.

FALSO RIUBARDO. ^(5, 77)

CIENTIFICO

Jatropha podagrica Hook

NOMBRE COMUN

Falso ruibarbo

Campanita

FAMILIA

Euphorbiaceae



Figura N° 18. Falso ruibarbo

HABITAT

Especie nativa de América, se encuentra frecuentemente en laderas rocosas, secas, jardines tropicales ornamentales entre los 800-1000 msnm.

DESCRIPCION BOTANICA

Arbusto semi-caducifolio, monoico de 1,2 metros de altura glabro (sin vellosidades), poco ramificado, con tallo nudoso y engrosado en la base con ramas cortas retorcidas, carnosas. Las hojas son agrupadas hacia el fin de los tallos, peltada, de ovadas a elípticas de 12-30 cm con base truncada u obtusa y el margen de 3-5 lóbulos, redondeados en el ápice de color verde oscuro en el haz y verde grisácea por el envés, glabras en ambas superficies; nerviación palmeada, el peciolo es de 6-10 cm de largo.

Estípulas de 5-8 mm de largo, glandulosas. Las flores son agrupadas en tres aparecen en el ápice de un tallo deshojado, de colore rojo florecen durante el verano. La inflorescencia es terminal.

COMPOSICION QUIMICA

En el estudio fotoquímico se ha elucidado b-amirina, palmitato de lupeol, quercetina, apigenina, vitexina, isovitexina, rutina, ácido-3-acetil-aleuritico ácido acetil-alanitolico, sitosterona, fraxetina, fraxidina, sitosterona. En la raíz se han aislado diterpenoides como: japodagrina y japodagrone, alcaloides, y terpenoides, ácido japodic 2-metil-4,5-dimetilmetileno-8-oxo-ácido nonanoico fórmula $C_{13}H_{22}O_3Na$; además de Eritrinasinato octacosanyl-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-2-(E)-propanoato, 8-hidroxi-6,7-dimetoxi cumarina fraxidin $C_{11}H_{11}O_5$

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se ha estudiado el efecto antimicrobiano en el tallo de *Jatropha podagrica* H. En un extracto n-hexánico, metanólico, cloroformo contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* a una concentración de 15 mg/mL contra los

fármacos amoxicilina (1.9 µg/mL), estreptomina (1.5 µg/mL), ampicilina (2.0 µg/mL), gentamicina (1.5 µg/mL) y fluconazol (1.0 µg/mL). La actividad antimicrobiana del compuesto C₁₁H₁₁O₅ mostró un halo de inhibición de 12-15 mm frente a *Helicoverpa zea*.

USOS ETNOMEDICOS

Antipiréticos, diurético, purgante, se usa en afecciones de la piel, tratamiento de enfermedades de transmisión sexual como gonorrea, ictericia y fiebre.

TOXICIDAD

No se ha reportado LC₅₀. Pero se ha documentado que todas las partes de la planta son tóxicas, en particular las semillas, cuya ingestión puede provocar gastroenteritis hemorrágicas con deshidratación y colapso cardiovascular, por lo tanto, se debe eventualmente evitar la presencia en lugares frecuentados por niños y animales domésticos; el látex puede provocar irritaciones de la piel en individuos sensibles.

FLOR DE CHINA. (11, 68, 80)

NOMBRE CIENTIFICO

Impatiens balsamina L.

NOMBRE COMUN

Flor de china

Belén

Chinitos

FAMILIA

Balsaminaceae



Figura N° 19. Flor de china

HABITAT

Nativa de Asia se encuentra ampliamente naturalizada en los trópicos en ambientes cálidos de Centroamérica entre los 50-2000 msnm, preferentemente en suelos muy húmedos.

DESCRIPCION BOTANICA

Hierba erecta a sub-erectas de 1.0 metro de alto, tallos jóvenes seríceos estípulas ausentes. Hojas simples, alternas a veces sub-verticiladas estrecho lanceolado, ápice agudo o acuminado, base atenuada o decurrente, margen aserrado; pecíolo corto y peciolos blanquecinos.

Flores axilares, solitarias estas florecen a lo largo del tallo, el cáliz y corola son coloreados los pétalos están soldados en la base, efímeros y un largo espolón coloreado delgado, que parte desde el cáliz, pétalos 1.5-2.5 x 1-1.5 cm obovados. Frutos son cápsulas de 17-23 mm de largo, elipsoides, con surcos longitudinales y con dehiscencia explosiva al madurar, semillas numerosas de 1-1.5 mm de largo.

COMPOSICION QUIMICA

Flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides, saponinas, carbohidratos, esteroides, triterpenoides, glucósidos, taninos y cumarinas, nicotiflorina (flavonol), 2-hidroxi-1,4-naftoquinona, kaempferol-3-ramnosildiglucósido, kaempferol, kaempferol-3-rutinósido, quercetina, quercetin-3-rutinósido, 2-metoxi-1,4-naftoquinona, ácido p-hidroxibenzoico, ácidos gentisinicos

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se ha demostrado el efecto anti-anafiláctico en el extracto de 35% v/v de pétalos en ratones por vía intravenosa. El extracto etanólico al 35% ha demostrado eficaz actividad contra el prurito y la dermatitis atópica en un modelo inducido de

dermatitis en ratones NC los cuales se caracteriza por desarrollar lesiones cutáneas similares a la dermatitis atópica en humanos. Se desarrolló el estudio para demostrar la capacidad antihipertensiva en una dosis de 0.01 mg/kg por vía intravenosa.

USOS ETNOMEDICOS

Es usado como emético, catártico, diurético, reumático, se usa en casos de prurito, en casos de reumatismo, diurético, facilita el parto, antiinflamatorio. Las flores son usadas para contra el dolor del lumbago, neuralgias, quemaduras y escoriaciones, en forma tópica para la dermatitis, emético, expectorante, tónicas, y como antibiótico. Las flores son usadas como para calmar la tos.

TOXICIDAD

Estudios de toxicidad crónica demuestran en ratas a concentración de 2.5% peso corporal durante 13 semanas, al cabo de este periodo no se observaron cambios físicos y no hubo muerte del roedor.

FLOR AZUL. (42, 48, 55)

NOMBRE CIENTIFICO

Ageratum conyzoides L.

NOMBRE COMUN

Flor azul,

Santa Lucia

FAMILIA

Asteraceae



Figura N° 20. Flor azul

HABITAT

Está distribuida en todas las regiones tropicales y subtropicales entre los 30° de latitud norte, se encuentra frecuentemente entre 50-2700 metros sobre el nivel del mar.

DESCRIPCION BOTANICA

Planta herbácea anual mide de 0.25-1.20 metros de altura, de hojas simples, opuestas, largamente peciolada y un margen dentado. La inflorescencia es terminal y compacta, formada por el reagrupamiento de pequeños capítulos de flores tubuladas, azules. Las hojas son opuestas y simples con tres nervaduras principales son ovaladas delgadas y membranosas con peciolo largo de 1-3 cm de largo, con pelos largos los márgenes son dentados y el ápice es obtuso.

El fruto es fusiforme, cuadrangular que mide 2-2.5 mm de largo de color negro, posee una corona compuesta de 5 escamas de color blanco, su base es lanceolada con margen dentado mientras que el ápice es afilado en una larga punta provista de pequeños dientes.

Las flores están agrupadas en capítulos. Estos capítulos están ensamblados en inflorescencia terminal compacta, los capítulos son levemente pedunculados, miden 4.0 mm de alto y 5.0 mm de diámetro, tienen en la base un involucro de brácteas oblongadas, dispuestas en 3 filas. Las 50-70 flores que componen el capítulo son todas bisexuales y de forma tubulada. Las flores no rebasan por muy poco el ápice del involucro. Los colores varían de blanco a violeta.

COMPOSICION QUIMICA

Ageratum conyzoides contiene flavonoides, alcaloides, cumarinas, aceites esenciales y taninos, cumarinas, aceites esenciales, β -sitosterol, estigmasterol, dihidropinasterol, 6-acetil-2,2-dimetil-3, 4-dihidro-cromano, las hojas son ricas en el aceite llamado precoceno I (7-metoxi-2,2-dimetil-cromano), precoceno (6,7-

dimetoxi-derivado de agretocromano), se han aislado monoterpenos como: Sabineno, β -pineno, β -felandreno, 1,8-cineol, limoneno, linalol, terpineol. Sesquiterpenos como: β -cariofileno, expósido de cariofileno, β -sesquifelandreno, cadieno. Además de óxido de β -cariofileno, β -sinensal. Flavonoides como: 5, 6, 7, 8,-3',4',5'-hexanometoxi-flavona.

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se ha comprobado la acción inhibitoria en un extracto de éter y cloroformo frente a contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. La acción analgésica ha sido efectiva en ratas en extracto acuoso de las hojas en dosis de 100-400 mg/kg. En pacientes con artrosis han tenido un 66% de efecto analgésico ya que presentó disminución en el dolor e inflamación después de una semana en tratamiento.

USOS ETNOBOTANICOS

Se emplea como tónico, analgésico, antirreumático, la infusión de la planta completa en emplea en flatulencias, cólicos, diarreas, infecciones uterinas, amenorreas, cistitis, gonorrea, retención urinaria, hemorragias, cefaleas, artrosis, antiespasmódico y carminativo, catarro, fiebre, amigdalitis, la infusión de las flores se usa como tratamiento de inflamaciones.

La decocción de la raíz alivia los dolores reumáticos. Los lienzos se colocan sobre quemaduras, heridas, abscesos, golpes, y enfermedades de la piel. Como colirio se usa en los ojos, exantema.

TOXICIDAD

Se ha reportado una LC50 de 1.32 μ g/mL, en extracto metanólico de las hojas y del tallo de la planta.

GUAYABA. (19, 30, 34)**NOMBRE CIENTIFICO**

Psidium guajava L.

NOMBRE COMUN

Guayaba

FAMILIA

Myrtaceae



Figura N° 21. Guayaba

HABITAT

Habita en ambientes cálidos, semicálidos, semiseco, seco y templado las plantaciones comerciales se encuentran en climas, la temperatura promedio para el desarrollo son los 15 °C a 30 °C.

DESCRIPCION BOTANICA.

Árbol de 3-10 metros perennifolio o caducifolio con un diámetro de 60 cm. Las hojas del guayabo son de color verde claro a oscuro, ovales, oblongos-elípticos entrecruzados, miden de 3-6 cm de ancho y de 3-16 cm de largo. Las ramas son muy ramificadas ascendentes y retorcidas. Las flores son solitarias o en cimas hasta 8 cm, axilares flores perfumadas actinomorfas, sépalos 4-5 verdes en el exterior y blancos en el interior, pétalos de 4-5 blancos El fruto es una baya esférica, globulosa, elipsoidal o piriforme es liso, densamente punteado, brillante con 4-12 cm de largo y de 4-7 cm de ancho. El epicarpio presenta color amarillo verdoso y amarillo en su plena madurez en el mesocarpio se hallan células duras esclerósicas, solas o en grupos que le dan consistencia arenosa característica

en el endocarpio se encuentra una masa de material pulposo donde se encuentran depositadas las semillas.

COMPOSICION QUIMICA

Componentes aislados de la hoja del guayabo están los triterpenos, flavonoides, β -cariofileno, carotenoides, ácido ascórbico, α -humulenoácido guavanoico y el ácido guavacoumarico, morina, morina-3-o-lixosido aislado en Japón; quercetina quercetina-'-o-arabinosido, luteolina, kaempferol, apigenina, miricetina, aceites esenciales como cineol, D-limoneno, cariofileno, eugenol, alfa pineno, ácidos volátiles como ácido 3-hexenoico, ácido cinámico. Las semillas contienen 7.8% ácido oleico, 79.1% ácido linoleico, 3.4% ácido estérico, 9.4% lípidos neutros.

USOS ETNOBOTANICOS

Se utiliza para las hojas infecciones de la piel, úlceras de piel, irritación vaginal, contrala la diarrea, e indigestión, el fruto es usado para calmar los vómitos, dolor menstrual y hemorragias. Se usa infusiones de las hojas en gárgaras para aliviar el dolor de garganta. La corteza se utiliza para como astringente antidiarreico, hemostático.

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS

Se ha comprobado la actividad antidiarreica del extracto etanólico de las hojas de guayabo. El extracto acuoso de las hojas redujo la defecación e inhibió la actividad secretora de la prostaglandina PGE₂. Estudios preclínicos en ratones a dosis de 430.05 mg/k realizado para reducir el tránsito intestinal además de, las dosis de 3, 6,9 mg/k de peso los cuales disminuyeron el cuadro diarreico. El estudio de actividad hipoglicemiente se realizó utilizando un extracto acuoso de hojas de Psidium guajava L. en una dosis de 250 mg/kg en ratas inducidas con aloxano con una glicemia de 339.60 mg/dl a las 3 horas de haberse administrado

el extracto ocasiono un descenso de glucosa de 239.80 mg/dl, a los diez días de tratamiento alcanzó el valor de 184.60 mg/dl.

TOXICIDAD

Estudios de toxicidad en extracto etanólico de las hojas de guayaba sobre *Asperillus nidulans* UH-2233 no resulto tóxico hasta la concentración de 0.856 mg/ml. En el ensayo de genotoxicidad in vitro con *Asperillus nidulans* in vivo por inducción de micro núcleos en medula ósea de ratón los resultados fueron negativos para el extracto de acuoso en las concentraciones de 0.0012-1.273 mg/mL.

GOLONDRINA. (3,6, 81)

NOMBRE CIENTIFICO

Euphorbia hirta L.

NOMBRE COMUN

Golondrina,

Hierba de sapo

Sabana de la virgen

FAMILIA

Euphorbiaceae



Figura N° 22. Golondrina

HABITAT

Se encuentra en desde los 100 hasta los 2500 msnm, es silvestre común en terrenos de poca elevación se distribuye desde las Antillas hasta América del Sur.

DESCRIPCION

Planta herbácea, anual ascendente de tamaño de 50 de largo, erecta, densamente pilosa, tallo ramificado. Las hojas son opuestas, ovadas, pequeñas,

pilosas en el haz, peciolo de 1-2 mm de largo, asimétricas de 0.4-4.0 cm de largo y 0.3-3.0 cm de ancho oblicuas en la base. La inflorescencia cimosa, axilar, involucros acabezuelados en glomérulos, pedunculados, lóbulos grandes, densa y largamente ciliados. Las flores son numerosas y pequeñas organizadas en inflorescencia densa, los frutos son cápsulas que cuando están secos se abren y tienen semillas de color rosa. Las semillas son diminutas de color rojo.

COMPOSICION QUIMICA

Flavonoides como quercetina, quercitrina, quercitol, derivados que contienen ramnosa, quercetina-ramnosa, ácido cloro-fenólico, rutina, leucocianidina, leucocianidol, 3,5-diglicosido, 3,5-diglicosido-camphol, inositol, tetraxerol, β -sitosterol, ácido elágico, kaempferol. Contiene terpenoides como β -amirina, triterpenoides, 12 α -oxidoteraxerol, cycloartenol, 2,4-metileno-cicloartenol. Ester diterpeno del tipo forbol, 12-deoxi-forbol-13- pentil acetato. Aceite esencial el mayor constituyente es 3, 7,11 ,15-tetra-metil-2-hexadecon-1-ol

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se ha estudiado la actividad antiinflamatoria en el extracto etanólico frente al lipopolisacarido LPS y el complejo de células RAW 264.7, el extracto disminuyo la producción de óxido nitroso, además, se ha estudiado la actividad antiinflamatoria de *Euphorbia hirta* con el componente β - amirina del cual se obtuvo un buen resultado en el tratamiento de artritis. La actividad antioxidante se ha estudiado mediante un extracto etanólico de las flores y en éter de petróleo

USOS ETNOMEDICOS

Tradicionalmente las hojas se utilizan para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales, diarrea, disentería, parásitos intestinales, afecciones de la piel, jotes, verrugas, llagas, mezquinos, heridas infectadas, raspaduras. Problemas respiratorios como tos, asma y bronquitis. Además, se utiliza como diurético. La

infusión de la raíz se utiliza como calmante del dolor de muelas. La planta completa se usa como antiasmática, se usa como astringente; es sedante en los espasmos del aparato respiratorio, asma y disnea.

TOXICIDAD

Se administró dosis de 400 mg/kg, por vía oral en ratas machos causaron degeneración testicular y reducción en el diámetro tubular de los conductos seminíferos de los testículos. La LD₅₀ se estimó en una dosis de 50 mg/kg, 250 mg/kg, 1000 mg/kg, en estudios de toxicidad de dosis repetidas en un período de 90 días no se mostraron cambios significativos. La LC₅₀ fue de 1.589 µg/mL en una concentración de 100 µg/mL.

HOJA DE AIRE. (43, 45, 83)

NOMBRE CIENTIFICO.

Kalanchoe pinnata (Lam.) Pers.

NOMBRE COMUN:

Hoja de norte,
Hoja de aire,
Hoja santa
Hoja de la fortuna
Hoja de la vida

FAMILIA

Crassulaceae.



Figura N° 23. Hoja del aire

HABITAT

EL Género *Kalanchoe pinnata* cuenta con más de 20 especies en diversas zonas tropicales del mundo, se encuentra naturalizada desde México a América Central, se desarrolla desde los 500 msnm.

DESCRIPCION BOTANICA.

Es un arbusto perenne de 1.2 metros con tallos erectos, carnosos, glabros poco ramificados, raíces difusas. Las sus hojas gruesas de 10-30 cm son opuestas, pecioladas, y simples; folíolos terminales, oblongos, carnosas, Flores en grandes conspicuas con pedicelos alrededor de 1.0 cm cáliz ampliamente tubular inflado usualmente de 3.0 cm de longitud y 1.0 cm de ancho, corola tubular de 4.5 cm encerrada por el cáliz.

Las hojas de la inflorescencia son particuladas y los pedicelos son delgados, las flores son colgantes, la especie habita en climas cálidos, semicálidos y templados.

COMPOSICION QUIMICA.

Contiene alcaloides, saponinas, flavonoides (5-metil-4^l, 5,7 trihidroxil- Flavona) además de (4^l,3,5,7-tetrahidroxy-5-metil-5-propenammina antocianidina), dichos flavonoides fueron elucidados utilizando resonancia magnética nuclear en combinación de espectroscopia UV e IR. Además, los activos estudiados por NMR y HPLC son los glicósidos cardíacos como *Bryophyllum-A*

USOS ETNOMEDICOS

Se puede preparar de forma externa o interna para uso interna, la infusión de sus hojas se utiliza para combatir la flatulencia, disentería, esta planta se usa en

aficiones como cálculos renales, hipertensión, asma, resfriado, abscesos, úlceras.

Se fabrican emplastos para tratar dolores de cabeza o en dolores de espalda o nuca, y en dolores abdominales. Machacar las hojas y usar en forma de cataplasma, el zumo de las hojas mezclada con un poco de aceite es aplicado como ungüento dermatológico, también se usa el jugo de esta planta como colirio. actúa como cicatrizante, antiinflamatoria y analgésica.

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS

Se ha demostrado actividad antidiabética, hepatoprotectora, en caso de la actividad antiinflamatoria, se han realizados estudios que demuestran dicha en extractos de cloroformo, acetona, metanol, en dosis de 500 mg/kg.

La actividad antimicrobiana se ha demostrado en extractos de metanol de las hojas a una concentración de 4.0 mg/mL, el cual posee efecto inhibitorio de contra las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*. Para la actividad anticancerígena se realizó extractos crudos de las hojas mediante la técnica de cromatografía revelaron la presencia de actividad inhibitoria del crecimiento en células cancerosas del cuello uterino.

Con éter de petróleo: acetato de etilo 50:50, evidenció actividad citotóxica inhibiendo la transcripción del HPV18 en células. Actividad antihipertensiva se ha estudiado en extractos acuoso de hojas y extracto metanólico a dosis de 50-800mg/kg por vía intravenosa y vía parenteral en ratas normotensivas.

TOXICIDAD

No es recomendable el uso para mujeres se ha registrado actividad citotóxica en ratones a una dosis de 1.0 mg/kg de peso, no se ha observado efectos tóxicos

del extracto de hojas administrado en ratas por vía intragástrica en una dosis de 790 µg/mL. Se ha reportado la muerte del ganado vacuno al consumir flores frescas de la especie en una dosis de 20 gramos/kg.

HIERBA DE CANCER. (31, 75, 84, 99)

NOMBRE CIENTÍFICO

Acalypha arvensis Poepp.

NOMBRE COMÚN

Hierba de cáncer

Cancerina

Gusanillo

FAMILIA

Euphorbiaceae



Figura N° 24. Hierba de cáncer

HABITAT

Nativa de Centroamérica es una maleza común en suelo irregular seco o húmedo en campos y matorrales entre los 750-2500 msnm se extiende en América en zonas templadas de Norteamérica en Canadá no se ha observado.

DESCRIPCIÓN BOTANICA

Hierba anual de hasta 50.0 cm de altura, se encuentra en campos cultivados y lugares húmedos. Tallo erecto o ascendente, con pelillos. Hojas alternas, ovadas

de 7.0 cm de largo y 4.0 cm de ancho con el ápice variable, los márgenes aserrados, la base redondeada, cubriéndose de pelillos.

Los peciolos de 3.0 cm de largo, con pelillos, sin glándulas en el ápice. En el tallo, junto a la base del pecíolo se presentan un par de hojitas llamadas estípulas muy angostas de 5.0 mm de largo.

La inflorescencia: espigas en las axilas de las hojas. Las espigas masculinas están ubicadas en la parte media de la planta, de 3.0 cm de largo y 1.5 mm de ancho sobre pedúnculos de 2.5 cm, estas espigas están compuestas de flores masculinas dispuestas en grupitos en las axilas de brácteas diminutas. Las espigas de la parte superior de la planta son femeninas.

COMPOSICIÓN QUIMICA

El estudio fitoquímico de las hojas de *Acalypha arvensis* ha demostrado que la especie vegetal contiene alcaloides no cuaternarios, taninos, antraquinonas, taninos, glicósidos, cianogénicos, ácidos diterpénicos, azúcares desoxigenados y polifenoles.

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS

La tintura de las hojas inhibe *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella fleneri*, *Epidermophyton floccosum*

USOS ETNOMEDICOS

Es utilizado como diurético, tónico, afecciones gastrointestinales, amebiasis, cólico, diarrea, disentería, estreñimiento, gastritis inflamación, alergias, cáncer, dolor de cabeza, dolores menstruales, enfermedades venéreas, reumatismo, pielonefritis, resfríos, dolores del cáncer.

Se utiliza la decocción para vía topia realizando un emplasto para tratamiento de cáncer de piel granos, llagas, pie de atleta, lesiones en la piel, en lavados para vaginitis, picaduras de serpientes, heridas y llagas. Se puede usar en cataplasma, se pone a cocimiento un manojo de hojas en un litro de agua para lavar las heridas o hacer lienzos.

TOXICIDAD

No reporto toxicidad en dosis de 10.0 g/kg de peso.

HIERBA DE VIBORA. (14,85)

NOMBRE CIENTIFICO

Cissampelos pareira Linn

NOMBRE COMUN

Hierba de la víbora

Tortilla de los sapos

FAMILIA

Menispermaceae



Figura N° 25. Hierba de víbora

HABITAT

Perteneiente a la familia Menispermaceae, el género *Cissampelos* L. está compuesta por más de 40 especies, *Cissampelos pareira* se encuentra distribuido en bosques húmedos y secos de América, además se puede encontrar en las orillas de los caminos, desde México a Sudamérica y partes de Estados Unidos generalmente es de crecimiento secundario.

DESCRIPCION BOTANICA

Es un bejuco herbáceo, ligeramente leñoso con hojas simples, alternas de forma circular. Contiene flores amarillas, verdosas pequeñas, pedicelo de 2 mm de largo las flores masculinas poseen 4 sépalos, ovadas de 1.5 mm, estambres completamente fundidos las flores femeninas poseen 1 sépalo de 1.5 mm de largo, pétalos de 2.0 mm, el fruto es una drupa con vellos de 5.0 mm de color rojo o naranja.

COMPOSICION QUIMICA

Las hojas contienen alcaloides isoquinolínicos, y del tipo bisbenzylisoquinolina el rizoma contiene hayatina, hayatidina, hayatinina, orto-metil-beberina. Las hojas contienen ciclonina berberina, iso-condodendrina, cissampareína, curarina, cycleanine, dicentrina, insularina, tetrandrina, ácidos araquídico y linoleico.

ACTIVIDAD FARMACOLOGIA

Se ha demostrado la actividad inmunomoduladora mediante el extracto de metanol con raíces de *C. pareira*, en ratones, se observó actividad estimuladora en la dosis de 200-800 mg/kg mostró un efecto estimulador sobre la inmunidad celular, favorece la fagocitosis y protección frente a la mielosupresion inducida por ciclofosfamida.

Se ha demostrado actividad anti-leucémica y un novedoso alcaloide llamado Paribrina A, del cual se realizaron estudios clínicos y farmacológicos acerca de las propiedades terapéuticas como relajante muscular. La molécula cisamperina aislada de *C. Pareira* demostró actividad inhibitoria reproducible frente al carcinoma humano nasofaríngeo obtenido mediante cultivo celular KB. La actividad antihemorrágica se ha estudiado en extracto acuoso de las hojas en ratones, los resultados mostraron una inhibición de la hemorragia.

USOS ETNOBOTANICOS

Las hojas y tallos se usan en extracto etanólico para tratar la diarrea, diurético, expectorante, analgésico El extracto de la raíz se emplea para tratar la fiebre, epilepsia, hemorragias uterinas, acné, desequilibrio hormonal, síndrome premenstrual, calambres musculares, fiebre, trastornos cardiacos, heridas, afecciones de la piel.

Las raíces se utilizan para evitar amenazas de aborto y detener hemorragias uterinas, contra hemorragias, calambres, dolores menstruales, alivia dolores de parto y posparto, además se usa en mordedoras de víboras.

TOXICIDAD

El extracto de la hoja se administró por vía oral en ratones hembra para evaluarla alteración del ciclo fertilidad, el resultado del estudio fue DL₅₀ 7.3 g/kg. El estudio de toxicidad subaguda a dosis oral de 2.0 g/kg por 28 días en ratones de ambos sexos. Al culminar el periodo de tiempo no se evidencio cambios significativos en los análisis de sangre glucosa, tiempo de protrombina, hubo cambios físicos en los ratones.

MARACUYA. (1, 64, 86)

NOMBRE CIENTIFICO

Passiflora edulis

NOMBRE COMUN

Maracuyá

FAMILIA

Dicotiledónea



Figura N° 26. Maracuyá

HABITAT

Se encuentra distribuida en zonas tropicales desde el nivel del mar hasta desde 5 metros hasta 1350 msnm, es una especie originaria de la región amazónica.

DESCRIPCION BOTANICA

Planta herbácea, trepadora, leñosa, perenne con ramas de 20.0 cm de largo, presenta tallos verdes, acanalados, presentan zarcillos axilares que se enrollan en forma de espiral y son más largos que las hojas. Las hojas son de color verde lustroso con peciolo de 4.0 cm de largo con dos glándulas en el ápice.

Las flores solitarias, axilares, fragantes y vistosas. Están provistas de 5 pétalos y una corona de filamentos radiante de color púrpura hermafroditas de 6.0 cm de diámetro es de color blanca en el ápice posee 5 estambres y 3 estigmas.

COMPOSICION QUIMICA

Posee un alto contenido de carotenoides, necesarios para el metabolismo. El análisis fitoquímico reportó presencia de carbohidratos, glucósidos de apigenina y luteolina (0.8-2.5%), quecetol, C-heterósidos orientina, iso-orientina, iso-vitexina, flavonoides (2.5%), resinas, alcaloides indólicos (0.01-0.09%); harmalol, harmalina, harmina, aminoácidos, C-glucosil-flavonas, glucósidos de vitexina, isovetexina, orientina, isoorientina cumarinas, derivados piránicos como maltol, etilmaltol, esteroides beta-sitosterol, estigmasterol y compuestos fenólicos. Los taninos estuvieron presentes en las hojas y fruto, saponinas estuvieron presentes en la hoja y pedúnculo. En el fruto contiene flavonoides como vitexina,

USOS ETNOBOTANICOS.

Aumenta el vaciado gástrico, facilita el movimiento intestinal saldable y regular, aumenta la saciedad y retrasa la absorción de hidratos de carbono simples, aumenta la saciedad. El jugo de maracuyá ayuda a la reducción del colesterol total y triglicéridos LDL-C y el aumento de HDL que pueden tener un efecto beneficioso en la prevención y el tratamiento de las dislipidemias e

hiperglicemias. Posee propiedades calmantes depresoras del sistema nervioso, posee efecto sedativo las hojas y el fruto.

Las hojas son utilizadas para combatir inflamaciones y fiebres. La cáscara del maracuyá es rica en fibra ayuda a combatir los niveles altos de azúcar.

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS.

Las semillas poseen acción antifungicas, impide el crecimiento de hongos filamentosos y no bacterias esto se debe a la sustancia péptido 2S. Además, la proteína Passiflin impide el crecimiento de *Rhizoctonia solani*, la proliferación de las células de cáncer de mama.

La cáscara debido a los carotenoides previene el estrés oxidativo celular, la pulpa por los flavonoides posee efectos antioxidantes y altos efectos sobre la enzima mieloperoxidasa MPO.

En 2003, Kamaldeep Dhawan concluía que el extracto metanólico de hojas de Passiflora en una dosis de 200 mg/kg, tenía una actividad sedante significativa, además de anticonvulsivante, de depresión del SNC y, a la mitad de esa dosis, producía una acción ansiolítica

TOXICIDAD

Se ha realizado estudios sobre el efecto para disminuir la sensación de ansiedad y estrés. Sin embargo se ha observado un efecto ansiogénico en el ratón en extracto de hojas por lo cual se sugiere realizar ensayos de toxicidad para la planta y los preparados de las misma.

Con respecto a la seguridad del uso de la pasiflora, según la FDA ésta se encuentra clasificada como GRAS (“generally regarded as safe”). Solo se ha visto

relacionada la misma con rinitis y asma alérgica, habiéndose detectado un caso de hipersensibilidad en un técnico de farmacia que preparaba extractos de *Passiflora* y con contracciones uterinas, desaconsejándose su uso en embarazadas.

El único caso de toxicidad con una serie de efectos adversos (náuseas, vómitos, sedación y, ocasionalmente, taquicardia y prolongación del intervalo QT, sin relación causa-efecto probada en la última) detectados como consecuencia de automedicación de pasiflora en una mujer de 34 años

MELON AMARGO. (33,87,98)

NOMBRE CIENTIFICO

Momordica charantia L.

FAMILIA

Cucurbitaceae

NOMBRE COMUNES

Cundeamor,

melón agrio,

Melón de ratón

Pepinillo

Jaibita

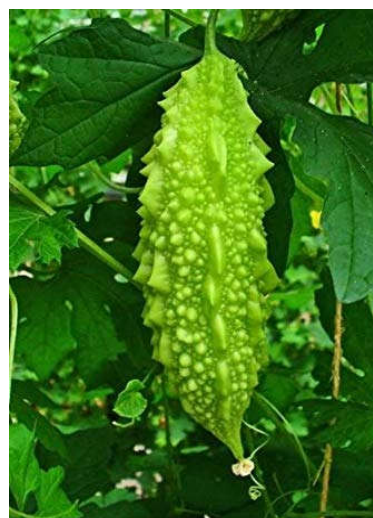


Figura N° 27. Melón amargo

HABITAT

Habita en climas cálidos desde el nivel del mar hasta 350.0 m. Crece a la orilla de caminos, sobre todo en huertos asociada a la vegetación de bosque tropicales caducifolio, subcaducifolio. En América central crece en áreas rurales cerca de potreros, y granjas.

DESCRIPCION BOTANICA

Enredadera herbácea, silvestre, trepadora. Hojas membranosas, con 5-7 lóbulos profundos ovales oblongos dentados. El tallo se encuentra cubierto de pelillos. Flores contienen 5 sépalos, a corola partida en 5 segmentos de color amarillo, las flores masculinas contienen 3 estambres, las flores femeninas contienen ovario ínfero con 3 estigmas.

El futo es de color amarillo anaranjado con forma ovoide, superficie cubierta por verrugas o tubérculos, las semillas son elípticas, planas y recubiertas con pulpa de color roja.

COMPOSICION QUIMICA

En la fruta se han aislado derivados deshidrogenados del estigmasterol esterificados charantín, estigmasta-5-ene-beta-25-diol, sapogenina diosgenina, alcaloide indol-5-hidroxitriptamina además, presentan mayor contenido de humedad y de carbohidratos (48.14 ± 0.94), proteínas (15.15 ± 0.27), lípidos (1.84 ± 0.01), en el fruto hay presencia de antraquinonas, saponinas y triterpenos. Las semillas presentaron el mayor contenido de lípidos y de proteínas, así como el mayor valor energético.

Los frutos presentaron valores similares en cuanto a lípidos y proteínas. En el pericarpio del fruto contiene carotenoides, epóxidos alfa, beta, (carotenos), criptoxantina, luteína, rubixantina.

Las hojas contienen saponinas, proteínas, antraquinonas, hidratos de carbono, fenoles totales. El aceite de la semilla contiene triterpenos, beta-amirina, taraxerol, para-cimeno, mentol, etilen-cicloartenol, monoterpenos, triterpenos escaleno, lecitina, polipéptidos inhibidores de elastasa, tripsina, proteínas inactivadoras de ribosomas., ácido-alfa-amino-butírico.

Además, contiene glucoproteínas (alfamomorcharina, beta-momorcharina, lectinas), polipéptido-P, un nucleósido pirimidínico (vicina), la proteína MAP 30 y varios ácidos grasos, en general se ha determinado que contiene moléculas que presentan un comportamiento semejante al de la Insulina.

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se evaluó el efecto antibacteriano de *Momordica charantia* frente *P. aeruginosa*, *Echerichia coli* y *S. aureus*. Además, esta especie presenta actividad antitumoral, antiinflamatoria, antihelmíntica efecto antimicótico e inhibición de radicales libre. Se ha evaluado la actividad antiinflamatoria y anticancerosa en extractos de hojas secas. La actividad antibacteriana se investigó empleando un método de micro dilución durante 24 horas a 35 ± 2 °C utilizando cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 12692 y *Bacillus cereus* ATCC33018 como resultado la concentración mínima inhibitoria fue menor para *Bacillus cereus*.

Los extractos de hojas frescas y secas, presentaron actividad antibacteriana significativa contra *E. coli* Con respecto a fracciones MIC, la fracción de acetato de etilo fue la más eficaz contra cepas gramnegativas.

USOS ETNOMEDICOS

Las hojas se aplican sobre quemaduras, lavar heridas, también se emplean en granos, salpullido, sarna y heridas, además combate la fiebre amarilla, ictericia, en afecciones bucales, afrodisíaco, el preparado de hojas y raíces se usa en partos difíciles y abortivos. El tallo se usa como antihelmíntico y vermífugo.

El fruto seco tiene propiedades hipoglucemiantes por lo que se emplea en el tratamiento de la diabetes. Las flores se usan para contrarrestar la fiebre y dolor de cabeza. La raíz sirve como afrodisiaco. Se realizan emplastos de las hojas en casos de torceduras, afecciones de la piel.

TOXICIDAD

La administración de extractos en hojas y semillas estado de embarazo puede producir abortos. El extracto etanólico y acuoso de las hojas administrado en ratón por vía subcutánea en una dosis de 10 g/kg no produjo muerte en los ratones.

En el extracto acuoso de la fruta en una dosis de 20 mg/kg de peso corporal administrada en ratones redujo la glucosa en un 48% un efecto comparable con la glibenclamida el cual no mostró signos de neurotoxicidad y hepatotoxicidad

PIE DE VENADO. (46, 65, 88)

NOMBRE CIENTIFICO

Bauhinia variegata L.

FAMILIA

Caesalpinaceae

NOMBRE COMUN

Pie de vaca

Pie de venado

Casco de vaca

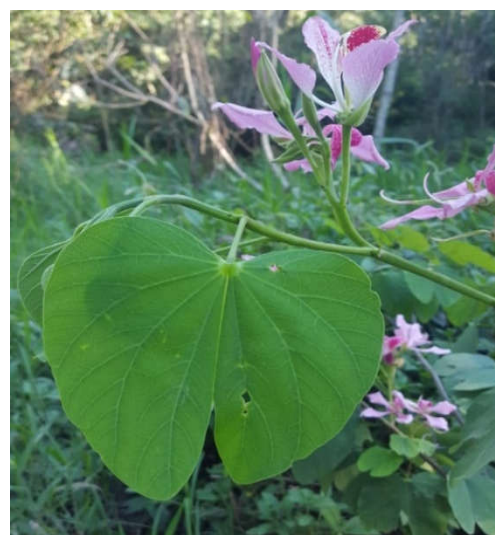


Figura N° 28 Pie de venado

HABITAT

El género Bauhinia comprende más de 200 especies de plantas diferentes, se encuentra distribuido en la mayoría de países tropicales desde México hasta Sudamérica y además, se encuentra en las Antillas. En El Salvador se encuentra en zonas silvestres desde los 388 msnm, zonas húmedas generalmente zonas de climas húmedos.

DESCRIPCION BOTANICA

Arbusto de 2-2.5 m de alto, de tronco de 45 cm de diámetro corteza pardo grisácea fisurada, la copa del árbol es globosa e irregular con ramas arqueadas hacia abajo, pilosas (con vello). Hojas anuales simples, alternas de consistencia firme de color verde claras con un tamaño de 5-6 cm de largo por 3-10 cm de ancho, divididas en 1/3 del largo de la hoja en dos lóbulos semejando la pezuña de venado o de vaca.

Las flores son hermafroditas, blancas, de 8-13 cm de diámetro solitarias o dispuestas en racimos axilares; florecen casi todo el verano. Fruto es una legumbre o vaina aplanada que contiene varias semillas ovales brillantes y negruzcas.

COMPOSICION QUIMICA

Se han aislado flavonoides 3,7-di-orto- α -ramnopiranosilquercetin y 3,7-di-orto- α -ramnopiranosil-kaempferol, se ha identificado metabolitos saponinas, taninos, trigonelina, terpenoides, fenoles, antocianidinas, esteroides, glucósidos esteroidales (xilopiranosido, ribofuranósido del clionasterol), proteínas, minerales como potasio hierro magnesio, zinc, y cobre. Además, se ha elucidado fenantraquinona 2,7-dimetoxi-3-dimetoxi-9,10-dihidrofenantreno-1,4diona

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se comprobó el efecto hipoglucemiante para lo cual se realizó un estudio experimental y descriptivo en 12 ratones machos euglicémicos divididos en dos grupos uno experimental y otro control, se administró una dosis de 7 mg/kg/dosis, se encontró una disminución significativa después de la administración. Esto demostró la actividad hipoglucemiante de la planta.

Los terpenoides han demostrado poseer actividad antibacteriana y fungicida. Las hojas contienen astragalina que es un conocido antibacterial.

Los extractos de *Bauhinia variegata* también se han evaluaron para determinar la actividad anti-hiperlipidémica en ratas albinas hiper-lipidémicas inducidas por Triton WR-1339 (iso-octil-polioxietilen-fenol) mediante la estimación de triglicéridos en suero, lípidos de muy baja densidad (VLDL), colesterol, lípidos de baja densidad (LDL) y alta de lípidos de alta densidad (HDL), como resultados de obtuvo que hubo una reducción significativa ($P < 0.01$), en el nivel de triglicéridos a las 6, 24 y 48 horas. El nivel de VLDL también se redujo significativamente ($P < 0.05$), a partir de las 24 horas y la reducción máxima ($P < 0.01$), se observó a las 48 horas. Además, hubo un aumento significativo ($P < 0.01$), en HDL a las 6, 24 y 48 horas.

USOS ETNOBOTANICOS

La corteza es empleada como astringente, tónico, afecciones de la piel. La infusión de las hojas se usa para tratar la tos ferina además se usa para el tratamiento de diabetes mellitus e hipertensión y antihelmíntico.

La planta tiene propiedades diuréticas el consumo genera un aumento en la eliminación de líquidos del organismo, es útil para el tratamiento de cálculos renales, así como en casos de cistitis, infecciones urinarias y retención de líquidos.

TOXICIDAD

Se ha realizado estudios de toxicidad aguda en ratones con dosis de 0.87 g/kg de un extracto acuoso liofilizado el cual no presentó muertes. Estudios de toxicidad aguda del extracto etanólico en la Universidad Nacional de Colombia determinó que la DL₅₀ es superior a 2000 mg/kg, el estudio de toxicidad sub aguda en extracto etanólico durante 28 días concluyo que a una dosis de 1000 mg/kg no se presenta mortalidad.

QUIEBRA PIEDRA. (7,31, 53, 89)

NOMBRE CIENTÍFICO

Phyllanthus amarus Schumach. & Thonn.

NOMBRE COMÚN

Chanca, piedra con piedra

Quiebra piedra

Quinina, criolla

Hierba de San Pablo.

Mimosa.

FAMILIA

Euforbiaceae



Figura N° 29. Quiebra piedra

HABITAT

Es nativa de América, su distribución es amplia en el mundo, es especial en países de climas templados o tropicales, crece en los matorrales, en El Salvador se encuentra en la zona Oriental del país.

DESCRIPCION BOTANICA

Es originaria de América principalmente en países tropicales es una planta herbácea vivaz, semi-perenne de altura de 20-60 cm, tallos delgados ramificados en la parte superior, hojas pequeñas, elípticas y alternas flores pequeñas verde amarillentas dispuestas en panículas de 5-10 cm de largo. Su fruto es una drupa globosa redondeada, encarnada rojo-pálido. Exhala un olor que es semejante a la pimienta, los frutos de forma globulosa con seis semillas retorcidas longitudinalmente

COMPOSICION QUIMICA

La planta produce una resina impregnada con trementina, blancuzca y aromática que se endurece en contacto con el aire. Como constituyentes químicos, la planta posee un aceite esencial, como el cis- sabinol, p-cimeno, limoneno, simiarenol, α - β -pineno, careno, α - β -felandreno, triterpenos, ácido 3-hidroximasticadienónico, shimol, ácido terebentifólico, fenilalanina.

se han aislado ácido gálico, 0.0007%, ácido elágico 0.01081%, estradiol 0.0003%, galocatequina en la raíz, kaempferol, en las hojas lintetralina 0.0015%, sec-4hidroxi-linteralina 0.02% en hojas, isolintretalina-2,3-dimetoxi-lintetralina 0.00002%, hidroxinirantina, nirfilina, nirtetralina, nirantina 0.0009% nirantina ésta se destaca por su efecto anticancerígeno además de hipofilantina y filantina, entre otras estructuras se encuentran: phyllantina, Hypophyllanthin, Lintetralin, 5-dimetoxi-nirantina, isolintetralin.

En la raíz se han encontrado acetato de lupeol, filanteol, filantenona, filantenol

ETNOMEDICOS

Se emplea como eliminadora de pequeños cálculos renales y vesiculares, es diurético, antidiabética, eupéptica, protectora hepática y sudorífico. Las hojas y

semillas se usan para tratar la diabetes, ictericia, fiebres palúdicas. Además, se utiliza para la menorragia, en compresas o lavados para inflamación del útero, se usa en hepatitis B.

La decocción de la planta entera se emplea como analgésico, desinflamatorio, digestivo, diurético, tónico y se ha usado como remedio en casos de diabetes prurito, gonorrea, ictericia, malaria, menorragia. combinado con aceite de ricino se usan tópicamente en los ojos. La raíz de la planta se emplea en problemas cuando se presenta flujo intenso en la menstruación

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS

Los diferentes estudios preclínicos han demostrado que *Phyllanthus amarus* pose actividad hematoprotectora, hiperlipidemia; diurética, antiespasmódica, antibacteriana, y antiinflamatoria, según estudios ha tenido actividad contra la malaria en extracto alcohólico presentó inhibición del 60% de *Plasmodium falciparum growth* in vitro, a concentración de 6.0 µg/mL.

El extracto etanólico, diclorometano, liofilizado en agua generó los resultados de actividad anti-malarica in vitro en 4 días contra *Plasmodium berghei*, no se observaron efectos tóxicos en dosis de 500 mg/kg alrededor de cuatro semanas, en los cuerpos de ratones se realizó un estudio histopatológico en corazón.

Los extractos de *Phyllanthus amarus* se inocularon en ratones albinos suizos en dosis de 200 mg/día, 400 mg/día, y 800 mg/día, mostraron un efecto profiláctico al retrasar significativamente el inicio de la infección contra *Plasmodium yoelli* con la supresión del 79% a una dosis de 1600 mg/kg/día.

TOXICIDAD.

El extracto acuoso administrado por vía subcutánea no mostro actividad abortiva en ratones hembra a una dosis de 0.2 mL por animal. En el extracto

hidroalcohólico 1:1 no hubo efectos tóxicos en ratones de 10 g/kg por vía intragástrica y subcutánea.

El extracto acuoso de *Phyllanthus amarus* no presentó efectos tóxicos en cultivos de células Ca-9kb con tratamiento a dosis de 50>20 µg/mL. Debido a que algunos principios activos de *Phyllanthus amarus* demostraron atravesar la barrera hemato-encefálica y pasar a la leche materna no se aconseja su empleo durante el embarazo y lactancia.

NIM. (2, 90, 97)

NOMBRE CIENTIFICO

Azadirachta indica A. Juss.

NOMBRE COMUN

Nim

FAMILIA

Meliaceae



Figura N° 30. Nim

HABITAT

Se encuentra ampliamente distribuido en el Sur y sureste de Asia y en las regiones tropicales y subtropicales del mundo.

DESCRIPCION BOTANICA

Árbol de tamaño mediano caracterizado por su tronco recto de hojas alargadas y pinnadas, las flores aparecen estrechas y ramificadas de 5-15 cm de largo, las

flores individuales están compuestas de 5 lóbulos de cáliz redondeados y de un color pálido florece en los meses en marzo a mayo.

El fruto tiene forma de aceituna o drupas de 1-2 cm de largo son lisis y de un color amarillo verdoso a amarillo cuando maduran.

COMPOSICION QUIMICA

Se ha encontrado el nor-triterpenoide conocido como azadiractina, se ha demostrado la presencia de isómeros nuevos de azadiractina ellos son azadiractina A que es el metabolito más importante por su actividad insecticida que se encuentra en las se semillas.

El contenido de fenoles totales se expresa como mg de ácido tánico por gramos de sólidos totales del extracto acuoso, el contenido de flavonoides se expresa como mg de quercetina por gramos de sólidos totales del extracto, mientras que la capacidad antioxidante total se expresa en mmol equivalentes de ácido ascórbico por gramos de sólidos totales del extracto.

El análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso de la planta *A. indica* evidenció la presencia de metabolitos secundarios, especialmente aquellos de naturaleza fenólica como polifenoles, flavonoides y taninos. Según la teoría esta apreciación es prueba positiva para sustancias que poseen en su estructura el núcleo de la g-benzopirona (flavonas, flavonoles, flavononas, flavononoles, isoflavonoides y xantonas).

Se ha identificado la presencia de terpenoides en los extractos obtenidos, la *Azadiractina* mediante cromatografía de capa fina ($R_f > 0,2$). Este compuesto fue identificado también por la coincidencia de su tiempo de retención

(20 min) con el del estándar en la cromatografía líquida de alta resolución de la muestra semi-purificada.

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se ha realizado el estudio del extracto de las hojas *Azadirachta indica A. Juss* para evidenciar su actividad para el tratamiento de diabetes mellitus. Se ha evaluado la actividad anticancerígena en las flores, se ha administrado a ratas de hembras de la cepa Sprague Dawley antes y durante y después de ser inducido el cáncer mamario la dieta de flores disminuyó la actividad de algunas monooxigenasas dependientes del P-450 lo que demostró tener efecto de prevenir el cáncer mamario en ratas de igual forma al administrar la dosis con previa inducción de cáncer, los efectos fueron una reducción en la multiplicación y formación de tumores tanto benigno como malignos.

comprobó la actividad biológica del extracto mediante bioensayos. Para su preparación se usaron placas Petri con medio agar PDA (papa dextrosa) el que fue esterilizado, enfriado y mantenido a 12 °C.

Posteriormente, se difundieron en condiciones asépticas cinco ml de suspensión del inóculo obtenido de las cepas de *Fusarium* y se agregaron 5, 10 o 20 µl del extracto metanólico utilizado en el HPLC. El resultado fue que el crecimiento de *Fusarium* fue inhibido por una alícuota del extracto metanólico, se midió el crecimiento de la colonia después de cinco días, y se determinó el 25% como el porcentaje de inhibición al tomar el control negativo como el 100%.

USOS ETNOMEDICOS

Es usado contra la malaria, se usa como analgésico, antihelmíntico, antipirético, astringente, diurético, emoliente, purgante se utiliza debido a su actividad antibacteriana, antiviral antifúngica.

TOXICIDAD

Se ha realizado estudios de toxicidad de *Azadirachta indica* se obtuvo un resultado de DL₅₀ 624 µg/mL. Se evaluó la toxicidad aguda oral por el método de las clases en la decocción de hojas y tallos de la planta *Azadirachta indica*, por vía oral en ratas Sprague Dawley. No se obtuvieron efectos de toxicidad, solamente se ha reportado toxicidad a largo plazo utilizando la planta.

NOPAL. (12, 36, 91)

NOMBRE CIENTÍFICO

Opuntia cf. Cochenillifera (L.)

NOMBRE COMUN

Nopal

FAMILIA

Cactaceae

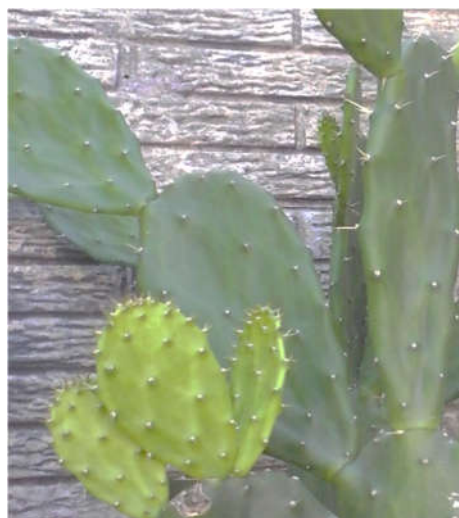


Figura N° 31. Nopal

HABITAT

Habita en zonas áridas, semiáridas, cálidas, se encuentra distribuido desde México hasta América del Sur, en la actualidad en Sudáfrica y en Australia se considera como maleza, y se localiza en terrenos ganaderos.

DESCRIPCION

Los tallos son llamados cladodios y vulgarmente pencas son muy carnosos o leñosos dependiendo de la edad. Se encuentran protegidos por una cutícula gruesa y cerosa que les permite almacenar agua y soportar periodos largos de sequía.

Contienen órganos especializados llamados aréolas de las cuales se producen flores, frutos y espinas, principalmente en las areolas superiores y generalmente mide 5 metros de altura.

Los cladodios miden de 30-60 cm de largo 20-40 cm de ancho, se consideran jóvenes los que tienen de 3-4 semanas de edad.

COMPOSICION QUIMICA

Resultados de tamizaje fitoquímico mostraron alcaloides, taninos, saponinas, polisacáridos y algunos flavonoides principalmente la quercetina, el kaempferol y la isorhamnetina estos compuestos son antioxidantes que ayudan a la prevención de enfermedades, como por ejemplo de inhibición de óxido nítrico durante el proceso de inflamación.

En los frutos se encuentran azúcares, proteínas, lípidos, calcio, potasio, magnesio, además son muy ricos en pectinas, minerales y mucilago poseen alto contenido de ácido málico, son ricos es azúcares, vitamina A, C, pero pobre en nitrógeno y son una importante fuente de fibra dietética.

El contenido en agua es 91.5 g/100 g muestra seca, proteína 1.20 g/100 g muestra seca, lípidos 0.27 g/100 g muestra seca fibra 1.29 g/100 g muestra seca carbohidratos 5.81/100 g muestra seca. El mucílago contiene aproximadamente 30,000 diferentes azúcares en diferentes proporciones.

ACTIVIDAD FARMACOLOGICA

Se ha demostrado que el nopal tiene efectos en el tratamiento de desórdenes gastrointestinales y enfermedades asociadas con baja ingesta de fibra dietética. Se ha demostrado la actividad hipoglicémica en conejo mediante un extracto acuoso del tallo y de las pencas cuando se administró por vía intragástrica.

La actividad antimicrobiana se ha estudiado en un extracto acuoso frente al fago T4 de *Escherichia coli*. La administración del extracto acuoso deshidratado de nopal en animales de experimentación reduce de forma significativa un 22% la concentración de glucosa en sangre y produce una elevación del glucógeno hepático, también se ha registrado la disminución del colesterol total y LDL en ratas hiperlipémicas.

La administración de una alimentación basada en polvo de semillas de *Opuntia* redujo el peso de los animales de laboratorio, probablemente por una disminución de la tiroxina libre.

Con este estudio, la propiedad anti-hiperglucemiante del nopal cochenillifera, los resultados sugieren que una dosis mayor en forma de bebida o en combinación con varias dosis en el día o un tiempo de tratamiento más prolongado los valores de las variables disminuirán significativamente con el tiempo, ya que en el último mes de suplementación se observaron los niveles más bajos de todo el estudio con excepción de la presión diastólica. Por lo anterior el nopal podría ser una alternativa ya que disminuyó los niveles sanguíneos de glucosa. Por lo que futuros estudios tendrán que llevarse a cabo para despejar estas incógnitas, incluyendo dentro del diseño experimental controles positivos conformados por medicamentos antidiabéticos autorizados.

USOS ETNOMEDICOS

Previene y ayuda en el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes, obesidad, cáncer y artritis, así como enfermedades del corazón y condiciones del sistema digestivo como diarreas.

TOXICIDAD

No se ha reportado muertes en los animales de experimentación sin embargo el comportamiento del animal presenta un decaimiento a partir del sexto día de tratamiento.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO

- **Campo**

La recolección de las plantas medicinales se realizó en la Estación experimental y de prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas y Cerro Guazapa. Estas zonas de recolección se establecieron debido al hábitat de las especies vegetales que fueron seleccionadas.

- **Experimental**

El proceso experimental se desarrolló en el Centro de investigaciones en salud CENSALUD Universidad de El Salvador donde se realizó la parte de obtención de extractos secos. El bioensayo *Artemia salina* se culminó en las instalaciones del Laboratorio “Las Animas” playa Zunganera departamento de La Paz.

- **Retrospectivo**

Se tomó como base investigaciones nacionales sobre la determinación de la bioactividad citotóxica in vitro de extractos vegetales mediante el ensayo de *Artemia salina*.

- **Prospectivo**

Esta investigación se utilizará como un antecedente para el desarrollo de futuras de investigaciones relacionadas a determinar preliminarmente la toxicidad de sustancias químicas, así como también en extractos naturales.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

La recopilación bibliográfica en la cuales se sustenta la investigación fue realizada en las siguientes bibliotecas

- “Doctor Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- “Doctor Luis Edmundo Vásquez” Facultad de Medicina Universidad de El Salvador
- “Ingeniero Agrónomo Félix Choussy” Facultad de Ciencias Agronómicas Universidad de El Salvador.
- Internet

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO

4.3.1 Universo y Muestra

Universo: está conformado por las plantas medicinales de El Salvador las cuales son utilizadas para tratamiento de diferentes enfermedades.

Muestra: veinte plantas seleccionadas tomando en cuenta que son plantas medicinales utilizadas por la población salvadoreña por sus efectos terapéuticos

4.4 SELECCIÓN DE LAS PLANTAS MEDICINALES

Para la selección de la muestra se tomó en consideración: las plantas que son empleadas como medicina tradicional por la población salvadoreña, realizando la recopilación científica de los respectivos usos etnobotánicos y actividades biológicas de cada planta, además, se consideró todos los antecedentes nacionales sobre la determinación de actividad citotóxica en plantas medicinales por medio del bioensayo de *Artemia salina*. Dentro de las muestras seleccionada se encuentran plantas provenientes de las familias:

Euphorbiaceae, Costaceae, Acanthaceae, Fabaceae, Balsaminaceae, Myrtaceae, Crassulaceae, Menispermaceae, Cucurbitaceae, Meliaceae, Cactaceae, Asteraceae, Amaranthaceae, Passifloraceae, Cucurbitaceae, Caesalpiniaceae, Meliaceae. (34, 48, 48)

Cuadro N° 4. Selección de plantas medicinales				
N°	Nombre común	Nombre científico	Familia	Parte utilizada
1	Baja leche	<i>Euphorbia lancifolia</i>	Euphorbiaceae	Tallo
2	Caña de cristo	<i>Costus scaber.</i>	Costaceae	Tallo
3	Campanita	<i>Ruellia simplex</i>	Acanthaceae	Hojas
4	Flor barbona	<i>Caesalpina pulcherrima L.</i>	Fabaceae	Hojas
5	Flor de muerto	<i>Tagetes erecta L.</i>	Asteraceae	Planta completa con flor
6	Flor manita	<i>Celosia argentea var. cristata</i>	Amaranthaceae	Hojas
7	Falso riubarbo	<i>Jatropha podagrica Hook</i>	Euphorbiaceae	Hojas
8	Flor azul	<i>Ageratum conyzoides</i>	Asteraceae	Planta completa con flor
9	Flor de china	<i>Impatiens balsamina L.</i>	Balsaminaceae	Hojas
10	Golondrina	<i>Euphorbia hirta L.</i>	Euphorbiaceae	Planta completa con flor
11	Guayaba	<i>Psidium guajava L</i>	Myrtaceae	Hojas
12	Hoja de aire	<i>Kalanchoe pinnata (Lam.)</i>	Crassulaceae	Hoja
13	Hierba de cáncer	<i>Acalypha arvensis Poepp.</i>	Euphorbiaceae	Hojas
14	Hierba de víbora	<i>Cissampelos pareira L.</i>	Menispermaceae	Hojas
15	Maracuyá	<i>Passiflora edulis Sims</i>	Dicotiledónea	Hojas
16	Melón agrio	<i>Momordica charantia L.</i>	Cucurbitaceae	Hojas
17	Pie de venado	<i>Bauhinia variegata L.</i>	Caesalpiniaceae	Hojas
18	Quiebra piedra	<i>Phyllanthus amarus S.</i>	Euphorbiaceae	Planta completa sin flor
19	Nim	<i>Azadirachta indica</i>	Meliaceae	Hojas
20	Nopal	<i>Opuntia cf. cochenillifera L.</i>	Cactaceae	Tallo

4.5 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS VEGETALES

Se realizó en la Estación experimental y de prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas Universidad de El Salvador, localizada en el municipio de San Luis Talpa cantón Tecualuya, departamento de La Paz con una elevación de 50 metros sobre el nivel del mar, con coordenadas geográficas 13°28'3" Latitud

Norte, $-89^{\circ}05'8''$ Longitud Oeste y coordenadas planas de 261.5 km Latitud Norte, 489.6 km Longitud Oeste y en el Cerro Guazapa con coordenadas de $13^{\circ}52'32.53''N$, $89^{\circ}10'30.89''W$ el cual, se extiende entre los departamentos de San Salvador y Cuscatlán.

Las muestras fueron recolectadas con dos objetivos: coleccionar el material necesario para el desarrollo de la parte experimental y para la identificación botánica, de cada ejemplar se recolectó un aproximado de 500 g de material vegetal esto incluye: tallos, hojas, frutos, flores y raíz.

Las muestras recolectadas del 1 al 3 de noviembre de 2019 y fueron colocadas sobre papel de diario para facilitar el transporte, identificándolas con una ficha de recolección la cual consta de los siguientes apartados: nombre científico, nombre común, familia, nombre del colector, fecha, zona de recolección, código de muestra y coordenadas del lugar. (Ver anexo N° 1 y N° 2)

4.6 IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

Después de la recolección, se procedió a la limpieza del material vegetal con una brocha se retiró todo el polvo y tierra, habiendo limpiado las veinte muestras, cada una se colocó sobre papel periódico y luego se procedió al prensado y secado por un periodo de 15 días.

Después de este período las muestras fueron transportadas al Herbario del jardín botánico "La laguna" localizado en las coordenadas: latitud norte $13^{\circ}40'20''$ Longitud W: $89^{\circ}15'00''$ con una temperatura de $23^{\circ}C$. Cada muestra fue evaluada por el curador del herbario quien comparó las muestras con ejemplares de referencia de la misma especie vegetal y examinó cada uno de los caracteres vegetativos de forma macroscópica, además se verificó el orden, familia y nombre científico basándose en la página Tropicos.org y en el Código Internacional de Nomenclatura Botánica. Al finalizar el proceso se extendió una ficha de identificación botánica. (Ver anexo N° 3 y 4)

4.7 PARTE EXPERIMENTAL

Material y equipo de laboratorio (Ver anexo N° 5)

Preparación de solución salina, blanco y control de mortalidad. (Ver anexo N° 6)

Preparación del material vegetal. (Ver anexo N° 7)

1. Limpieza y sanitización del área de trabajo
2. Limpiar el material vegetal de polvo y tierra, enjuagar con agua potable y después con agua desmineralizada.
3. Fraccionar la parte específica a utilizar, cortar en diagonal el órgano específico como tallos y hojas.
4. Fraccionar la planta completa para *Tagetes erecta*, *Euphorbia hirta* y *Ageratum conyzoides* incluyendo tallos hojas raíz y flores.
5. Fraccionar la planta completa para *Phyllanthus amarus* incluyendo tallos hojas y raíz.
6. Colocar las muestras fraccionadas previamente en bandejas de aluminio.
7. Secar en estufa a temperatura de 40 °C durante 48 horas
8. Pulverizar el material vegetal seco en un molino de marca Hamilton Beach a una velocidad intermedia por 15 minutos. Sanitizar previamente el molino.
9. Colocar el material vegetal seco y pulverizado, en bolsas plásticas para evitar contaminación microbiana.
10. Rotular las bolsas con los siguientes datos: nombre común y fecha

Preparación de los extractos secos. ^(16,17). (Ver anexo N° 8)

1. Pesar 100 gramos de material vegetal pulverizado, realizar la pesada en un beaker de capacidad de 250 mL.
2. Agregar etanol 95° hasta cubrir completamente el material vegetal
3. Macerar por veinticuatro horas cada especie vegetal a temperatura ambiente
4. Tapar el beaker donde se realiza la maceración.
5. Filtrar utilizando gasa y algodón.

6. Llevar a sequedad utilizando el rotaevaporador a una temperatura no mayor a 40° C hasta obtener el extracto seco.
7. Tarar veinte crisoles y anotar los pesos
8. Agregar en cada uno de los crisoles, los extractos.
9. Colocarlos en desecador por un período de 15 días para eliminar por completo la humedad.
10. Pesar los extractos hasta llegar a peso constante
11. Obtener el rendimiento de los extractos (El peso final es el rendimiento del extracto) Así se obtiene el extracto completamente seco de cada especie vegetal.

Preparación de los extractos a concentraciones de 2000, 200 y 20 µg/mL

1. Pesar en balanza analítica la cantidad de 20 mg (0.02 g) de cada extracto seco y colocarlo en un vial eppendorf con capacidad de 2 mL
2. Adicionar con pipeta automática la cantidad de 0.5 mL (500 µL) de dimetilsulfóxido (DMSO) a cada uno de los extractos.
3. Agitar por 5 minutos en vortéx hasta disolver el extracto completamente, rotular el vial con el correspondiente nombre científico de cada planta. Es necesario solubilizar los extractos para preparar las concentraciones.
4. Transferir completamente el extracto solubilizado con dimetilsulfóxido a un balón volumétrico de 10 mL y aforar con solución salina agitar y homogenizar, rotular como concentración de 2000 µg/mL
5. Tomar 1 mL de la solución anterior y verter en un balón volumétrico de 10 mL.
6. Aforar con solución salina, agitar y homogenizar y rotular como concentración de 200 µg/mL.
7. Tomar 1 mL de la solución anterior y verter a un balón volumétrico de 10 mL
8. Aforar con solución salina, agitar y homogenizar y rotular como concentración de 20 µg/mL.

Nota: repetir este procedimiento con cada uno de los extractos. (Ver anexo N° 8)

4.8 DESARROLLO DEL BIOENSAYO *Artemia salina*

El bioensayo *Artemia salina*, es una metodología experimental propuesta inicialmente en 1956 por el investigador Michael Thomson y retomada por CYTED en 1995, para el análisis de extractos naturales con la finalidad de conocer el nivel de citotoxicidad; para el desarrollo de la metodología es necesario realizar una serie de procedimientos sistemáticos con el objetivo de lograr resultados cuantitativos que sean confiables, para ello es necesario conocer: la procedencia de los quistes, además realizar un proceso de desinfección del agua marina, realizar el proceso de eclosión de quistes y finalizar con el procedimiento del bioensayo.

El proceso experimental fue desarrollado en el Laboratorio “Las Aminas”, ubicado en el municipio de San Luis Talpa playa “La Zunganera”, Departamento de La Paz, en el período comprendido del 3 al 7 de junio de 2019.

4.8.1 Procedencia de los quistes de *Artemia salina*

Los quistes que fueron utilizados en esta investigación proceden del Gran Lago Salado de UTHA, Estados Unidos y fueron otorgadas por el Laboratorio “Las Animas”. En los cuadros N° 5 y N° 6, se detalla las especificaciones del control de calidad y composición química de los quistes.

Cuadro N° 5. Especificaciones del control de calidad de los quistes

Procedencia de la cistos	Producto de importación fabricado por Mackay Marine Brine Shrimp Company. Inc. UTHA USA
Tamaño del nauplio	431.3 μm
Promedio de cistos por gramo	280,000 por gramo
Almacenamiento	Envasados al vacío, protege a la de luz para evitar el deterioro. Almacenamiento en el depósito abierto a 5 °C.
Eclosión mg nauplio/g de quiste	467.0 cepa bisexual
Peso del producto	7 kg
Porcentaje de eclosión	90%
Temperatura de eclosión	30 °C
Tiempo de eclosión	24 horas después de siembra
Color	Color marrón oscuro
Olor	Fuerte olor a pescado

Cuadro N° 6. Composición química de los quistes de *Artemia salina*

Proteína cruda/ Proteína bruta mínima	Mínima 54.5%
Grasa Cruda/ Extracto Etéreo	Mínima 14.2%
Fibra Cruda/Fibra cruda	Máxima 27.3%
Humedad	Máxima 3.6%

4.8.2 Procedimiento de desinfección del agua marina.

1. Recolectar un aproximando de 10 litros de agua marina a una profundidad de 3 metros.
2. Agregar al agua marina una solución de cloro al 0.6 ppm y mantener por 24 horas.
3. Filtrar el agua marina en un poro de 100 micras para retirar partículas extrañas y sedimento.
4. Medir la salinidad con un refractómetro o salinómetro el agua marina, esta debe estar entre 30 ppm-35 ppm de sal.
5. Pasar el agua marina a través de un filtro UV de 10 ppm recibir el agua en un recipiente limpio y seco.
6. Agregar tiosulfato de sodio al 10% por 24 horas con la finalidad de neutralizar la acción del cloro.
7. Medir el contenido de cloro en el agua marina, la cual debe estar en un límite minino de 0.1 ppm-0.2 ppm y límite máximo de 1.3 ppm-1.5 ppm.
8. Pasar nuevamente el agua marina en un filtro UV de 10 ppm posteriormente almacenar el agua. Esta agua marina está en condiciones aceptables para desarrollar la eclosión de los quistes de *Artemia salina*

4.8.3 Procedimiento de eclosión de los quistes. (Ver anexo N° 9)

1. Agregar 1000 mL de agua marina previamente desinfectada en una ampolla de separación con capacidad a 3 litros.
2. Agregar 2 gramos de quistes deshidratados de *Artemia salina*.

3. Oxigenar el agua marina con ayuda de una bomba de aire durante todo el proceso de eclosión.
4. Colocar una fuente lumínica con capacidad de 2000 lux durante todo el proceso de eclosión
5. Después de 24 horas de haber colocado los quistes en agua marina se obtiene la eclosión el cual consiste en la ruptura de las membranas internas y salida del nauplio.
6. Suspender la aireación por 15 minutos y cubrir la ampolla de separación con papel carbón, dejando una pequeña abertura de luz artificial con la finalidad de concentrar los nauplios en la superficie y sedimentar los quistes desencapsulados.
7. Filtrar con una malla de nylon de 100 micras para separar los nauplios de los quistes desencapsulados.
8. Realizar los lavados con agua marina desinfectada ejerciendo fuerte agitación para separar el nauplio del quiste.
9. Recoger los nauplios en un vaso de precipitados con capacidad de 1 litro.
10. Agregar agua marina previamente desinfectada. Además, colocar oxigenación y fuente lumínica constante.
11. El nauplio debe tener un color anaranjado debido a las reservas de lípidos en su organismo, después de 24 horas es necesario alimentarla con 50 mL de alga *Chateoceros gracilis* para evitar que muera
12. Realizar recambio de agua marina previamente tratada cada 12 horas para evitar contaminación con desechos orgánicos.

4.8.4 Procedimiento de bioensayo *Artemia salina* ^(16,17). Ver anexo N° 10.

La evaluación primaria de extractos vegetales puede emprenderse por medio de métodos toxicológicos alternativos utilizando crustáceos del género *Artemia* en su primer estadio larvario (nauplios), siguiendo la metodología desarrollada por CYTED en la cual, se analizan los extractos de manera homogénea mediante

una serie de diluciones. En la figura N° 1. Se presenta el esquema general de llenado de viales para el desarrollo del bioensayo.

1. Colocar viales eppendorf de 2 mL en una gradilla siguiendo el orden de la figura N° 1.

filas	Solución Blanco DMSO			Control de mortalidad CuSO ₄			Concentración 2000 µg/mL			Concentración 200 µg/mL			Concentración 20 µg/mL		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>A</i>	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>B</i>	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>C</i>	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>D</i>	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>E</i>	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
<i>F</i>	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○







○	Viales eppendorf con capacidad de 2 mL
	Solución blanco dimetilsulfóxido.
	Solución control de mortalidad sulfato de cobre
	Solución salina
	Concentración de 2000 µg/mL
	Concentración de 200 µg/mL
	Concentración de 20 µg/mL

Figura N° 32. Diagrama general del llenado de los viales.

2. Llenar los viales por triplicado con 100 μ L de solución blanco dimetilsulfóxido en viales 1, 2 y 3.
3. Llenar los viales por triplicado con 100 μ L de solución control de mortalidad sulfato de cobre (CuSO_4), (viales 4-5 y 6).
4. Llenar los viales 7, 8 y 9 con 200 μ L de la concentración de 2000 $\mu\text{g/mL}$.
5. Llenar los viales 10, 11 y 12 con 200 μ L de la concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$.
6. Llenar los viales 13, 14 y 15 con 200 μ L de la concentración de 20 $\mu\text{g/mL}$.
7. Llenar los viales con 100 μ L solución salina, desde la fila A hasta la F
8. Realizar la cascada de diluciones según se presenta en la figura N° 2.
9. A partir de la concentración de 2000 $\mu\text{g/mL}$ (viales 7,8, y 9), tomar por triplicado 100 μ L y transferirlos a los viales eppendorf de la fila B y rotular como concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$
10. De la dilución de 1000 $\mu\text{g/mL}$ tomar 100 μ L y transferirlos en viales de la fila C rotular como 500 $\mu\text{g/mL}$.
11. De la dilución de 500 $\mu\text{g/mL}$ tomar 100 μ L y transferirlos en viales de la fila D, rotular como 250 $\mu\text{g/mL}$.
12. De la dilución de 250 $\mu\text{g/mL}$ tomar 100 μ L y transferirlos en viales de la fila E rotular como 125 $\mu\text{g/mL}$.
13. De la dilución de 125 $\mu\text{g/mL}$ tomar 100 μ L y transferirlos en viales de la fila F rotular como 62.5 $\mu\text{g/mL}$.
14. A partir de la concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$ (viales 10,11,12) tomar por triplicado 100 μ L y transferirlos a los viales eppendorf de la fila B y rotular como 100 $\mu\text{g/mL}$.
15. De la dilución de 100 $\mu\text{g/mL}$ tomar por triplicado 100 μ L y transferirlos a los viales eppendorf rotular como 50 $\mu\text{g/mL}$, y así sucesivamente realizar tres diluciones más, hasta llegar a la dilución de 6.26 $\mu\text{g/mL}$.
16. A partir de la concentración de 20 $\mu\text{g/mL}$ (viales 13,14,15) se realizaron una cascada de diluciones por triplicado.

17. De la concentración de 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ tomar por triplicado 100 μL y transferirlos a los viales eppendorf y rotular como 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$
18. De la dilución de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ tomar 100 μL y transferirlos a los viales, y rotular como 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y así sucesivamente hasta realizar tres diluciones más hasta llegar a la dilución de 0.625 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
19. Una vez complementada todas las diluciones tomar con una pipeta Pasteur 15 nauplios de *Artemia salina* y colocarlos en cada vial.
20. Incubar por 24 horas, a una temperatura de 30-35 °C
21. Contar posterior a 24 horas todos los nauplios muertos en cada dilución usando una lupa.
22. Obtener los promedios de los nauplios muertos de cada dilución.
23. Calcular el porcentaje de mortalidad dividiendo los promedios de mortalidad entre 15 multiplicado por 100.
24. Realizar este procedimiento para los veinte extractos, en las mismas condiciones y utilizando nauplios recién eclosionados.

Filas	Blanco Dimetilsulfóxido			Control de mortalidad CuSO ₄			Dilución $\mu\text{g/mL}$	Concentración de 2000 $\mu\text{g/mL}$			Dilución $\mu\text{g/mL}$	Concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$			Dilución $\mu\text{g/mL}$	Concentración De 20 $\mu\text{g/mL}$		
	1	2	3	4	5	6		7	8	9		10	11	12		13	14	15
A	○	○	○	○	○	○	2000	○	○	○	200	○	○	○	20	○	○	○
B	○	○	○	○	○	○	1000	○	○	○	100	○	○	○	10	○	○	○
C	○	○	○	○	○	○	500	○	○	○	50	○	○	○	5	○	○	○
D	○	○	○	○	○	○	250	○	○	○	25	○	○	○	2.5	○	○	○
E	○	○	○	○	○	○	125	○	○	○	12.5	○	○	○	1.25	○	○	○
F	○	○	○	○	○	○	62.5	○	○	○	6.25	○	○	○	0.625	○	○	○

Figura N° 33. Esquema general de las diluciones

Representación general de las diluciones realizadas en el bioensayo Artemia salina por triplicado. Realizar este procedimiento para los veinte extractos, a una temperatura de 30 °C - 35 °C y utilizando nauplios recién eclosionados

4.9 Método estadístico Probit

El método estadístico Probit, es una herramienta estadística que se utiliza para calcular la LC₅₀ de extractos naturales a través de regresiones lineales. En esta investigación se ha implementado el método Probit mediante el software US Environmental Protection Agency US EPA versión 2.5 una de las ventajas de este programa es que ofrece resultados precisos, además, realiza la validación estadística de los resultados de concentración letal media LC₅₀ mediante la determinación del error estándar, intervalo de confianza al 95% y la distribución Chi-cuadrado. ⁽¹⁸⁾. (Ver anexo N° 11)

4.9.1 Cálculo de LC₅₀ mediante el método estadístico de Probit. ⁽¹⁸⁾

1. Tabular los porcentajes de mortalidad del bioensayo *Artemia salina* y convertir las concentraciones a logaritmo Log₁₀
2. Introducir los porcentajes de mortalidad al programa Probit versión 2.5
3. Obtener el Probit experimental mediante el programa versión Probit 2.5. Este es un dato de probabilidad que está relacionado con los porcentajes de mortalidad.
4. Obtener el Probit teórico mediante el programa versión Probit 2.5. Este es un dato de probabilidad que compara la desviación de los porcentajes de mortalidad.
5. Graficar los datos de Probit experimental contra los logaritmos de las concentraciones
6. Interceptar la gráfica en el Probit 5, el valor que corresponda en el eje “x” se denomina “m”
7. Calcular el antilogaritmo de “m” y el resultado es el valor de LC₅₀ expresado en µg/mL.
8. A partir de la gráfica aplicar la fórmula $s = (X_f - x_i)/(PE_f - PE_i)$, para obtener el valor de “s” que corresponde a la tasa de incremento del logaritmo

de la concentración (x) por unidad Probit. (Este cálculo se realiza en el programa)

Cuadro N° 7. Definición de los parámetros estadísticos para desarrollar el cálculo del Probit esperado. ⁽¹⁸⁾

Parámetro	Definición
X _f	Logaritmo de la concentración final
X _i	Logaritmo de la concentración inicial
PE _f	Probit experimental correspondiente a mayor concentración
PE _i	Probit experimental correspondiente a menor concentración
S	Tasa de incremento del logaritmo de la concentración (x) por unidad
m	Intercepto de la gráfica
Probit experimental	Se refiere a los promedios de mortalidad transformados a unidades de probabilidad.
Probit teórico	Se refiere a unidades de probabilidad teóricas este compara la desviación de los porcentajes de mortalidad.

Fuente propia

4.9.2 Verificaciones estadísticas de los resultados de LC₅₀. ⁽¹⁸⁾

Todos los resultados de LC₅₀ deben ser corroborados mediante tres pruebas estadísticas como: distribución de Chi-cuadrado X², error estándar e intervalo de confianza al 95%. Los cálculos se realizan mediante el software Probit 2.5.

4.9.3 Procedimiento para determinación del Chi-cuadrado x². ⁽¹⁸⁾

1. Calcular el porcentaje de efecto esperado (% de EFEC) correspondiente a cada Probit teórico. Este dato se obtiene por medio del programa Probit 2.5
2. Calcular la mortalidad esperada (N%EF), multiplicando: el número de nauplios utilizados(N") por el porcentaje de efecto esperado (% de EFEC).
9. A partir de la gráfica aplicar la fórmula $s = (X_f - x_i)/(PE_f - PE_i)$, para obtener el valor de "s" que corresponde a la tasa de incremento del logaritmo

de la concentración (x) por unidad Probit. (Este cálculo se realiza en el programa)

Cuadro N° 8. Definición de parámetros para la distribución de Chi- cuadrado χ^2

Parámetro	Definición matemática
N"	Número de nauplios utilizados 15
N	Grados de libertad
r	Promedio de mortalidad
K	Número de diluciones
% de EFEC	Porcentaje de efecto esperado
N%EF	Mortalidad esperada
(r-N%EF)	Desviación: diferencia entre el promedio de mortalidad y mortalidad esperada
$\frac{(r - N\%EF)^2}{N\%EF(1 - \% \text{ de EFEC})}$	Distribución del Chi-cuadrado

Fuente propia

4.9.4 Error estándar e intervalo de confianza ⁽¹⁸⁾

El error estándar, es una desviación que indica la variabilidad de los resultados de LC₅₀, además, demuestra la falta de precisión en el desarrollo de la parte experimental a su vez, el intervalo de confianza, es una técnica estadística que estima si los resultados se encuentran dentro de un rango.

Cálculo del error estándar e intervalo de confianza

1. Obtener la sumatoria de los productos: Np, Npx y Npx²
2. Introducir los datos de Probit teórico en el programa versión 2.5 para obtener el factor de estandarización del Probit (p).
3. Calcular el error estándar a partir de la siguiente fórmula:

$$EE_{\log_{10} CL_{50}} = \left[s^2 \left(\frac{1}{SNp} + (m - x)^2 / (SNp(x - x^2)) \right) \right]^{0.5}$$

4. Obtener el intervalo de confianza, mediante la sustracción y adición del resultado de error estándar.

Nota: todo el procedimiento debe realizarse mediante uso del programa para facilitar el análisis estadístico.

Cuadro N° 9. Definición de parámetros de calcular el intervalo de confianza y error estándar. ⁽¹⁸⁾

Factor (p)	Factor de estandarización del Probit.
Np	Resultado de la multiplicación de los valores de número de organismos (nauplios) por el factor (p)
Npx	Resultado de la multiplicación del producto anterior por el logaritmo de las concentraciones.
Npx ²	Resultado de la multiplicación anterior por logaritmo de las concentraciones al cuadrado
X	Logaritmo de las concentraciones
N	Número de nauplios en cada dilución
Y	Probit esperado
S	Tasa de incremento del logaritmo de la concentración (x) por unidad
EECl ₅₀	Error estándar de la LC ₅₀
m	Intercepto en gráficas

Elaboración propia

CAPITULO V
DISCUSION E INTERPRETACION DE RESULTADOS

V. DISCUSION E INTERPRETACION DE RESULTADOS

5.1 Recolección e identificación de especies.

Se realizó la recolección en el cerro Guazapa, departamento de Cuscatlán con coordenadas de 13° 54' 0" N, 89° 7' 12" W y en la Estación experimental de prácticas de la Facultad de Ciencias Agronómicas ubicado en el cantón Tecualuya municipio de San Luís Talpa, departamento de La Paz, a una elevación de 50 metros sobre el nivel del mar, con coordenadas geográficas de 13°28'3" Latitud Norte, -89°05'8"

Se seleccionaron dos sitios de recolección de muestras, debido a que las plantas seleccionadas están distribuidas en climas muy diferentes como, por ejemplo: *Momordica charantia* (Melón agrio) y *Phyllanthus amarus* (Quiebra piedra) están distribuidas en ambientes cálidos y zonas costeras del país a diferencia de *Euphorbia lancifolia* (Baja leche) y *Cissampelos pareira L* (Hierba de víbora) distribuidas en zonas de climas semicálidos a templados.

El primer viaje de campo realizado a la Estación experimental de Ciencias Agronómicas fue en la fecha del 1 de noviembre de 2018, dentro de las instalaciones se recolectó un total de nueve muestras.

El segundo viaje de campo se realizó en el Cerro Guazapa departamento de Cuscatlán, acompañada por guías locales, donde se ubicaron y recolectaron diez muestras; a excepción de la especie *Euphorbia lancifolia* (Baja leche) que fue recolectada en el Centro de Lactancia Materna CALMA colonia Roma 67 Avenida sur pasaje A N° 3, San Salvador. (Ver anexo N° 1). Durante la recolección se implementaron diferentes técnicas de recolección como: seleccionar ejemplares

en buenas condiciones libres de daño por insectos, hongos o de enfermedades, recolectar suficiente material vegetal como flores, frutos, tallo y raíz de cada especie.

Se colocó su respectiva ficha recolección a cada muestra. (Ver Anexo N° 2). Para realizar la identificación botánica, fue necesario prensar las muestras recolectadas y secarlas por un período de 15 días, luego realizar cambio de papel para evitar la formación de hongos después del secado los ejemplares fueron colocados en una base de cartón blanco con su respectiva ficha de recolección. (Ver Anexo N° 3)

Las muestras fueron trasportadas al Herbario del Jardín Botánico “La Laguna” y fueron examinadas por el licenciado Dagoberto Rodríguez curador del herbario quién comparó las muestras con ejemplares de referencia del herbario y examinó macroscópicamente las características morfológicas y caracteres vegetativos de cada una de las muestras.

Además, se verificó el orden, familia y nombre científico de cada uno de las muestras recolectadas según la base de datos científicos de Trópicos.org y basándose en el Código Internacional de Nomenclatura Botánica.

Al finalizar el proceso, el curador del herbario extendió una ficha de identificación donde se registraron el nombre común, nombre científico, familia, fecha de recolecta, lugar de recolecta, nombre de la persona que recolectó, y las coordenadas. Las muestras fueron codificadas para mantener la trazabilidad si se desea continuar con el estudio. (Ver Anexo N° 3 y 4)

En el cuadro N° 10. Se presenta la información de las veinte plantas recolectadas con su respectiva información taxonómica, códigos y zonas de recolección

Cuadro N° 10. Muestras vegetales codificadas.

N°	Nombre común	Nombre científico	Familia botánica	Código	Muestra codificada
1	Baja leche	<i>Euphorbia lancifolia</i>	Euphorbiaceae	1	BL011
2	Caña de cristo	<i>Costus scaber.</i>	Costaceae	2	CS022
3	Campanita	<i>Ruellia simplex</i>	Acanthaceae	3	RS033
4	Flor barbona	<i>Caesalpinia pulcherrima</i> L.	Fabaceae	3	CP044
5	Flor de muerto	<i>Tagetes erecta</i> L.	Asteraceae	3	TE055
6	Flor manita	<i>Celosia argentea</i>	Amaranthaceae	2	CA056
7	Falso ruibarbo	<i>Jatropha podagrica</i> Hook	Euphorbiaceae	.3	JP066
8	Flor azul	<i>Ageratum conyzoides</i>	Asteraceae	2	AC077
9	Flor de china	<i>Impatiens balsamina</i> L.	Balsaminaceae	2	IB088
10	Golondrina	<i>Euphorbia hirta</i> L.	Euphorbiaceae	2	EH099
11	Guayaba	<i>Psidium guajava</i> L	Myrtaceae	3	PG010
12	Hoja de aire	<i>Kalanchoe pinnata</i> (Lam.)	Crassulaceae	2	KP011
13	Hierba de cáncer	<i>Acalypha arvensis</i> Poepp.	Euphorbiaceae	2	AA012
14	Hierba de víbora	<i>Cissampelos pareira</i> L.	Menispermaceae	3	CP013
15	Maracuyá	<i>Passiflora edulis</i> Sims	Dicotiledónea	3	PS014
16	Melón agrio	<i>Momordica charantia</i> L.	Cucurbitaceae	2	BV015
17	Pie de venado	<i>Bauhinia variegata</i> L.	Caesalpiniaceae	3	BV016
18	Quiebra piedra	<i>Phyllanthus amarus</i> S.	Euphorbiaceae	3	PA017
19	Nim	<i>Azadirachta indica</i>	Meliaceae	3	AI018
20	Nopal	<i>Opuntia cf. Cochenillifera</i>	Cactaceae	3	PC020

Código de recolección	Zona de recolección
1	San salvador centro de Lactancia Materna. CALMA. Final 67 Avenida Sur, Pasaje "A" N° 3, Colonia Roma, San Salvador
2	Estación experimental Ciencias Agronómicas cantón Tecualuya San Luis Talpa La Paz
3	Cerro Guazapa ubicado en el municipio de Guazapa departamento de Cuscatlán.

5.2 Elaboración de las diferentes concentraciones a partir de los extractos secos de cada especie vegetal.

5.2.1 Obtención y rendimiento de extractos.

La parte experimental fue desarrollada en las instalaciones del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud CENSALUD, Universidad de El Salvador. Se realizó la sanitización del área de trabajo, posteriormente se preparó cada muestra vegetal de la siguiente manera: se limpió con una brocha para retirar el polvo y partículas extrañas y se enjuagó con agua potable, después con agua desmineralizada (se realizó el mismo procedimiento en las veinte muestras)

Se fraccionó el material para luego ser colocarlo en bandeja metálica; las cuales se introdujeron en una estufa a 40° C por 48 horas hasta obtener un secado homogéneo, cada muestra fue pulverizada en un molino de marca Hamilton Beach, el cual fue sanitizado previamente para retiro de suciedad, dentro del mismo se procesaron las muestras a una velocidad intermedia por 15 minutos. Al finalizar cada material vegetal seco y pulverizado, fue colocado en una bolsa plástica para evitar contaminación microbiana. (Ver Anexo N° 7)

La obtención de los extractos se realizó por medio de la maceración por 24 horas a una temperatura ambiente, para conservar los principios activos termolábiles y posteriormente cada uno de los macerados fue filtrado con gasa y algodón. Cada uno de los extractos fueron colocados en el rotavapor para eliminar el disolvente (etanol) y obtener los extractos concentrados.

Después fueron colocados en crisoles previamente tarados y dejados en un desecador ubicado en el Laboratorio de Química Inorgánica de la Facultad de Química y Farmacia por un período de 15 días hasta llegar a peso constante,

esto con la finalidad de eliminar la humedad. Posteriormente se almacenaron en viales protegidos de la luz y de altas temperaturas.

Los extractos presentaron diferentes características físicas en cuanto a la consistencia se obtuvieron, desde muy duros hasta pegajosos con olores característicos dependiendo de cada especie. (Ver Anexo N° 8)

De cada extracto se obtuvo un rendimiento, el cual fue calculado de la siguiente manera:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Tara}}{\text{Peso final (extracto seco)}} \times 100$$

$$\text{Rendimiento} = \frac{1.03775 \text{ g}}{2.12553 \text{ g}} \times 100 = 48.8231 \%$$

En la tabla N° 1. Se detallan los rendimientos obtenidos de todos los extractos, la desviación entre los resultados es menor al 0.5% por lo tanto no existe diferencias significativas entre cada extracto.

Tabla N° 1 Rendimiento del proceso de extracción

N°	Nombre común	Nombre científico	Tara	Extracto seco	Rendimiento
1	Baja leche	<i>Euphorbia lancifolia</i>	1.03775 g	2.12553 g	48.8231%
2	Caña de cristo	<i>Costus scaber.</i>	1.03776 g	2.17485 g	47.7163%
3	Campanita	<i>Ruellia simplex</i>	1.03777 g	2.19865 g	47.2003%
4	Flor barbona	<i>Caesalpinia pulcherrima L.</i>	1.03787 g	2.25375 g	46.0508%
5	Flor de muerto	<i>Tagetes erecta L.</i>	1.03458 g	2.10478 g	49.15038%
6	Flor manita	<i>Celosia argentea var. Cristata</i>	1.03677 g	2.15123 g	48.1942%
7	Falso ruibarbo	<i>Jatropha podagrica</i>	1.03889 g	2.17866 g	47.6848%
8	Flor azul	<i>Ageratum conyzoides</i>	1.03797 g	2.17304 g	47.7658%
9	Flor de china	<i>Impatiens balsamina</i>	1.03878 g	2.13350 g	48.6890%
10	Golondrina	<i>Euphorbia hirta</i>	1.03768 g	2.19432 g	47.2893%
11	Guayaba	<i>Psidium guajava</i>	1.03558 g	2.25440 g	46.0408%
12	Hoja de aire	<i>Kalanchoe pinnata</i>	1.03668 g	2.21456 g	46.8120%

Tabla N° 1. Continuación

13	Hierba de cáncer	<i>Acalypha arvensis</i>	1.03889 g	2.20753 g	47.0611%
14	Hierba de víbora	<i>Cissampelos pareira</i>	1.03799 g	2.15561 g	48.1529%
15	Maracuyá	<i>Passiflora edulis Sims</i>	1.03569 g	2.14553 g	48.27819%
16	Melón amargo	<i>Momordica charantia</i>	1.03667 g	2.13821 g	48.4830%
17	Pie de venado	<i>Bauhinia variegata</i>	1.03779 g	2.11349 g	49.1031%
18	Quiebra piedra	<i>Phyllanthus amarus</i>	1.03668 g	2.15123 g	48.1901%
19	Nim	<i>Azadirachta indica</i>	1.03778 g	2.24771 g	46.1705%
20	Nopal	<i>Opuntia cf. cochenillifera (L.)</i>	1.03578 g	2.24567 g	46.1234%

Con el fin de interpretar los resultados, se observa que en la tabla N° 1, los rendimientos de obtención de los extractos secos se encuentran en un rango desde 46.0408% de guayaba hasta 49.15038% de flor muerto, además, es importante hacer notar que no importando el órgano de la planta estudiado los porcentajes de rendimiento son similares.

A partir de cada extracto seco se pesó una cantidad de 20 mg (0,02 g), y luego se disolvió en 500 μ L (0.5 mL) de dimetilsulfóxido (DMSO), siendo este un compuesto orgánico de alta polaridad que atrae a los metabolitos secundarios y los disuelve.

A partir del extracto solubilizado, se preparó la concentración de 2000 μ g/mL transfiriendo completamente el extracto solubilizado a un balón volumétrico de 10 mL (se afora con solución salina en las tres concentraciones) a partir de esta concentración se toma una alícuota de 1 mL para obtener la concentración de 200 μ g/mL, de igual forma se toma una alícuota de 1 mL para obtener la concentración de 20 μ g/mL dichas concentraciones se utilizaron en el bioensayo de *Artemia salina*. (Ver Anexo N° 8)

5.3 Determinación de la concentración letal media por medio del bioensayo preliminar de *Artemia salina*

- La primera etapa consistió en el procedimiento de eclosión de los quistes, para ello es importante tomar en cuenta los puntos de control como: mantener la temperatura estable de 30° C, oxígeno y luminosidad constante, salinidad del agua marina al 35% y previa desinfección del agua marina para evitar contaminación microbiana.
- La segunda etapa es el desarrollo del bioensayo *Artemia salina*, retomando la metodología propuesta por CYTED la cual consiste en el llenado de viales seguido de una serie de diluciones y luego se colocan 15 nauplios en cada vial para posteriormente verificar la mortalidad.

5.3.1 Resultados del proceso de eclosión

En una ampolla de separación agregó 1000 mL de agua mariana desinfectada luego se agregó la cantidad de 2 gramos de quistes de *Artemia salina* y se colocó oxigenación constante, a una temperatura de 30 °C por 24 horas, posteriormente se obtiene la eclosión; en la cual, el quiste sufre una ruptura de las membranas internas y el nauplio sale. Se suspende la aireación (oxígeno) por 15 minutos y se colocó papel carbón en la ampolla de separación con la finalidad de reunir a los nauplios en la superficie.

Se realizó una filtración para separar el quiste del nauplio, por medio de una malla de nylon de 100 micras, el nauplio se recibe en un beaker con capacidad de 1000 mL, y se colocó nuevamente el oxígeno, y la luminosidad constante.

Fue necesario realizar el recambio de agua marina cada 12 horas para evitar contaminación microbiana con desechos orgánicos, además, se debe alimentar al nauplio con algas del género *Chateros gracilis*. (Ver anexo N° 9)

Los nauplios obtenidos fueron observados al estereoscopio. (Ver anexo N° 9).

Se observó la coloración marrón oscuro característico de la *Artemia*, sus apéndices (extensiones de movimiento) con un tamaño aproximado a 10 mm y el movimiento de fototactismo en el cual los nauplios se reúnen en la superficie guiados por el estímulo de la luz.

5.3.2 Resultados del Bioensayo

A continuación, se presenta en forma de ejemplo los resultados del bioensayo de *Artemia salina* para *Euphorbia lancifolia* (Baja leche), evaluando el extracto etanólico procedente de tallo de la planta.

El procedimiento consistió en exponer el extracto de la planta frente a nauplios recién eclosionados para determinar el valor de la concentración letal media. Para ello fue necesario realizar 6 diluciones correspondiente a cada una de las concentraciones (2000 µg/mL, 200 µg/mL, 20 µg/mL)

Las células del nauplio poseen una elevada sensibilidad a sustancias químicas presentes en los extractos, esto permite cuantificar la toxicidad por medio del número de nauplios muertos, el efecto tóxico que producen los extractos está fuertemente relacionado a los metabolitos presentes en las plantas.

En la figura N° 34. Se observa el orden de llenado (de los viales) y las correspondientes diluciones, como puede verse el bioensayo se realizó por triplicado para cada planta. En cada vial se inocularon 15 nauplios de *Artemia salina*, posteriormente se incubaron (Todos los viales) a 30° C-35 °C por 24 horas. Ver anexo N° 10

Dilución µg/mL	Concentración de 2000 µg/mL			Promedio de mortalidad	Dilución µg/mL	Concentración de 200 µg/mL			Promedio de mortalidad	Dilución µg/mL	Concentración De 20 µg/mL			Promedio de mortalidad
	7	8	9			10	11	12			13	14	15	
2000	○	○	○	13.5	200	○	○	○	13.5	20	○	○	○	5.2
1000	○	○	○	11.5	100	○	○	○	10.5	10	○	○	○	4.9
500	○	○	○	8.5	50	○	○	○	6.5	5	○	○	○	4.5
250	○	○	○	5.5	25	○	○	○	2.5	2.5	○	○	○	4.1
125	○	○	○	3.0	12.5	○	○	○	1.0	1.25	○	○	○	3.8
62.5	○	○	○	1.0	6.25	○	○	○	0.5	0.625	○	○	○	3.5

Figura N° 34. Resultados de mortalidad para *Euphorbia lancifolia*
(Baja leche)

Después se realizó la lectura de resultados, esto consistió en contar los nauplios muertos (con ayuda de una lupa) en cada dilución y sacar un promedio de mortalidad, así como se observa en la figura N° 34.

Con respecto al promedio de mortalidad se observa, que en la concentración de 2000 µg/mL y 200 µg/mL existe una elevada toxicidad y se ha producido un total de 13.5 nauplios muertos. En la concentración de 20 µg/mL hay una leve disminución con un promedio de 5.2 nauplios muertos, debido a que el extracto se encuentra en una menor concentración.

Además, se tuvieron dos parámetros: el control de mortalidad que es la solución de sulfato de cobre (CuSO₄) y la solución blanco de dimetilsulfóxido (DMSO). La solución de sulfato de cobre CuSO₄, desempeña la función de control de mortalidad debido a que se ha evaluado y demostrado su alta capacidad tóxica. La solución de sulfato de cobre también se utilizó por triplicado a una concentración de 12.5 mg/mL y fueron inoculados 15 nauplios, también se incubaron los viales al 30° C durante 24 horas.

Se observó un efecto nocivo para los nauplios los cuales, presentaron en las primeras 8 horas de incubación aletargamiento, falta de desplazamiento, falta de reacción de estímulos mecánicos (disminución de actividad natatoria) y disminución de estímulos frente a la luz.

A las 24 horas en la lectura de resultados se observó falta de signos vitales y el 100% de mortalidad de nauplios (un total de 15 nauplios muertos), este resultado confirma que la solución control actuó de manera esperada, esta sustancia causa una alta toxicidad en los nauplios lo cual ocasiona la muerte, de igual forma este resultado se mantuvo constante en las veinte plantas analizadas.

En las tres réplicas de la solución blanco (DMSO) fueron inoculados 15 nauplios y posterior a las 24 horas se observó, que no hubo mortalidad (0.0%), dichos resultados se mantuvieron constantes en las veinte plantas estudiadas. Estos resultados confirman que el dimetilsulfóxido actúa exclusivamente como disolvente por lo cual no interfiere con la mortalidad de los nauplios.

De esta forma se evaluaron los veinte extractos y a partir de cada una se obtuvo el promedio de mortalidad, luego todos los resultados fueron analizados en el método estadístico Probit.

5.4 Análisis de la LC₅₀ mediante el método estadístico Probit o prueba de Finney

En esta etapa fue necesario analizar todos los resultados del bioensayo *Artemia salina* por medio del programa Probit versión 2.5, el cual por medio de regresión lineales determina la LC₅₀. El análisis Probit se desarrolla dos etapas: tabulación de los resultados de mortalidad, con su respectiva gráfica lineal y verificación de

los resultados mediante distribución de Chi-cuadrado X^2 , error estándar e intervalo de confianza al 95%.

5.4.1 Resultados de mortalidad según el método Probit

En la tabla N° 2. Se detallan los resultados de mortalidad de *Euphorbia lancifolia* (Baja Leche), frente a *Artemia salina*, se especifica la cantidad de nauplios muertos en cada dilución con su correspondiente porcentaje de mortalidad.

Tabla N° 2. Resultados de mortalidad para *Euphorbia lancifolia* (Baja leche)

Lectura de mortalidad del bioensayo por triplicado					Porcentajes de mortalidad transformados a unidades Probit		
Con. µg/mL	Logaritmo de µg/mL	Nauplios Vivos	Nauplios muertos	Porcentaje de mortalidad %	Probit experimental	Probit teórico	
2000	3.30	15	13.5	90.00	6.28	6.29	
	1000	3.00	15	11.5	76.66	5.74	5.74
	500	2.70	15	8.5	56.66	5.18	5.20
	250	2.40	15	5.5	36.66	4.67	4.65
	125	2.10	15	3.00	20.00	4.16	4.11
	62.5	1.80	15	1.00	6.66	3.52	3.56
200	2.301	15	13.50	90.00	6.28	6.15	
	100	2.000	15	10.50	70.00	5.52	5.51
	50	1.699	15	6.50	43.33	4.80	4.87
	25	1.398	15	2.50	16.66	4.05	4.22
	12.5	1.097	15	1.00	6.66	3.52	3.58
	6.250	0.796	15	0.50	3.33	3.12	2.93
20	1.30	15	10.5	50.0	5.25	5.25	
	10	1.00	15	8	46.6	4.92	4.90
	5	0.70	15	5.5	33.3	4.56	4.55
	2.5	0.40	15	3	20.0	4.16	4.20
	1.25	0.10	15	1.5	13.3	3.82	3.83
	0.625	-0.20	15	0.5	6.6	3.52	3.50

A fin de interpretar los resultados se observa, que en la concentración de 2000 µg/mL se obtuvo un 90% de mortalidad, y en las diluciones de (1000 a 6.25 µg/mL) el porcentaje de mortalidad se encuentra entre (76.66%- 6.66%). Esta

tendencia es similar en las concentraciones de 200 µg/mL y 20 µg/mL con sus respectivas diluciones.

Esto demuestra que existe una elevada toxicidad del extracto a diferentes concentraciones.

Como se observa en la tabla N° 2. Cada porcentaje de mortalidad fue transformado a Probit experimental (unidad de probabilidad) y es comparado con el Probit teórico, con el objetivo de conocer si existe alguna desviación en los resultados del bioensayo. Al observar los resultados, existe una desviación menor al 0.5 (unidades Probit) por tanto, los resultados de mortalidad son conformes. Ver anexo N° 35.

Después se procede al siguiente paso que es realizar la gráfica de regresión lineal, para observar las gráficas de las veinte plantas. Ver el anexo N° 12

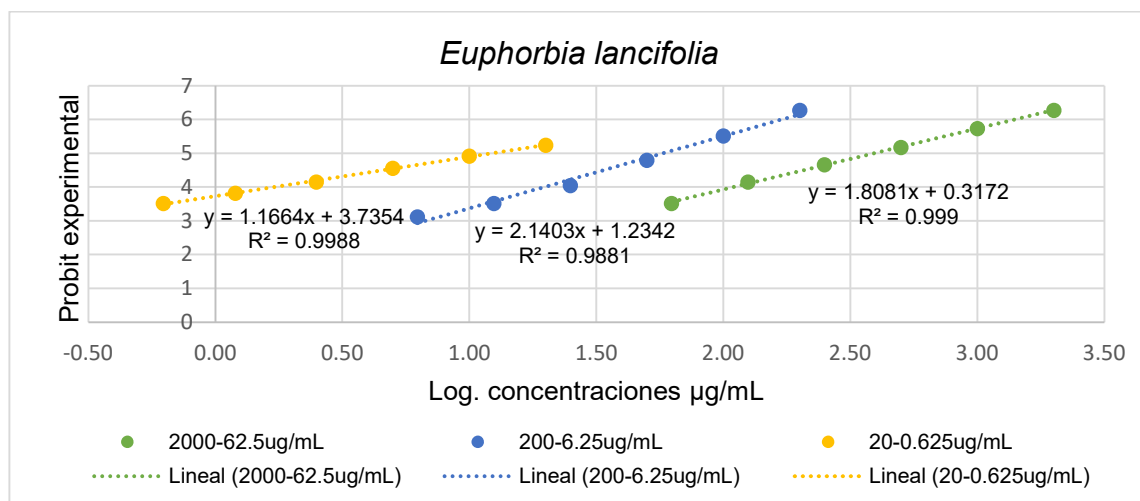


Figura N° 35. Análisis Probit de *Euphorbia lancifolia*

La figura N° 35. Representa la gráfica de Probit para *Euphorbia lancifolia* (Baja leche) en el cual se ha graficado: Probit experimental contra logaritmo de

concentraciones. En la gráfica se observan, tres tendencias corresponden a las concentraciones de 2000-62.5 µg/mL, 200-6.25 µg/mL y 20-0.625 µg/mL.

Después de graficar es necesario interceptar en Probit 5.0 (en cada regresión lineal) y el valor resultante del eje "X" se le aplica el antilogaritmo y el valor resultante es la LC₅₀

Tabla N° 3 Cálculo de LC₅₀ mediante cada regresión lineal

Concentraciones	Ecuaciones	Tasa de incremento "s" Probit	Intercepto en Eje "X"	Dosis letal media LC ₅₀ (µg/mL)
2000-62.5 µg/mL	1.1664 x + 3.7354	0.553	1.0841	388.956
200-6.25 µg/mL	2.1403 x + 1.2342	0.472	1.7594	57.4664
20-0.625 µg/mL	1.1664 x + 3.7354	0.857	2.5899	12.1392
Resultado final: Concentración letal media LC ₅₀ de <i>Euphorbia lancifolia</i>				152.8513

En la tabla N° 3. Se observan los interceptos en el eje "X" correspondiente a cada regresión lineal, para la tendencia que va desde (2000-62.5 µg/mL) el intercepto es 1.0841, para (200-6.5 µg/mL) el intercepto es 1.7594 y para (20-0.625 µg/mL) el intercepto es 2.5899 de cada una se obtiene un valor de LC₅₀ y luego se saca el promedio final correspondiente a *Euphorbia lancifolia* el cual es LC₅₀ 152.8513 µg/mL, teniendo el valor final de LC₅₀, ahora es necesario verificar si el dato es certero.

5.5 Verificación estadística de los resultados de LC₅₀

Para conocer si los resultados son conformes es necesario verificar el valor de LC₅₀, mediante: la distribución de Chi-cuadrado X², error estándar y el intervalo de confianza al 95%.

5.5.1 Resultados de distribución de Chi-cuadrado X²

Este método estadístico, se utiliza para evaluar si los resultados de mortalidad del bioensayo tienen un comportamiento directamente proporcional y determinar

si las pendientes de las gráficas poseen un buen ajuste lineal, a partir del número de diluciones del bioensayo se establecen los grados de libertad y por consiguiente la norma de conformidad la cual es “Todos los resultados son conformes si el resultado de chi-cuadrado es menor a 9.49”.

En la tabla N° 4. Se detallan los resultados de la distribución de Chi- X^2 . Como se observa todos los resultados de Chi- X^2 son menores a 9.49 en todas las diluciones, lo cual indica que las pendientes de las gráficas presentan un buen ajuste lineal, a su vez la desviación en los datos experimentales es mínima, por lo tanto, los resultados de mortalidad son conformes. (Ver anexo N° 11)

Tabla N° 4 Resultados de Chi-cuadrado para *Euphorbia lancifolia* (Baja Leche)

N° Diluciones del bioensayo		6 diluciones por triplicado					
Grados de libertad		6-2 = 4 grados de libertad					
Límite del Chi-cuadrado		Chi- cuadrado conforme menor a 9.49					
Concentraciones		Tabulación de datos para obtener el Chi-cuadrado.					
$\mu\text{g/mL}$	Logaritmo de $\mu\text{g/mL}$ x	% efecto esperado	Probit esperado	N° nauplios vivos	N° de Nauplios muertos	Desviación estándar	Chi-cuadrado
2000	3.30	0.900	6.29	15	13.500	0.000	0.000
1000	3.00	0.770	5.74	15	11.550	-0.050	0.001
500	2.70	0.580	5.20	15	8.700	-0.200	0.011
250	2.40	0.365	4.65	15	5.475	0.025	0.00
125	2.10	0.190	4.11	15	2.850	0.150	0.010
62.5	1.80	0.075	3.56	15	1.125	-0.125	0.015
Resultado							0.037
200	2.30	0.875	6.15	15	13.125	0.375	0.086
100	2.00	0.695	5.51	15	10.425	0.075	0.002
50	1.69	0.450	4.87	15	6.750	-0.250	0.017
25	1.39	0.170	4.22	15	2.550	-0.050	0.001
125	1.09	0.070	3.58	15	1.050	-0.050	0.003
6.25	0.79	0.030	2.93	15	0.450	0.050	0.006
Resultado							0.114
20	1.30	0.600	5.25	15	9.000	-1.500	0.625
10	1.00	0.460	4.90	15	6.900	0.100	0.003
5	0.70	0.330	4.55	15	4.950	0.050	0.001
2.5	0.40	0.215	4.20	15	3.225	-0.225	0.020
1.25	0.08	0.120	3.83	15	1.800	0.200	0.025
0.625	-0.20	0.065	3.50	15	0.975	0.025	0.001
Resultado							0.674

5.5.2 Resultados de error estándar

El error estándar, es una prueba estadística que se aplica en estudios basados en una metodología experimental, los errores pueden ser: de tipo instrumental relacionado con falta de calibración del equipo (balanzas e incubadoras) e imprecisión en la pesada de reactivos o material vegetal.

De tipo analítico, al medir los volúmenes para realizar las diluciones y falsos positivos en la lectura de resultados. Por tanto, la prueba del error estándar estima la variabilidad de los resultados, mediante la siguiente norma de conformidad “Todos los resultados son conformes siempre que el error estándar sea menor a 1.0”.

En la tabla N° 5. Se presenta como ejemplo, el resultado del error estándar para *Euphorbia lancifolia* (Baja leche), obteniendo como resultado final que el error estándar es igual a 0.0587 para LC₅₀ 152.8531 µg/mL. Por tanto, este resultado cumple con las especificaciones del programa y garantiza la precisión y confiabilidad de los resultados. De la misma forma todos los resultados de error estándar para todas las plantas son menores a 1.0

Tabla N° 5 Resultados del error estándar para *Euphorbia lancifolia*

µg/mL	Log. µg/mL	Nauplios usados	Probit esperado	Factor de estandarización	Np	Npx	Npx ²
2000	3.30	15	6.29	0.353	5.30	17.48	57.70
1000	3.00	15	5.74	0.517	7.76	23.27	69.80
500	2.70	15	5.20	0.627	9.41	25.38	68.51
250	2.40	15	4.65	0.608	9.12	21.87	52.44
125	2.10	15	4.11	0.471	7.07	14.81	31.07
62.5	1.80	15	3.56	0.283	4.25	7.62	13.69
				Sumatorias	42.89	110.44	293.20
200	2.30	15	6.16	0.388	5.81	13.37	30.78
100	2.00	15	5.51	0.574	8.60	17.21	34.41
50	1.69	15	4.87	0.631	9.46	16.07	27.30
25	1.39	15	4.23	0.518	7.76	10.85	15.17
125	1.09	15	3.58	0.283	4.25	4.66	5.11
6.25	0.79	15	2.94	0.121	1.81	1.44	1.14
				sumatorias	37.69	63.59	113.91
20	1.30	15	5.25	0.615	9.225	12.00	15.61
10	1.00	15	4.90	0.634	9.51	9.51	9.51

Tabla N° 8. Continuación

5	0.70	15	4.55	0.592	8.88	6.21	4.34
2.5	0.40	15	4.20	0.503	7.55	3.00	1.19
1.25	0.08	15	3.83	0.388	5.82	0.46	0.04
0.625	-0.20	15	3.50	0.264	3.96	-0.81	0.16
Sumatorias					44.94	30.37	30.86

Concentraciones µg/mL	$x = \frac{\sum Npx}{\sum Np}$	$\frac{\sum Npx^2}{\sum Np} - \frac{(\sum Npx)^2}{\sum Np}$	s	Error Estándar LC ₅₀	LC ₅₀ µg/mL
2000-62.5	2.575	8.814	0.553	0.029	388.956
200-6.25	1.687	6.598	0.467	0.032	57.465
20-0.625	0.676	10.331	0.857	0.116	12.139
Resultado final del error estándar				0.0587	152.8531

5.5.3 Resultados del intervalo de confianza al 95%

El intervalo de confianza permite calcular dos valores alrededor de una media muestral (uno superior y otro inferior). Estos valores establecen un rango dentro del cual, se encuentra el resultado de LC₅₀.

Tabla N° 6 Resultados del intervalo de confianza para *Euphorbia lancifolia*

Concentraciones (µg/mL)	LC ₅₀ µg/mL	Intervalo de confianza (IC) al 95%	
2000-62.5	388.956	388.927	388.984
200-6.25	57.465	57.432	57.497
20-0.625	12.139	12.023	12.2552
Resultado final IC al 95%	152.8531	152.7941	152.91208

En la tabla N° 6. Se presenta los resultados del intervalo de confianza al 95% para *Euphorbia lancifolia* (Baja Leche), en la tabla se puede observar como el valor de la LC₅₀ 152.8531 µg/mL se encuentra dentro de los límites del intervalo de confianza al 95% (152.7941 µg/mL-152.91208 µg/mL). Esto confirma que los resultados de mortalidad son verídicos y la técnica se ha desarrollado con precisión.

El objetivo de realizar la verificación estadística es demostrar que todos los resultados de concentración letal media LC₅₀ de los extractos son válidos. Para

logar obtener resultados certeros es necesario, estandarizar los procesos experimentales como, por ejemplo: pesado de reactivos, medición de volúmenes para diluciones, utilizar nauplios del mismo estadio larvario y de la misma procedencia y con un control de calidad “A” que certifique el 98% de eclosión óptima. Es necesario mencionar, que se realizó el mismo proceso estadístico para las veinte muestras. (Ver Anexo N° 11)

5.6 Clasificación de la toxicidad según los lineamientos de CYTED

Es necesario clasificar los resultados de LC₅₀ según el nivel de toxicidad, mediante las normativas del ente regulador. En este caso se hace la referencia de la escala de toxicidad emitida por el Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo CYTED para bioensayo de actividad citotóxica de extractos naturales frente a *Artemia salina*.⁽⁵⁴⁾

En la tabla N° 7. Se presenta la clasificación de toxicidad definida en base a los criterios del Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo CYTED referido del Manual de técnicas de investigación CYTED para productos naturales administrados por vía oral.⁽⁵⁴⁾

Tabla N° 7 Clasificación de toxicidad según CYTED.⁽⁵⁴⁾

Categoría	LC ₅₀ -µg/mL
Extremadamente tóxico	1-10
Altamente tóxico	10-100
Moderadamente tóxico	100-500
Ligeramente tóxico	500-1000
No toxico	1000-1500
Relativamente inocuo	≥1500

En la tabla N° 8. Se presenta el resumen general de resultados de las veinte plantas estudiadas, como se observa todos los resultados son conformes según los criterios estadísticos del intervalo de confianza, error estándar y distribución chi-cuadrado X^2 . La clasificación de toxicidad se realizó mediante la comparación de cada resultado de LC_{50} con las categorías de toxicidad del CYTED.

Tabla N° 8 Resultados de dosis letal media (LC_{50} $\mu\text{g/mL}$), de las veinte muestras

N°	Nombre común	Nombre científico Especies vegetal	LC_{50} $\mu\text{g/mL}$	Intervalo de confianza al 95%		Error estándar de datos	Chi cuadrado X^2	Categoría de toxicidad
1	Baja leche	<i>Euphorbia lancifolia</i>	152.8531	152.7941	152.91208	0.05872	0.2749	Moderadamente tóxico
2	Caña de cristo	<i>Costus scaber.</i>	703.2008	703.1161	703.28544	0.08467	0.3201	Moderadamente tóxico
3	Campanita	<i>Ruellia simplex</i>	222.2720	222.1779	222.36619	0.09417	1.0228	Moderadamente tóxico
4	Flor barbona	<i>Caesalpina pulcherrima L..</i>	153.2062	152.8896	153.54600	0.32821	0.5024	Moderadamente tóxico
5	Flor de muerto	<i>Tagetes erecta L.</i>	65.8551	65.8173	65.89301	0.03786	0.5268	Altamente tóxico
6	Flor manita	<i>Celosia argentea var. Cristata</i>	363.4951	363.3989	363.59117	0.09612	0.1518	Moderadamente tóxico
7	Falso ruibarbo	<i>Jatropha podagrica Hook</i>	146.3176	146.2661	146.36908	0.05151	0.3484	Moderadamente tóxico
8	Flor azul	<i>Ageratum conyzoides</i>	119.5701	119.4857	119.65442	0.08435	0.0957	Moderadamente tóxico
9	Flor de China	<i>Impatiens balsamina L</i>	213.9182	213.7867	214.04961	0.13144	0.5538	Moderadamente tóxico
10	Golondrina	<i>Euphorbia hirta L.</i>	92.4754	92.4233	92.52748	0.05209	0.4659	Altamente tóxico
11	Guayaba	<i>Psidium guajava</i>	478.8287	478.5770	479.08048	0.25176	0.4509	Moderadamente tóxico

Tabla N° 8. Continuación

12	Hoja de aire	<i>Kalanchoe pinnata (Lam.)</i>	110.0245	109.9644	110.08469	0.06015	0.1495	Moderadamente tóxico
13	Hierba de cáncer	<i>Acalypha arvensis Poepp.</i>	76.1984	76.0573	76.33946	0.14109	0.1168	Altamente tóxico
14	Hierba de víbora	<i>Cissampelos pareira L.</i>	68.1963	68.0336	68.35891	0.16264	0.0651	Altamente tóxico
15	Maracuyá	<i>Passiflora edulis Sims</i>	164.6713	164.5464	164.79621	0.12492	0.0626	Moderadamente tóxico
16	Melón agrio	<i>Momordica charantia L.</i>	68.6918	68.6003	68.78336	0.09155	0.1189	Altamente tóxico
17	Pie de venado	<i>Bauhinia variegata L.</i>	71.8375	71.7570	71.91802	0.08049	0.2576	Altamente tóxico
18	Quiebra piedra	<i>Phyllanthus amarus S.</i>	28.8644	28.7597	28.96906	0.10467	0.5657	Altamente tóxico
19	Nim	<i>Azadirachta indica</i>	87.9327	87.8829	87.98244	0.04975	0.9358	Altamente tóxico
20	Nopal	<i>Opuntia cf. cochenillifera (L.)</i>	91.4292	91.2743	91.58405	0.15486	1.3217	Altamente tóxico

A modo de interpretar los resultados, se observa un comportamiento inversamente proporcional de la LC₅₀, por tanto, a concentraciones bajas que van desde (1-10 µg/mL) la planta es extremadamente tóxica, y a medida la LC₅₀ es mayor o igual a 1500 µg/mL la planta es relativamente inocua.

Según los resultados, la planta que presentó mayor toxicidad fue: *Phyllanthus amarus S* (Quiebra piedra). La cual presentó un resultado de LC₅₀ 28.8644 µg/mL este resultado demuestra que en bajas concentraciones presenta un alto nivel de citotoxicidad, además la parte área de la planta junto con la raíz pueden tener compuestos químicos que inciden en el resultado. La composición química de las plantas, es la responsable del nivel de toxicidad es necesario realizar estudios de toxicidad a largo plazo.

5.7 Investigación bibliográfica sobre especies vegetales cuyos extractos resultaren tóxicos en el bioensayo de *Artemia salina*

5.7.1 Relación de la composición química con la toxicidad

Las plantas que presentaron una LC₅₀ entre (10-100 µg/mL) fueron clasificadas como altamente tóxicas, analizando la composición química la mayoría de plantas contiene metabolitos secundarios como antraquinonas, alcaloides isoquinólicos, compuesto fenólicos, glicósidos cianogénicos entre otros. Estos compuestos son capaces de desarrollar citotoxicidad en el organismo y pueden estar incidiendo directamente sobre el resultado de LC₅₀, cada compuesto químico al ser ingerido es metabolizado generando efectos nocivos en el organismo.

En el Cuadro N° 11. Se presenta una recopilación bibliográfica de las plantas que resultaron altamente tóxicas, en el cual se detalla los principales usos etnomédicos, composición química y resultados de estudios toxicidad aguda.

Cuadro N° 11. Recopilación bibliográfica de las muestras clasificadas como altamente tóxicas

N°	Nombre científico	Parte utilizada	Usos entomédicos	Composición química	Toxicidad
1	<i>Tagetes erecta</i> "Flor de muerto" (24)	Planta completa	Las flores son utilizadas para aliviar la fiebre, malestares estomacales las hojas se usan como antiséptico	Las hojas contienen cumarinas, la flor contiene antraquinonas y en las raíces se han encontrado compuestos azufrados como bitienilo y tertienilo.	Extracto etanólico de la planta administrado por vía intraperitoneal causó toxicidad en dosis de 0.1 g /kg
2	<i>Euphorbia hirta</i> "Golondrina" (3, 6)	Planta completa con flor	Malestares gastrointestinales afecciones en la piel. La raíz se usa para dolor de muelas	Contiene polifenoles, triterpenos, flavonoides como quercetina y derivados, contiene ácido-fenólico.	Dosis de 400 mg/kg causa degeneración testicular.
3	<i>Acalypha arvensis</i> "Hierba de cáncer" (28,99)	Hojas	Infecciones en la piel con hongos, enfermedades venéreas	Alcaloide no cuaternario Glicósidos cianogénicos antraquinonas y terpenos	Se reportan intoxicaciones por los glicósidos cianogénicos en dosis de 10 g/kg

Cuadro N° 11. Continuación

4	<i>Cissampelos pareira</i> "Hierba de víbora" (14)	Hojas	Tratamiento de dolor de estomago Dolores musculares	Contiene alcaloide Isoquinolicos, Hayatina Alcaloide en raíz llamado Berberina y Cissampareína	Toxicidad en peces en la dosis de 500 ppm, además de toxicidad aguda en dosis de 0.44 mg/kg
5	<i>Momordica Charantia</i> "Melón agrio" (33, 98)	Hojas	Utilizado en diabetes tipo II	En hoja se encuentra alcaloide momordicina alcaloides indólicos. El fruto contiene antraquinonas, además de saponinas	Toxicidad a los 15 días con dosis de 25 mg/kg. afecciones en la respiración y función motora.
6	<i>Bauhinia variegata</i> "Pie de venado" (46, 65)	Hojas	Usado en infecciones de la piel y diabetes	Contiene antocianidinas Saponinas terpenos Flavonoides y fenoles	Efectos tóxicos en dosis de 1000 mg/kg
7	<i>Phyllanthus amarus</i> "Quiebra piedra" (7,53)	Planta completa sin flor	Usado para cálculos renales y vesiculares	Alcaloides del tipo pirrolizidínicos Alcaloides indólicos Flavonoides	Toxicidad en dosis 2 g/kg a las horas de ingestión
8	<i>Azadiractina indica</i> "Nim" (2, 97)	Hojas	Usado como diurético Antihelmíntico y paludismo	Nor-triterpenoide conocido como Azadiractina A posee efecto insecticida	Toxicidad en dosis de 624 µg/mL no se recomienda en estado de gestación
9	<i>Opuntia cochenillifera</i> "Nopal" (12, 36)	Tallos	Contrarresta diabetes, laxante	Los tallos contienen alcaloides, saponinas Taninos y polisacáridos	No se reportan estudios de toxicidad a largo plazo

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

IV. CONCLUSIONES

1. El bioensayo *Artemia salina*, es un método preliminar que permite evaluar la actividad citotóxica a través de resultados de LC₅₀ obtenidos de los extractos de las muestras estudiadas a diferentes concentraciones.
2. Once plantas fueron clasificadas como moderadamente tóxicas y nueve como altamente tóxicas según referencia de CYTED, este nivel de toxicidad está relacionado a los componentes químicos presentes en dichas especies, por tanto, no deben utilizarse por períodos prolongados ni en altas concentraciones
3. Para obtener resultados confiables de citotoxicidad, es necesario desarrollar el bioensayo de *Artemia salina* en condiciones homogéneas tales como: oxigenación y luminosidad constante y mantener la temperatura a 30 °C y con salinidad del 35% para eclosionar los quistes
4. Las hojas de *Euphorbia lancifolia* (Baja leche), son utilizadas, para incrementar la leche materna durante el período de lactancia, sin embargo, según los resultados de esta investigación el tallo de la planta está clasificado como moderadamente toxico y no debe ser utilizado.
5. Los tallos de *Opuntia cf. cochenillifera* (Nopal), son empleados para el tratamiento de la diabetes y problemas de obesidad, basándose en los resultados obtenidos de la LC₅₀ es necesario evitar el consumo hasta que se garantice la dosis a la cual es inocua.
6. *Phyllanthus amarus* S. (Quiebra piedra), se utiliza como tratamiento para la eliminación de cálculos renales, vesiculares, antiinflamatorio y diurético. En

la investigación se utilizó el extracto de la planta completa, la cual presentó un alto nivel toxicidad con una concentración de LC_{50} 28.8644 $\mu\text{g/mL}$ relacionándolo con la composición química los alcaloides pirrolizidínicos podrían estar incidiendo en el resultado.

7. Los frutos de *Momordica charantia* (Melón agrio), son comercializados para reducir los niveles de glucosa en sangre. Mediante el bioensayo se obtuvo un resultado de LC_{50} 68.6918 $\mu\text{g/mL}$, por lo que se clasificó como altamente tóxica, por lo cual se sugiere tener cuidado en la dosis a utilizar de este fruto.
8. Las flores de *Tagetes erecta* (Flor de muerto), son utilizadas para el tratamiento de problemas estomacales, febriles, resfriado. Sin embargo, los resultados obtenidos del extracto a base de la planta completa demuestran una elevada toxicidad.
9. A partir de este estudio se ha confirmado, que la citotoxicidad se encuentra estrechamente relacionada a la composición química de las plantas medicinales, nueve plantas estudiadas fueron clasificadas según referencia del CYTED como altamente tóxicas, por tanto, es necesario alertar a la población que se abstenga en consumir y utilizar empíricamente dichas plantas.
10. A partir del método estadístico Probit, se ha confirmado que todos los resultados de LC_{50} son confiables debido a que cumplen con los parámetros del error estándar, distribución Chi- X^2 e intervalo de confianza al 95%.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

VII. RECOMENDACIONES

1. Los quistes que serán utilizados en el bioensayo, deben ser de la misma procedencia y de alto porcentaje de eclosión, además, deben estar respaldados por medio de control de calidad que garantice que están libres de contaminantes.
2. Que en futuras investigaciones se realicen ensayos de toxicidad aguda y crónica a aquellos extractos que resultaron altamente tóxicos con el objetivo de establecer con mayor certeza el nivel de toxicidad.
3. Que la sustancia que se utilice como control de mortalidad, debe ser una sustancia química, a la cual se le haya determinado previamente su respectivas LC_{50} para garantizar los valores de citotoxicidad de las muestras en estudio.
4. En vista de la cantidad de plantas medicinales que son utilizadas por la población, se hace necesario determinar la concentración letal media de dichas plantas, con la finalidad de evaluar el nivel de toxicidad y garantizar la salud de la población.
5. Basándose en las diferentes aplicaciones del bioensayo de *Artemia salina* es necesario implementar esta metodología para conocer el nivel de toxicidad (LC_{50}) de yacimientos de agua, agua residual y contaminación de agua por metales pesados

BIBLIOGRAFIA

1. Avula, B., Wang Y. (2012). Simultaneous determination of alkaloids and flavonoids from aerial parts of *Passiflora* species and dietary supplements using UPLC-UV-MS and HPLC Rev. Natural C. 7(9) 1177-1180.
2. Angulo Escalante, Gardea Béjar A. (2010). Contenido de Azadiractina en semillas de Nim *Azadirachta indica* A. Colectada en Sinaloa México. Revista de Fitoquímica mexicana Vol 27 (4). 305-311.
3. Asha, B., Deevika B. (2014). *Euphorbia pilulifera hirta* a review on traditional uses, Phytochemistry and Pharmacology, Word Journal of Pharmaceutical Research, volumen 3(4)
4. Alvarenga, C. y Córdova. F. M. (2003). Investigación de la Actividad de las Fracciones de los Extractos de cinco Especies Vegetales Mediante el Bioensayo de *Artemia salina*. Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia.
5. Bhushan Bhaskarwar and Prakash Itankar. (2008). Evaluation of antimicrobial activity of medicinal plant *Jatropha podagrica* Hook, Vol. 13 (3873-3877) Roumaian Biotechnological letters, Bucharest University, Department of Pharmaceutical Sciences.
6. Basma, Arra, A. Zuraini, Z. (2011). Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. 386-390, Asian Pacific Journal of Tropical Medicine,
7. Bagalkotkar, G., Sagineedu, S. (2010). Phytochemical from *Phyllanthus niruri* L. and their pharmacological properties: a review Pharmacy learning Center
8. Bar, Esther, M. (2010). Reproducción y desarrollo del sub-Phylum *Crustaceae*, Biología de Artrópodos.
9. Cruz Barahona, y Saenz Zelada M. (2002). Determinación de la bioactividad de extractos de 25 especies vegetales mediante interacción con ADN por cromatografía líquida de alta resolución, Facultad de Química y Farmacia Universidad de El Salvador.

10. Cuellar Rodríguez, E. (2011). Evaluación del baja leche *Euphorbia lancifolia* sobre la producción lacta de cabras encastadas saanen, Universidad de El Salvador, Facultad de agronomía.
11. Delgado Rodríguez, (2016). Evaluación in vitro de la actividad antioxidante, antimicrobiana y citotóxica de los extractos alcohólicos de tres plantas del género Impatiens Balsaminaceae, Universidad de Costa Rica, Facultad de Farmacia.
12. Encalada S. A. (2016). Determinación de Flavonoides y actividad antioxidante de Cladodios de Nopal *Opuntia ficus indica*, Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
13. Cárdenas Ramírez, Mejía I. (2013). Vegetal species studied by their antimicrobial, immunomodulatory and hypoglycemic properties in Caldas-Colombia, South America, Biosalud, Volumen 12, 59-82.
14. Chandana Venkateswara, R. (2016). Toxicological screening of traditional medicine *Cissampelos pareira* in experimental animal. Journal of Ethnopharmacology, Elsevier. Vol. 116, 454-460, India.
15. Chasanah; U. Rachmawati H. (2012) Anti cáncer pre-screening for several plant using brine shimp lethality test, Proceeding of international Conference on drug Development of Natural Resources.
16. Cea Lemus, O. y Herrera Amaya, W. (2002). Determinación de la bioactividad citotóxica de 25 especies vegetales de uso materno infantil mediante ensayo simple con *Artemia salina*, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
17. Cañas Custodio, A y Ramírez Avendaño J. (2003). Determinación de la bioactividad citotóxica in vitro de extractos de veinticinco especies vegetales mediante el ensayo con *Artemia salina*, Facultad de Química y Farmacia Universidad de El Salvador.
18. Castillo Morales, G. (2014). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas, Estandarización intercalibracion de métodos. México.

19. Camones I., Poma Guija, E. (2015). Efecto hipoglicemiante de los extractos acuosos y etanólicos de *Psidium guajava* L. en ratas diabéticas inducidas por aloxano. Centro de Investigación de Bioquímica y nutrición, Instituto de Investigación.
20. Cea, P. y Lazo, J. F. (2010). Ensayo de *Artemia salina* útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y Químicos de productos naturales. Rev. Protección Veg. Vol. 22 No. 1: (34-43). La Habana Cuba.
21. Choussy F. Flora Salvadoreña 2° Edición Editorial Universitaria El Salvador Volumen II tomo III. 1977.
22. Elgindi M. (2015) Phytochemical and biological of *Ruellia brittoniana*, Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical, Department of Pharmacy Russian University.
23. Fuente Fernández, S. (2010). Aplicaciones de la Chi Cuadrado Tablas de Contingencia, homogeneidad Dependencia e Independencia. Universidad Autónoma de Madrid. Departamento de Economía Aplicada. España.
24. Francielli Oliveira, P., Morias Alves, J. (2015). Cytotoxicity screening of essential oils in cancer cell lines of *Tagetes erecta*. Elsevier, Brazilian Journal of Pharmacognosia 25 183-188.
25. Fresno, R. (2019). Producción del crustáceo *Artemia salina*, Proyecto de innovación en Región de Higgins, Fundación para la Innovación Agraria Ministerio de Agricultura Chile.
26. Garcés Llantín, J. (2019). Efecto de la alimentación y exposición a la luz ultravioleta en la supervivencia de *Artemia salina*, Universidad Interamericana de Puerto Rico, Departamento de Biología, Química y Ciencias Ambientales. Puerto Rico.
27. Guillen Luna, y Hernández Guzmán. (2016). Determinación de la toxicidad sub crónica del extracto n-hexanico de las hojas de *Calea urticifolia* (Juanislama) en ratones NIH. Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador

28. Gupta, M.P (1995). 270 plantas Medicinales Iberoamericanas 1° Edición, Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo CYTED subprograma de química farmacéutica 1° edición Editorial Ltda Bogotá Colombia.
29. Hill Robert A. (2013). Triterpenoids, View Journal RCS Publishing. (29) 780-818.
30. Inocente Camones, M. Poma G. (2015). Efecto hipoglicemiante de los extractos acuosos y etanólicos de *Psidium guajava* (Guayaba) en ratas diabéticas inducidas por aloxano, Horiz-Med. 15(2), 41-48.
31. Kumar Sunil, Singh Awantika. (2017). Identification and characterization of phenolics and terpenoides from ethanolic extracts of *Phyllanthus* species by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS, Journal of Pharmaceutical Analysis (7) 214-222 Science Direct.
32. Kumar, P. Singh. (2013). Phytochemical study and screening for antimicrobial of flavonoids of *Euphorbia hirta*. 3(2) US National Library of Medicine Institutes of Health.
33. Kumar Sathish. (2011). A medicinal potency of *Momordica charantia* vol. 1 (18), College of Pharmacy, Nalgonda.
34. López Sánchez, Cristhian S. (2013). Elaboración de una colección de referencia y fortalecimiento de la información botánica y farmacognosia de 31 especies de plantas medicinales utilizadas en la elaboración de medicina natural, Universidad de El Salvador Facultad de Química y Farmacia.
35. Matiz, E. (2011). Actividad antiinflamatoria de las Hojas y Flores de (Flor barbona) *Caesalpinia pulcherrima* L. Revista de la Universidad de Santander. Revista de Farmacognosia vol. 43 (3), Colombia.
36. Manpreet, K. A. (2012). Pharmacological actions of *Opuntia ficus indica* a Review, Journal of Applied Pharmaceutical Science 02(07) 15-18.
37. Manoj K. (2011). Anti-inflammatory and antinociceptive activity of pods of *Caesalpinia pulcherrima*. Journal of Applied Pharmaceutical Science (7) 180-184, Department of Pharmaceutical Tamil India.

38. Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45, 31-34.
39. Morales Castillo, G. (2014). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. Universidad de Chile.
40. Moraga, C. y Ávila, P. (2015). Salinidad y temperatura óptimas para la reproducción ovípara y desarrollo de *Artemia salina*, IDESIA, volumen 33, (1), 85-92, Santiago de Chile.
41. Moscote Flórez, y Arley Rincón. (2012). Modelo Logit y Probit en casos de aplicación, Estadística vol. 5 (2), Universidad Santo Tomas, Bogotá Colombia.
42. Nagar Yamuna. (2011). Isolation of stigmasterol and β -sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 3. India.
43. Nagaratna A, Prakash L. (2015). *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. *Journal of Medical Plants Studies*, 3(5), 166-171.
44. Numo Simoes. (2011). Diversidad de Crustáceos en Yucatán, Biodiversidad y Desarrollo humano. México.
45. Okwu, D. y Nnamdi, F. (2011). Two Novel Flavonoids from *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. and their antimicrobial Activity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(2).
46. Pizzolatti, G., Cunha A. (2010) Flavonoids glycosides from leaves and flowers of *Bauhinia forticata*, Department de Pharmacognosy.
47. Planter. Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la Flora Salvadoreña, El Salvador 1989.
48. Pineda, Cornejo y Pinto, Cisneros, A. (2013). Recopilación de información de treinta y una Plantas Medicinales Utilizadas en la Fabricación de Productos Naturales y Elaboración de un Herbario. Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia.

49. Polanco, C. (2011). Evaluación de la respuesta inhibitoria de los compuestos activos de *Costus scaber* y *Cecropia peltata* sobre *Klebsiella pneumoniae* y *Streptococcus mutans* presentes en la cavidad bucofaríngea revista de Farmacognosia Vol. 6. Colombia.
50. Pawan Nagar K. (2018). Screening of Guayaba *Psidium guajava* Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 7(5), 1104-1108.
51. Pastorino, Inés. (2013). Caracterización morfológica y reproductiva de Artemia Crustacea branchipoda Anostraca de la Laguna Colorada Chica, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
52. Ponce Maza, J. (2011). El uso de Ixbut *Euphorbia lancifolia* en la producción láctea en bovinos de doble propósito en El Chal, Dolores Petén, Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia, Guatemala.
53. Porto, R., Soares A., Souza P. (2013). Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Phyllanthus amarus* spray-dried standardized extract. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 23(1), 138-144
54. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación para productos administrados por vía oral, Colombia CYTED (1995).
55. Ravinder Kaur. (2015). Anxiolytic potential of methanol extract (Asteraceae) *Ageratum conyzoides* leaves, Journal de Pharmacognosy Vol. 4 department of Pharmaceutical sciences, Pharmacognosy and Phytochemistry Laboratory, India.
56. Rajni Ranjan B. (2013). Pharmacognostic and phytochemical investigation of *Celosia argentea L.* International Research Journal of Pharmacy 4(6).
57. Rivera Reyes, A. (2013). Comparación de seis dietas diferentes de microalgas locales para el crecimiento de *Artemia salina*. Tesis de especialista en Ciencias Marinas y Costeras Orientación en Acuicultura. Universidad autónoma de Baja California Sur.

58. Rivas Morales, C., Oranday Cárdenas M. (2016). Investigación en Plantas de Importancia Médica, Universidad Autónoma de Nuevo León, OmniaScience. México.
59. Rangel Davalos C. (2013). Comparación de seis dietas de microalgas y crecimiento de *Artemia salina* Universidad Autónoma de Baja California Sur Área de Ciencias del Mar, Departamento de Biología Marina.
60. Rodríguez González, M. (2014). Indicadores críticos en las pruebas de toxicidad en animales de laboratorio, volumen 35, (2) Departamento de Farmacología y Toxicología, centro de productos naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas La Habana Cuba.
61. Repetto Jiménez, M. y Repetto Kuhn, G. (2019). Toxicología Fundamental 4^o Edición, Capítulo (8), 419-425. Sevilla España.
62. Ruiz Pérez, O. (2018). Caracterización de diversas poblaciones de *Artemia* desde el punto de vista de su composición en ácidos grasos y de sus patrones moleculares, Universidad de Valencia, departamento de biología animal.
63. Salgado Leu, Italo (2011). La *Artemia salina* y su cultivo, Universidad Nacional de Piura, Facultad de Ciencias, Departamento de Ciencias Biológicas Lima Perú.
64. Sampath C, Holbik M. (2011). Anxiolytic effects of fractions obtained from *Passiflora edulis* Pytother Res 25(6), 789-795.
65. Sousa Menezes. (2017). Hypoglycemic activity of two species *Bauhinia forficata* and *Bauhinia divaricata* L. Journal of Pharmacognosia 17(1) 8-13, Rio de Janeiro Brazil.
66. Surse, N. Shrivastava B. (2014). Pharmacognostic Standardisation of Whole plant of *Celosia argentea*, International Journal for Pharmaceutical, Vol.3 (1-3).
67. Toledo Mendoza, R. A. (2018). Ensayos de toxicidad y actividades biológicas en plantas medicinales, Departamento de Farmacognosia, Facultad de Química y Farmacia Universidad de El Salvador.

68. Zamora N. (2011). *Balsaminaceae, Impatiens balsamina* Flora digital de la selva, Organización para Estudios Tropicales.
69. WHO Organización Mundial de la Salud Retos para la medicina tradicional informe 200-2005- 2014-2023.
70. [www.tlahui.com/medic/medic31/costus scaber.htm](http://www.tlahui.com/medic/medic31/costus%20scaber.htm)
71. <http://www.tropicos.org/Name/34500148> [consultado 12 de septiembre] *Euphorbia lancifolia*
72. <http://www.tropicos.org/Name/34500148> *Costus scaber* [consultado 12 de septiembre]
73. <http://www.tropicos.org/Name/?tab=references> [consultado 12 de septiembre] *Tagetes erecta*
74. <http://www.tropicos.org/Name/?tab=references> [consultado 12 de septiembre] *Ruellia simplex*
75. <http://www.tropicos.org/Name/12801331?tab=references> [consultado de septiembre] *Acalypha arvensis Poepp.*
76. <http://www.tropicos.org/Name/12801331?tab=references> [consultado 20 de septiembre] *Celosia argentea var. cristata (L.) Kuntze*
77. <http://www.tropicos.org/Name/12801331?tab=references> [consultado 20 de septiembre] *Jatropha podagrica Hook*
78. <http://www.tropicos.org/Name/12801331?tab=references> [consultado 20 de septiembre] *Jatropha podagrica Hook*
79. <http://www.tropicos.org/Name/2700026?tab=references> [consultado 20 de septiembre] *Ageratum conyzoides L.*
80. <http://www.tropicos.org/Name/3100102?tab=references> [consultado 20 de septiembre] *Impatiens balsamina L.*
81. <http://www.tropicos.org/Name/12800155?tab=references> [consultado 20 de septiembre] *Euphorbia hirta*
82. <http://www.tropicos.org/Name/12801331?tab=references> [consultado 10 de septiembre] *Psidium guajava L.*

83. <http://www.tropicos.org/Name/8900302?tab=references> [consultado 4 de septiembre] *Kalanchoe pinnata*
84. <http://www.tropicos.org/Name/12800536?tab=references> [consultado 20 de septiembre] *Acalypha arvensis*
85. <http://www.tropicos.org/Name/20600001references> [consultado 12 de septiembre] *Cissampelos pareira L.*
86. <http://www.tropicos.org/Name/references> [consultado 20 de septiembre] *Passiflora edulis Sims*
87. <http://www.tropicos.org/Name/12801331references> [consultado 12 de septiembre] *Momordica charantia L.*
88. <http://www.tropicos.org/Name/12801331> [consultado 22 de septiembre] *Bauhinia variegata L.*
89. <http://www.tropicos.org/Name/12801331references> [consultado 20 de septiembre] *Phyllanthus amarus*
90. <http://www.tropicos.org/Name/12801331/reference> [consultado 21 de septiembre]. *Azadirachta indica*
91. <http://www.tropicos.org/Name/12801331references> [consultado 20 de septiembre] *Opuntia cf. Cochenillifera*
92. [http://www.Ecured/Opuntia cf. Cochenillifera](http://www.Ecured/Opuntia%20cf.%20Cochenillifera) [consultado 12 de noviembre]
93. <http://www.biologia/cursodebotanicatropicala/morfologiavegetal>
94. <http://www.taxonmiavegetal/clasesteoricas1>.
95. <http://www.tjnpr.org/tropicalJournalofNaturalProductsResearch/antiplasmodial> and acute the stem bark of *Caesalpinia P.*
96. [https://eds.b.ebscohost.com/eds/Phyllanthus amarus](https://eds.b.ebscohost.com/eds/Phyllanthus%20amarus) Schumach
97. <http://www.medicinalPlantsoftheworld.com> "Chemical Constituents Traditional and Modern Medicinal Uses".
98. [http://www.antiulcer activity of methanolic extract of *Momordica charantia L.* in rats, Journal of Ethnopharmacology.](http://www.antiulceractivityofmethanolicextractofMomordicacharantiaL.inrats)
99. [http://www.International Journal/anti-inflammatory and activities of *A. arvensis*](http://www.InternationalJournalofAnti-inflammatoryandActivitiesofA.arvensis)

GLOSARIO

- **Actividad inmunomoduladora:** Son sustancias capaces de estimular o deprimir el sistema inmune. Este tipo de sustancia puede modificar (puede aumentar o disminuir) la capacidad del sistema inmune de ejercer una o más de sus funciones, como la producción de anticuerpos, el reconocimiento antigénico, o la secreción de mediadores inflamatorios. ⁽⁶⁰⁾
- **Aguas someras:** Son agua poco profunda de aproximadamente 30 metros. ⁽²⁶⁾
- **Ápice:** Punta o extremo superior de la hoja, puede ser de diferentes formas: redondeado, obtuso, atenuado, truncado, emarginado retuso, acuminado, espinoso. ⁽⁹⁴⁾
- **Braquiópodo:** Film de invertebrados marinos de aspecto similar al de una almeja dotados de tentáculos con funciones de captación de alimento. Son crustáceos pequeños que están prácticamente restringidos agua dulce, aunque algunos habitan en agua salina, estos se caracterizan por tener apéndices en la región torácica. ^(26, 44)
- **Cáliz:** El conjunto de sépalos de una flor forma el cáliz, envoltura floral más externa y corresponde al primer verticilio. ⁽⁹⁴⁾
- **Carcinogénesis:** Origen o producción de cáncer, es la capacidad de un agente de producir una neoplasia, es el proceso de transformación progresiva de las células normales en células malignas. ⁽⁶⁰⁾
- **Cladodios:** Tallo con apariencia de hoja es de forma plana y dilatada. Desempeñan funciones fotosintetizadores, de forma laminar que sustituye a las hojas en sus funciones. ⁽⁹⁴⁾
- **Concentración letal media:** Provoca la muerte del 50% de animales sometidos a ensayos experimentales. ⁽⁶⁰⁾
- **Corola:** Parte donde se sitúan los pétalos, pueden ser dialipétalas pétalos libres, cada uno formado por el limbo. Gamopétalas cuando los pétalos son más o menos connados. ⁽⁹⁴⁾

- **Criptobiosis:** Mecanismo de defensa de organismos acuáticos al estar en ambiente hostil en la cual su actividad metabólica se inactiva, este estado es reversible. ⁽²⁶⁾
- **Crustáceos:** del latín *crusta* integran uno de los grupos zoológicos muy numeroso de especies vivientes es el único subfilo dentro de los artrópodos e incluyen desde la *Artemia* a langostas camarones y cangrejos. Sus dimensiones varían desde los 1.0 mm a 4 metros de longitud diseño anatómico no obstante el gran número de formas existentes presentan caracteres comunes que los distinguen del resto de artrópodos. En los crustáceos predomina la reproducción sexual con sexos separados, aunque puede ser infrecuente el hermafroditismo simultáneo o secuencial. ^(26,94)
- **Dosis letal media:** Dosis única obtenida estadísticamente de una sustancia en la que se espera un 50% de muerte en animales a los que se haya administrado ⁽⁶⁰⁾
- **Espículas:** Son estructuras que se desarrollan en la base de las hojas a partir de los tejidos primordios foliar, pueden ser variables en cuanto a tamaño. ⁽⁹⁴⁾
- **Fototactismo:** Es la respuesta de los animales a variaciones en la cantidad de luz. Los tactismos se denominan de acuerdo al tipo de estímulo. ⁽²⁶⁾
- **Galactagogo:** Sustancia que estimula la producción de leche. Son sustancias que ayudan a iniciar, mantener la producción de leche materna. ⁽⁶⁴⁾
- **Glabro:** Desprovisto de vellosidades, lampiño. ⁽⁹⁴⁾
- **Inflorescencia:** viene del latín *inflorescens* y significa disposición en que nacen agrupadas las flores de un mismo tallo. Hay de dos tipos la simple es decir con una sola flor y compuestas formadas por dos o más flores; las flores sólo pueden hallarse separadas entre sí por brácteas o ser la inflorescencia sin brácteas. ⁽⁹⁴⁾
- **Linfocitos:** El linfocito es una célula que puede ser pequeña y medir de 7 a 8 μm , con un núcleo grande que deja visible sólo una escasa porción del citoplasma, puede o no tener retículo endoplásmico, el aparato de Golgi es

pequeño y la cantidad de mitocondrias y ribosomas es escasa; esta variedad incluye a más del 90% de los linfocitos. ⁽¹⁴⁾

- **Medicina tradicional:** La Organización Mundial de La Salud, define como medicina tradicional como prácticas, enfoques, conocimientos y creencias sanitarias diversas que incorporan medicinas basadas en plantas, animales y/o minerales, terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios aplicados de forma individual o en combinación para mantener el bienestar además de tratar, diagnosticar y prevenir enfermedades. ⁽⁶⁹⁾
- **Morfología vegetal:** Del morfo o forma, se basa en el estudio de la estructura externa; es decir los órganos que componen el cuerpo de la planta, se divide en morfología general que está enfocada a la forma de órganos de las plantas, morfología experimental (origen de las formas vegetales) y anatomía vegetal que estudia la estructura de microscópica de órganos. ⁽⁹⁴⁾
- **Nauplio:** Es el estadio larvario del ciclo biológico de los crustáceos, se lleva a cabo cuando eclosionan los quistes, este periodo dura 30 horas luego pasa a estadios larvales. ⁽⁴⁴⁾
- **Ovíparo:** Es todo organismo que se reproduce a partir de huevos, los cuales son expulsados al medio exterior donde complementan su desarrollo antes de la eclosión, son ovíparos la mayoría de insectos, peces, crustáceos, anfibios y reptiles. ^(26,59)
- **Ovovíparo:** Desarrollo completo de los nauplios dentro del ovario de la hembra este desarrollo prescinde de los quistes. ^(26,59)
- **Partenogénéticas:** Es un tipo de reproducción que ocurre mediante el desarrollo de células sexuales femeninas no fecundadas; se presenta con cierta frecuencia en invertebrados como platelmintos, y crustáceos Braquiópoda. ⁽⁵⁹⁾
- **Pecíolo:** Es el rabillo que une la lámina de una hoja a su base foliar o al tallo.

- **Pedúnculo:** Es la porción del tallo en forma de un eje cilíndrico más o menos desarrollado que sostiene a la flor. ⁽⁹⁴⁾
- **Perenne:** Son plantas que viven tres o más años, se aplica aquellas cuyos órganos aéreos son anuales de modo que se mantienen vivas de un año a otro por la supervivencia de sus rizomas bulbos etc. ⁽⁹⁴⁾
- **Queratinocitos:** Son las células más numerosas de la epidermis y del folículo piloso. Son las encargadas de sintetizar la queratina o bien en la capa córnea o bien en el tallo pilar. ⁽⁶⁰⁾
- **Taxonomía vegetal:** Taxonomía es la ciencia que trata los principios de la clasificación de los seres vivos. ⁽⁹⁴⁾
- **Teratogénesis:** Es la alteración morfológica, bioquímica o funcional inducida durante el embarazo que es detectada durante la gestación en el nacimiento o en la posteridad. ⁽⁶⁰⁾
- **Saco vitelino:** El saco vitelino es una estructura embrionaria que se forma durante el desarrollo temprano del embrión. ⁽⁵⁹⁾
- **Vitelo:** Reserva nutritiva contenida en los embriones la parte del citoplasma del cigoto que contiene elementos nutritivos tales como lípidos gránulos de carbohidratos y es aportado en su mayoría por el óvulo. ⁽⁵⁹⁾

ANEXOS

ANEXO N° 1

RECOLECCION DE MUESTRAS VEGETALES

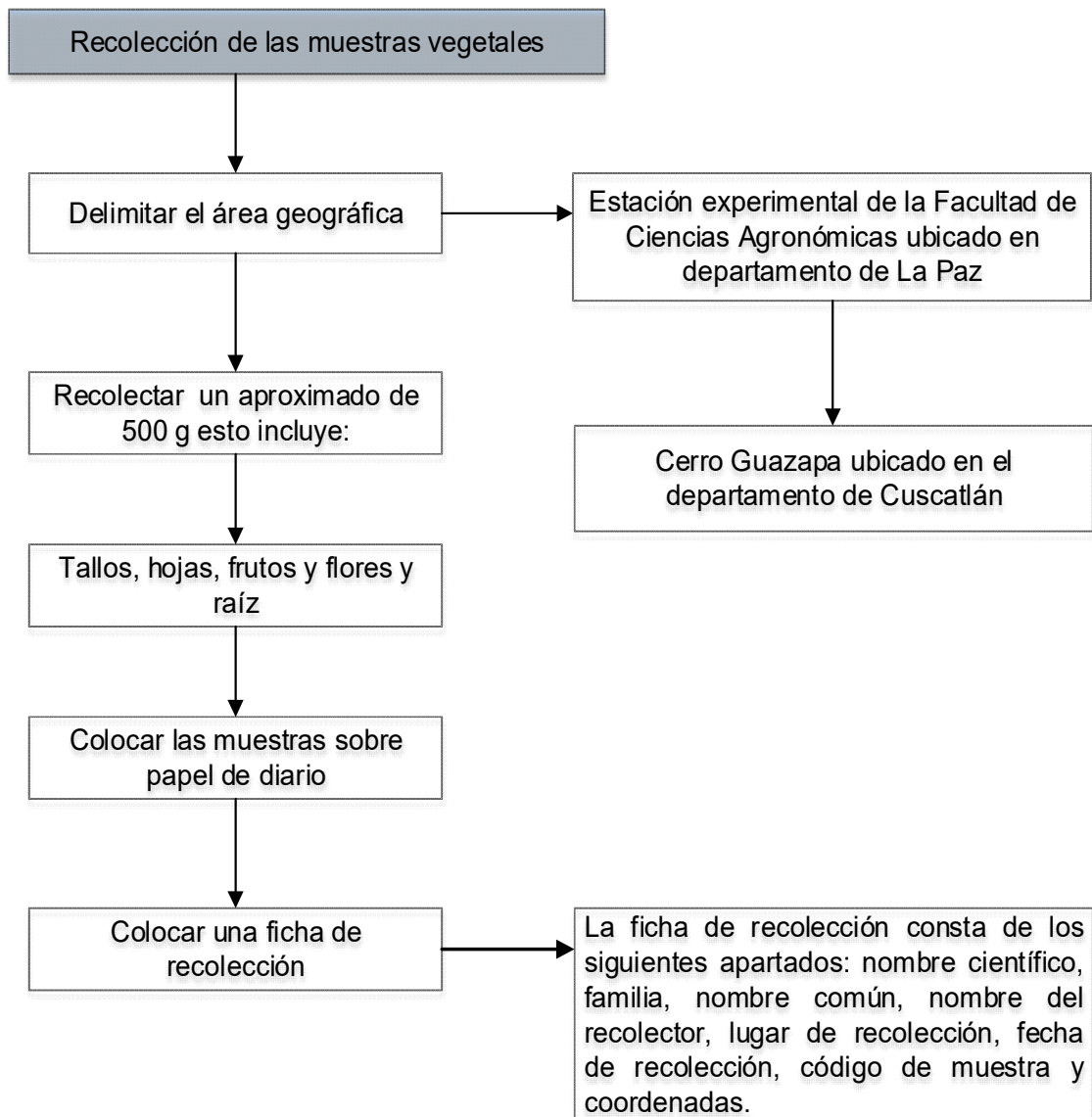


Figura N° 36. Esquema de recolección de muestras

ANEXO N° 2

FICHA DE RECOLECCION





Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico:
Familia:
Nombre común:
Nombre del recolector:
Lugar de recolección:
Fecha de recolección:
Código de muestra
Coordenadas:

ANEXO N° 3
MUESTRAS DE PLANTAS RECOLECTADAS



	Universidad de El Salvador Facultad de Química y Farmacia Ficha de recolección	
Nombre científico: <i>Euphorbia lancifolia</i>		
Nombre común: baja leche		
Familia: <i>Euphorbiaceae</i>		
Lugar de recolección: Centro de Lactancia Materna. CALMA, Final 67 Avenida Sur, Pasaje "A" N° 3, Colonia Roma, San Salvador		
Fecha de recolección: /11/18 Hora: 3:00 pm		
Nombre de recolector: Mariana Bautista		
Código de muestra: BL011		
Coordenadas: 13°41'21.7" N		



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Costus scaber*.
Nombre común: Caña de cristo
Familia: Costaceae
Lugar de recolección: Estación experimental de ciencias agronómicas, San Luis Talpa
Fecha de recolección: 1/11/18 Hora: 9:00am
Nombre del colector: Mariana Bautista
Código de muestra: CS022
Coordenadas: 13° 54' 0" N, 89° 7' 12" W



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia



Nombre científico: *Ruellia simplex*

Nombre científico: Campanita

Familia: *Acanthaceae*

Lugar de recolección: Cerro guazapa, Cuscatlán



Fecha de recolección: 3/11/18 Hora: 9:00am

Nombre de recolector: Mariana Bautista

Código de muestra: RSO22

Coordenadas: 13°54'N 89°07'O



	Universidad de El Salvador Facultad de Química y Farmacia Ficha de recolección	
Nombre científico: <i>Caesalpinia pulcherrima</i> L.		
Nombre común: Flor barbona		
Familia: <i>Fabaceae</i>		
Lugar de recolección: Cerro guazapa, Cuscatlán		
Fecha de recolección: 3/11/18 Hora 9:00am		
Nombre de recolector: Mariana Bautista		
Código de muestra: CP044		
Coordenadas: 13°46'54"N		



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Tagetes erecta* L.
Nombre común: Flor de muerto
Familia: *Asteraceae*
Lugar de recolección: Cerro guazapa Cuscatlán
Fecha de recolección: 3/11/18 Hora 10:00 am
Nombre de recolector: Mariana Bautista
Código de muestra: TE055
Coordenadas: 13°54'N 89°07'O



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Celosia argentea* var. *Cristata*
Nombre común: Flor manita
Familia: Amaranthaceae
Lugar de recolección: Cerro Guazapa, Cuscatlán
Fecha de recolección: 3/11/18 Hora 9:00am
Nombre de recolector: Mariana Bautista
Código de muestra: CA056
Coordenadas: 13°54'N 89°07'O



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Jatropha podagrica* Hook

Nombre común: Falso ruibarbo

Familia: *Euphorbiaceae*

Lugar de recolección: Cerro guazapa

Fecha de recolección: 1/11/18 Hora 10 am

Nombre de recolector: Mariana Bautista

Código de muestra: JP066

Coordenadas: 13°54'N 89°07'O



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Agregatum conyzoides*
Nombre común: Flor azul
Familia: Asteraceae
Lugar de recolección: Planta experimental Ciencias Agronómicas
Fecha de recolección: 1/11/18 **Hora:** 10:00am
Nombre de recolector: Mariana Bautista
Código de muestra: AC077
Coordenadas: 13° 54' 0" N, 89° 7' 12" W



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Impatiens balsamina* L.
Nombre común: Flor de china
Familia: Balsaminaceae
Lugar de recolección: Planta experimental de Ciencias Agronómicas
Fecha de recolección: 1/11/18 Hora: 11am
Nombre de recolector: Mariana Bautista
Código de muestra: IB088
Coordenadas: 13° 54' 0" N, 89° 7' 12" W



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Euphorbia hirta* L.
Nombre común: Golondrina
Familia: Euphorbiaceae
Lugar de recolección: estación experimental de ciencias agronómicas. San Luis Talpa
Fecha de recolección: 1/11/18 Hora: 11:00am
Nombre de recolector: Mariana Bautista
Código de muestra: EH099
Coordenadas: 13° 54' 0" N, 89° 7' 12" W



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Psidium guajava* L.
Nombre común: Guayaba
Familia: *Myrtaceae*
Lugar de recolección: Cerro guazapa, Cuscatlán
Fecha de recolección: 3/11/18 Hora: 9:00 am
Nombre del colector: Mariana Bautista
Código de muestra: PG010
Coordenadas: 13°54'N 89°07'O



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Kalanchoe pinnata* (Lam.)

Nombre común: Hoja de aire

Familia: Crassulaceae

Lugar de recolección: Planta experimental de ciencias agronómicas, San Luis Talpa

Fecha de recolección: 1/11/18 Hora: 11:am

Nombre de recolector: Mariana Bautista

Código de muestra: KP011

Coordenadas: 13° 54' 0" N, 89° 7' 12" W



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Acalypha arvensis* Poepp.

Nombre común: Hierba de cáncer

Familia: Euphorbiaceae

Lugar de recolección: Estación experimental de ciencias agronómicas San Luis Talpa

Fecha de recolección: 1/11/18 Hora: 11:00am

Nombre de recolector: Mariana Bautista

Código de muestra: AA012

Coordenadas: 13° 54' 0" N, 89° 7' 12" W



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Cissampelos pareira* L.
Nombre común: Hierba de víbora
Familia: Menispermaceae
Lugar de recolección: Cerro Guazapa Cuscatlán
Fecha de recolección: 3/11/18 **Hora:** 11:00 am
Nombre de recolector: Mariana Bautista
Código de muestra: CP013
Coordenadas: 13°54'N 89°07'O



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Passiflora edulis Sims*
Nombre común: Maracuyá
Familia: Passifloraceae Juss.
Lugar de recolección: Cerro Guazapa Cuscatlán
Fecha de recolección: 3/11/18 Hora 11:00am
Nombre de recolector: Mariana Bautista
Código de muestra: PS014
Coordenadas: 13°54'N 89°07'O



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Momordica charantia* L.

Nombre común: Melón agrio

Familia: Cucurbitaceae

Lugar de recolección: Estación experimental de ciencias agronómicas, San Luis Talpa

Fecha de recolección: 1/11/18 Hora 11:00am

Nombre de recolector: Mariana Bautista

Código de muestra: BV015

Coordenadas: 13° 54' 0" N, 89° 7' 12" W



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Bauhinia variegata* L.
Nombre común: pie de venado
Familia: Caesalpiniaceae
Lugar de recolección: Cerro Guazapa Cuscatlán
Fecha de recolección: 3/11/18 **Hora:** 11:00 am
Nombre de recolector: Mariana Bautista
Código de muestra: BV016
Coordenadas: 13°54'N 89°07'O



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Phyllanthus amarus* S.
Nombre común: Quiebra piedra
Familia: *Euphorbiaceae*
Lugar de recolección: Planta experimental de Ciencias Agronómicas
Fecha de recolección: 1/11/18 **Hora:** 11:00 am
Nombre de recolector: Mariana Bautista
Código de muestra: PA017
Coordenadas: 13° 54' 0" N, 89° 7' 12" W



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Azadirachta indica*

Nombre común: *Min*

Familia: *Meliácea*

Lugar de recolección: Cerro Guazapa Cuscatlán

Fecha de recolección: 30/10/18 Hora: 10:00 am

Nombre de recolector: Mariana Bautista

Código de muestra: AI018

Coordenadas: 13°54'N 89°07'O



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y Farmacia
Ficha de recolección



Nombre científico: *Opuntia cf. cochenillifera* (L.)
Nombre común: Nopal
Familia: Cactaceae
Lugar de recolección: Planta experimental de Ciencias Agronómicas
Fecha de recolección: 1/11/18 Hora: 11:00am
Nombre de recolector: Mariana Bautista
Código de muestra: PC020
Coordenadas: 13° 54' 0" N, 89° 7' 12" W

ANEXO N° 4
PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACION Y
FICHA DE IDENTIFICACION BOTANICA

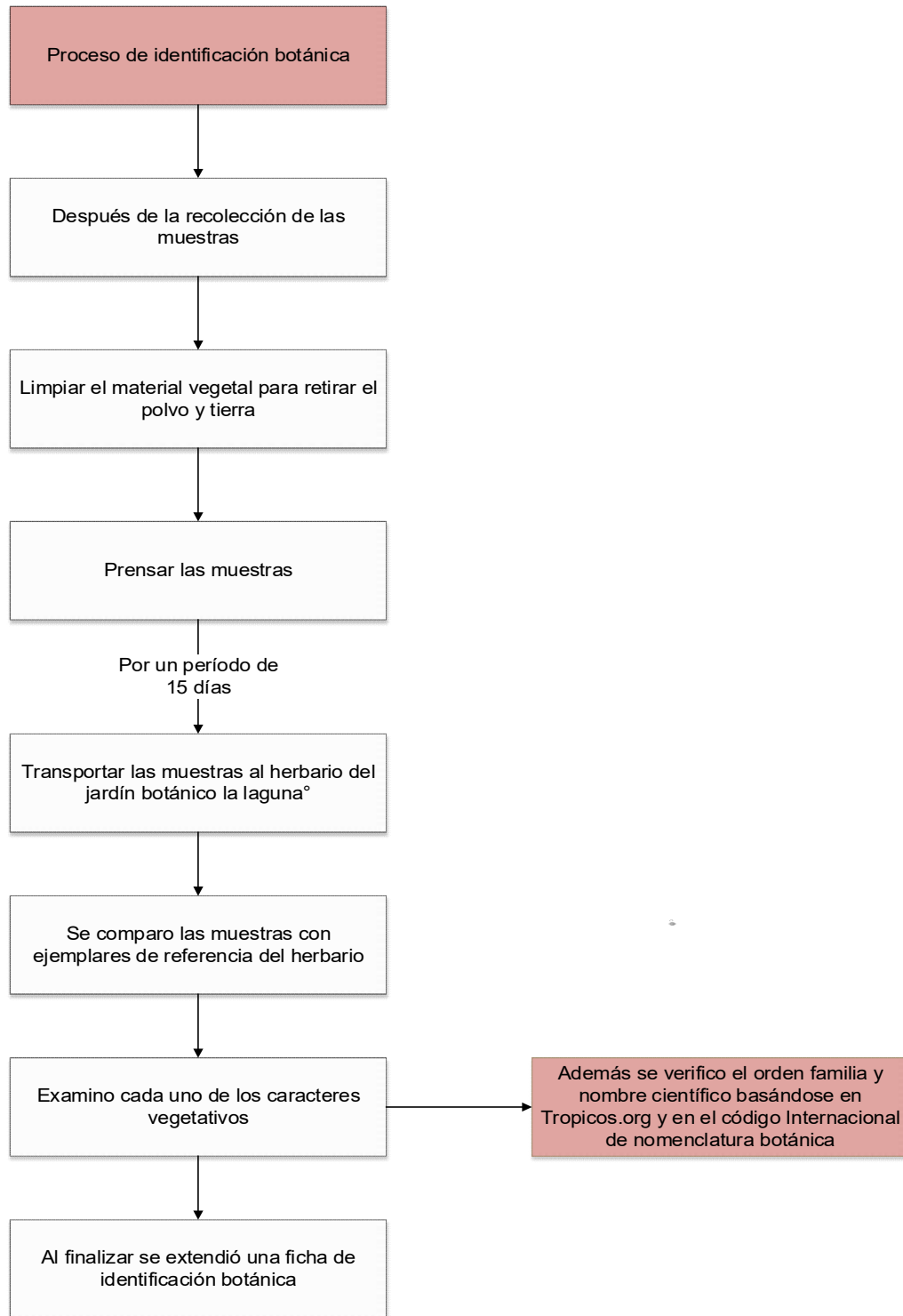


Figura N° 37. Procedimiento de identificación botánica

FICHA DE IDENTIFICACION BOTANICA

Asociación Jardín Botánico La Laguna



Antiguo Cuscatlán, 16 de noviembre de 2018.

MScQ. Sonia Maricela Lemus Martínez
Facultad de Química y Farmacia
Universidad de El Salvador
Presente

Reciba un atento saludo y espero el mejor éxito en las labores que realiza.

La presente es para hacer de su conocimiento que el día de hoy, hizo acto de presencia la estudiante Kelly Mariana Bautista Hernández (Carnet # BH-09012), con 20 muestras botánicas para identificación, para ser utilizadas en el trabajo de tesis denominado "Evaluación de la toxicidad de 20 plantas medicinales utilizadas en la medicina tradicional en El Salvador por medio del bioensayo preliminar con *Artemia salina*".

Esperando que la clasificación ayude en gran manera al trabajo de grado, se detallan las especies de la siguiente manera:

N°	nombre común	Nombre científico	Familia
1	baja leche	<i>Euphorbia lancifolia</i> Schldl.	Euphorbiaceae
2	caña de cristo	<i>Costus scaber</i> Ruiz & Pav.	Costaceae
3	campanita	<i>Ruellia simplex</i> C. Wright	Acanthaceae
4	flor barbona	<i>Caesalpinia pulcherrima</i> (L.) Sw.	Fabaceae
5	flor de muerto	<i>Tagetes erecta</i> L.	Asteraceae
6	flor manita	<i>Celosia argentea</i> var. <i>cristata</i> (L.) Kuntze	Amaranthaceae
7	falso riubarbo	<i>Jatropha podagrica</i> Hook	Euphorbiaceae
8	flor azul	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	Asteraceae
9	flor de china	<i>Impatiens balsamina</i> L.	Balsaminaceae
10	golondrina	<i>Euphorbia hirta</i> L.	Euphorbiaceae
11	guayaba	<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae
12	hoja de aire	<i>Kalanchoe pinnata</i> (Lam.) Pers.	Crassulaceae
13	hierba de cáncer	<i>Acalypha arvensis</i> Poepp.	Euphorbiaceae
14	hierba de vibora	<i>Cissampelos pareira</i> L.	Menispermaceae
15	maracuyá	<i>Passiflora edulis</i> Sims	Dicotiledónea
16	melón agrio	<i>Momordica charantia</i> L.	Cucurbitaceae
17	pie de venado	<i>Bauhinia variegata</i> L.	Caesalpinaceae
18	quiebra piedra	<i>Phyllanthus amarus</i> Schumach. & Thonn.	Euphorbiaceae
19	nim	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	Meliaceae
20	nopal	<i>Opuntia cf. cochenillifera</i> (L.) Mill.	Cactaceae

Atte. Lic. Dagoberto Rodríguez

Lic. en Biología y Curador de Herbario

Urbanización Industrial Plan de La Laguna, Antiguo Cuscatlán La Libertad, Tel. (503) 2243 - 7970 / 2243 - 7968
Email: jardinbotanico@jardinbotanico.org.sv Sitio Web: www.jardinbotanico.org.sv

ANEXO N° 5
MATERIAL Y EQUIPO DE LABORATORIO

CRISTALERIA

- Balones volumétricos de 10 mL, 50 mL, 250 mL
- Vaso de precipitados de 50 mL, 100 mL, 250 mL, 600 mL 1000 mL
- Embudo
- Ampolla de separación de 3 litros
- Pipetas Pasteur
- Agitador
- Probeta de 10 mL y 100 mL
- Tubos de ensayo con rosca
- Micropipetas de 100 μ L, 200 μ L y 300 μ L
- Viales eppendorf de 2 mL
- Cisoles de porcelana

MATERIALES

- Gradilla para tubos de ensayo
- Soporte universal
- Aro mixto
- Bomba de aire para pecera
- Vortéx
- Rotavapor
- Estufa
- Potenciómetro, pH metro
- Molino Hamilton Beach
- Lámpara de 2000 lux
- Papel filtro Whatman #40
- Espátula
- Lupa
- Piedras hidropónicas
- Salinometro

- Gradilla para viales eppendorf
- Balanza analítica
- Balanza granataria
- Desecador
- Hielera
- Bolsas herméticas
- Papel aluminio
- Microscopio
- Estereoscopio
- Cajas metálicas

REACTIVOS

- Sulfato de cobre
- Dimetilsulfóxido
- Agua destilada
- Agua desmineralizada
- Etanol
- Metanol

ANEXO N° 6

PREPARACION DE SOLUCIONES

Preparación de la solución salina (16,17)

1. Pesar 30 gramos de sal de mar y disolver en 500 mL de agua destilada.
2. Mezclar y aforar hasta un litro con agua destilada
3. Medir el porcentaje de salinidad por medio de un refractómetro, el contenido de sal debe estar en al 35% de contenido de sal.
4. Medir el pH de la solución, el cual debe estar arriba de 8.0
5. Esta solución se utilizará únicamente para realizar las diluciones de los extractos.

Preparación de la solución blanco dimetilsulfóxido (16,17)

1. Disolver 50 μ l (0.054 mL) de DMSO en 950 μ L (0.95 mL) de agua destilada agitar y homogenizar.

Preparación del control de mortalidad (CuSO₄) (16,17)

1. Pesar 12.5 mg de sulfato de cobre y transferir a un balón de 50 mL, luego aforar con solución salina y homogenizar

ANEXO N° 7

PREPARACION DEL MATERIAL VEGETAL

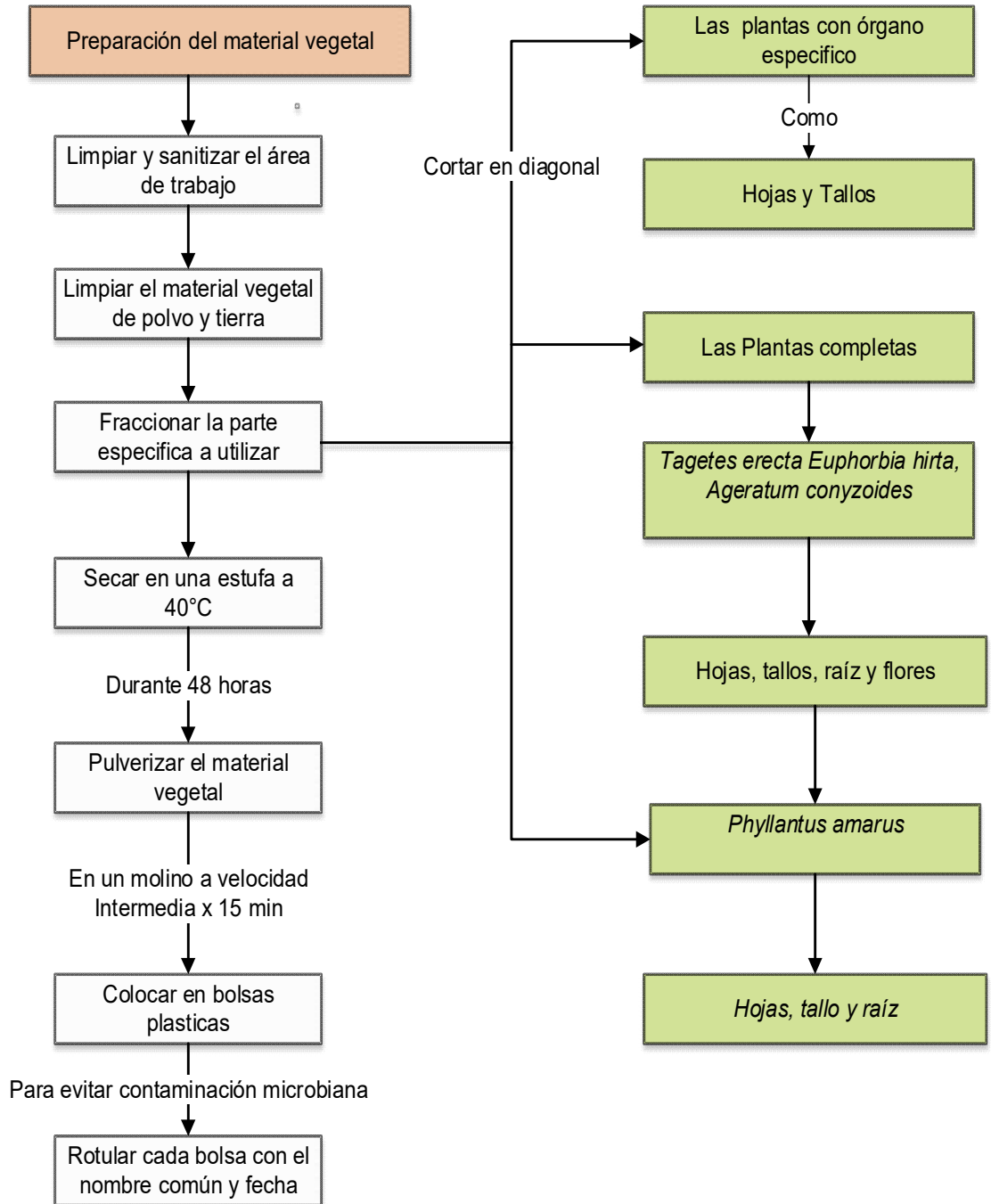


Figura N° 38. Esquema de la preparación del material vegetal

ANEXO N° 8
ESQUEMA DE PREPARACION DE EXTRACTOS SECOS Y
CONCENTRACIONES DE 2000, 200 Y 20 µg/mL

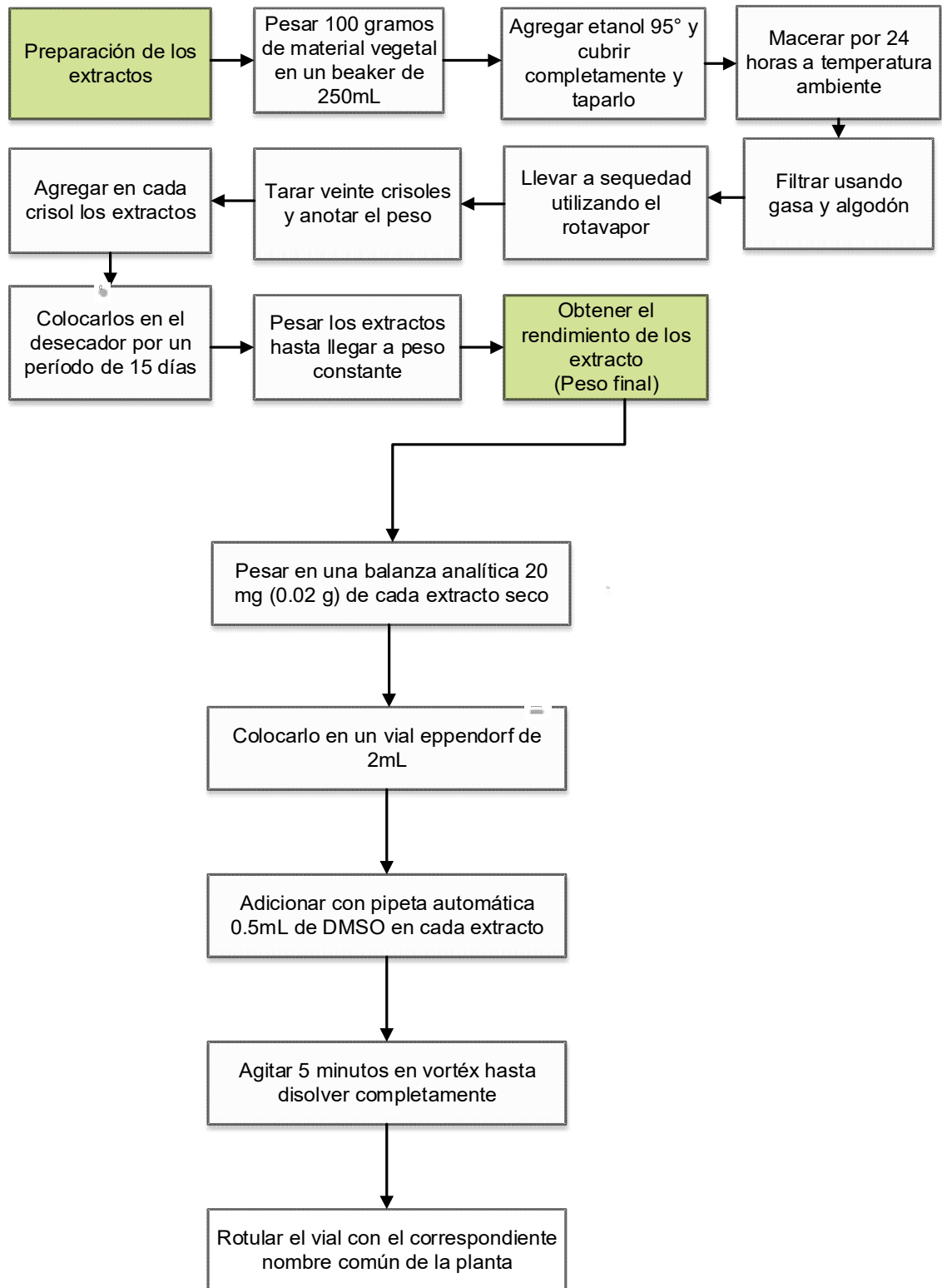


Figura N° 39. Esquema de preparación de los extractos secos



Pesar 100 gramos de material vegetal seco



Macerar por 24 horas a temperatura ambiente



Agregar alcohol al 95° hasta cubrir el material vegetal



Filtrar usando gasa y algodón

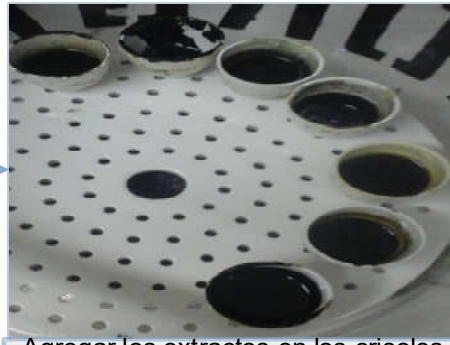


Llevar a sequedad en un rotavapor

Figura N° 40. Preparacion de los extractos



Tarar los crisoles y anotar el peso



Agregar los extractos en los crisoles y colocarlos en un desecador por un período de 15 días



Pesar en balanza analítica 0.02 g (20 mg) de extracto seco



Obtener el rendimiento del extracto (Peso final)



Adicionar con pipeta automática 0.5 mL de DMSO



Agitar en Vortex por 5 minutos y rotular el vial con el nombre común de la planta

Figura N° 40. Continuación

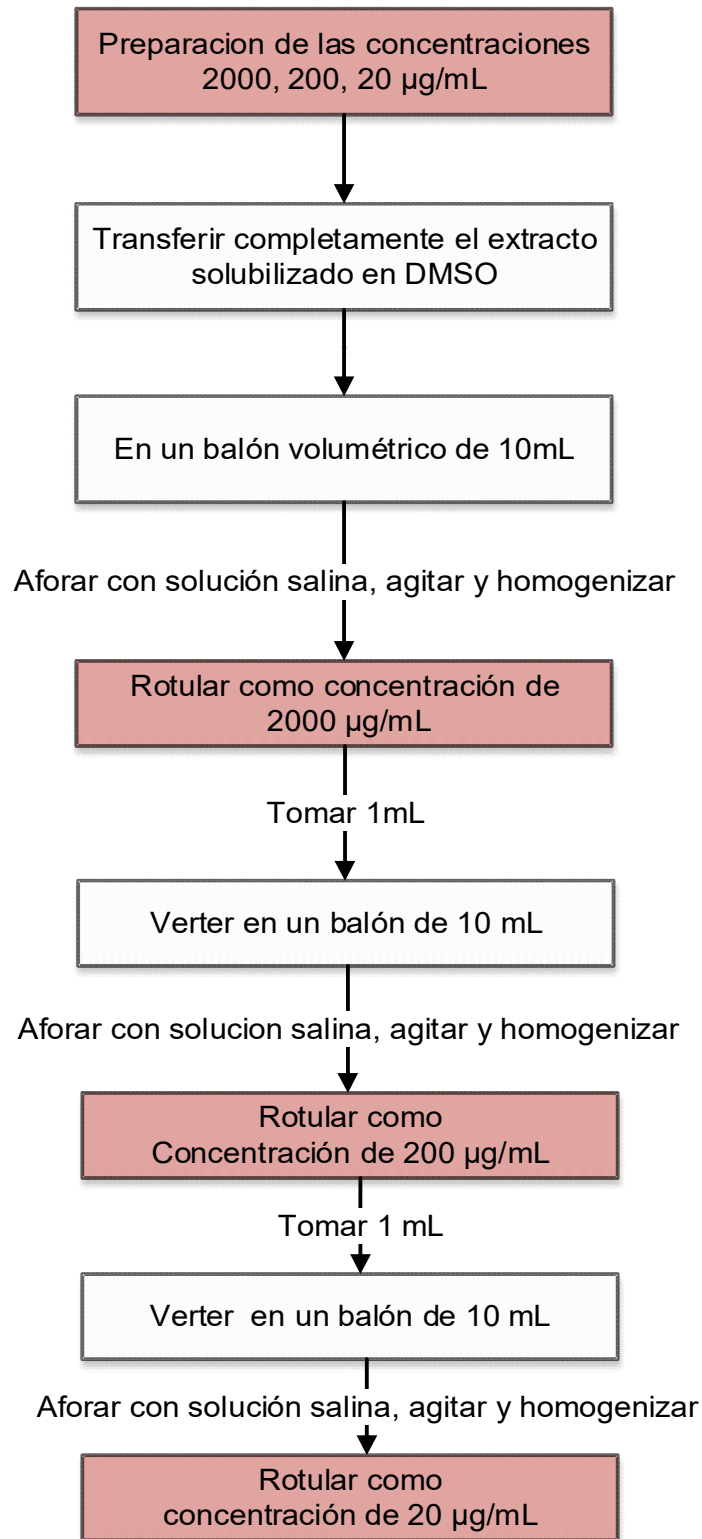


Figura N° 41. Esquema de preparación de concentraciones

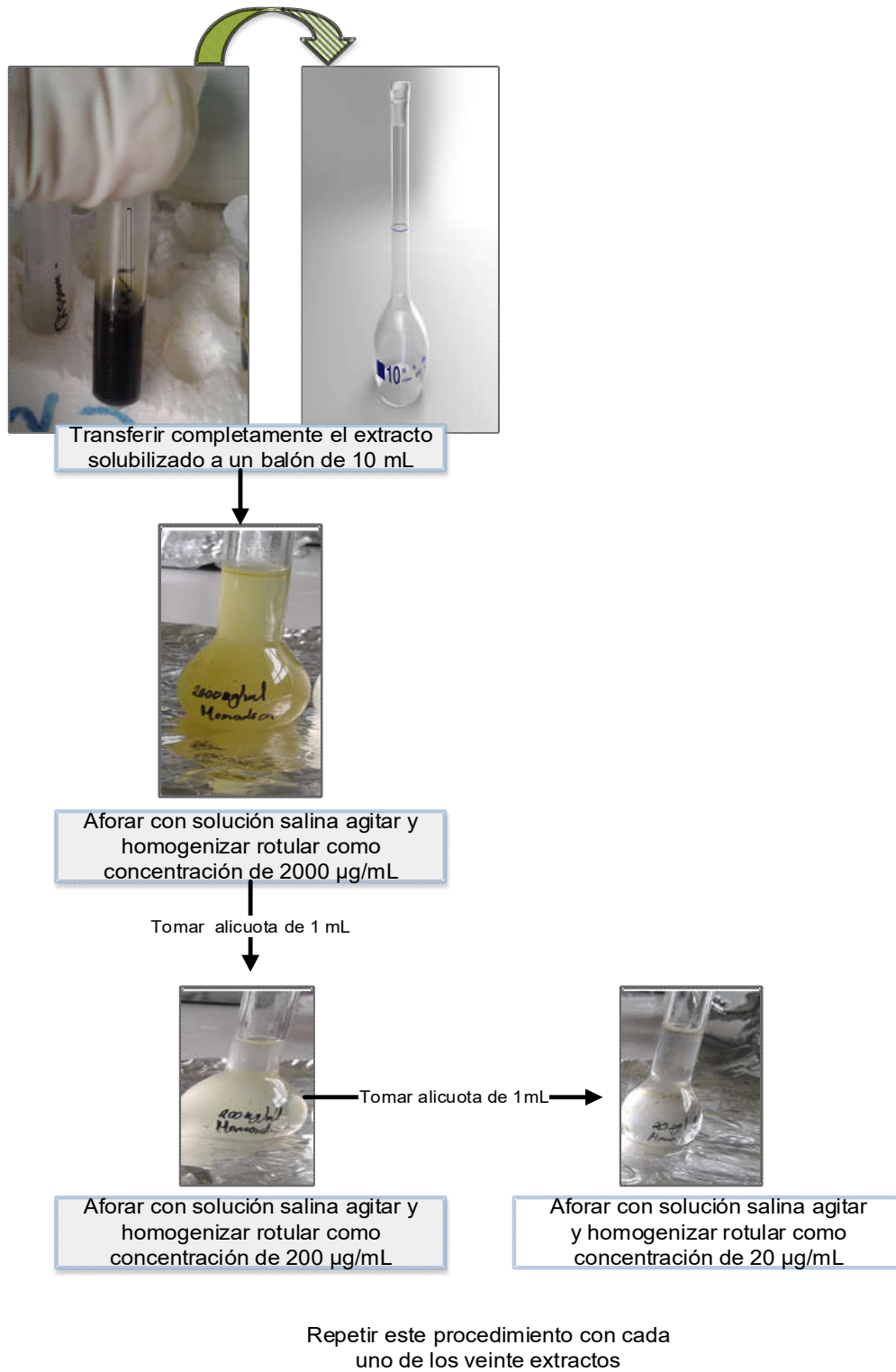


Figura N° 42. Preparación de las concentraciones

ANEXO N° 9

PROCEDIMIENTO DE ECLOSION DE LOS QUISTES DE ARTEMIA SALINA

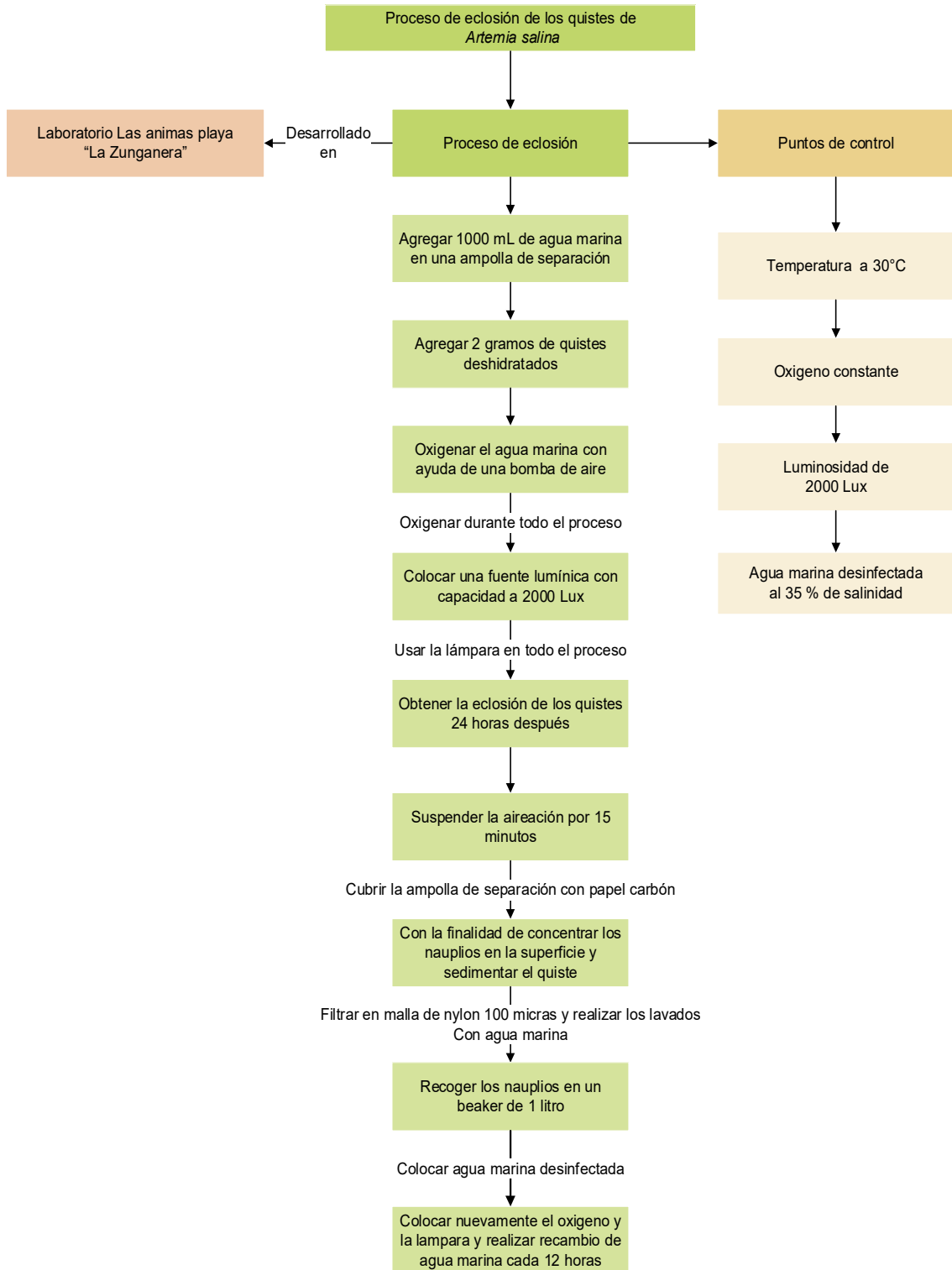


Figura N° 43. Eclosión de los quistes de *Artemia salina*

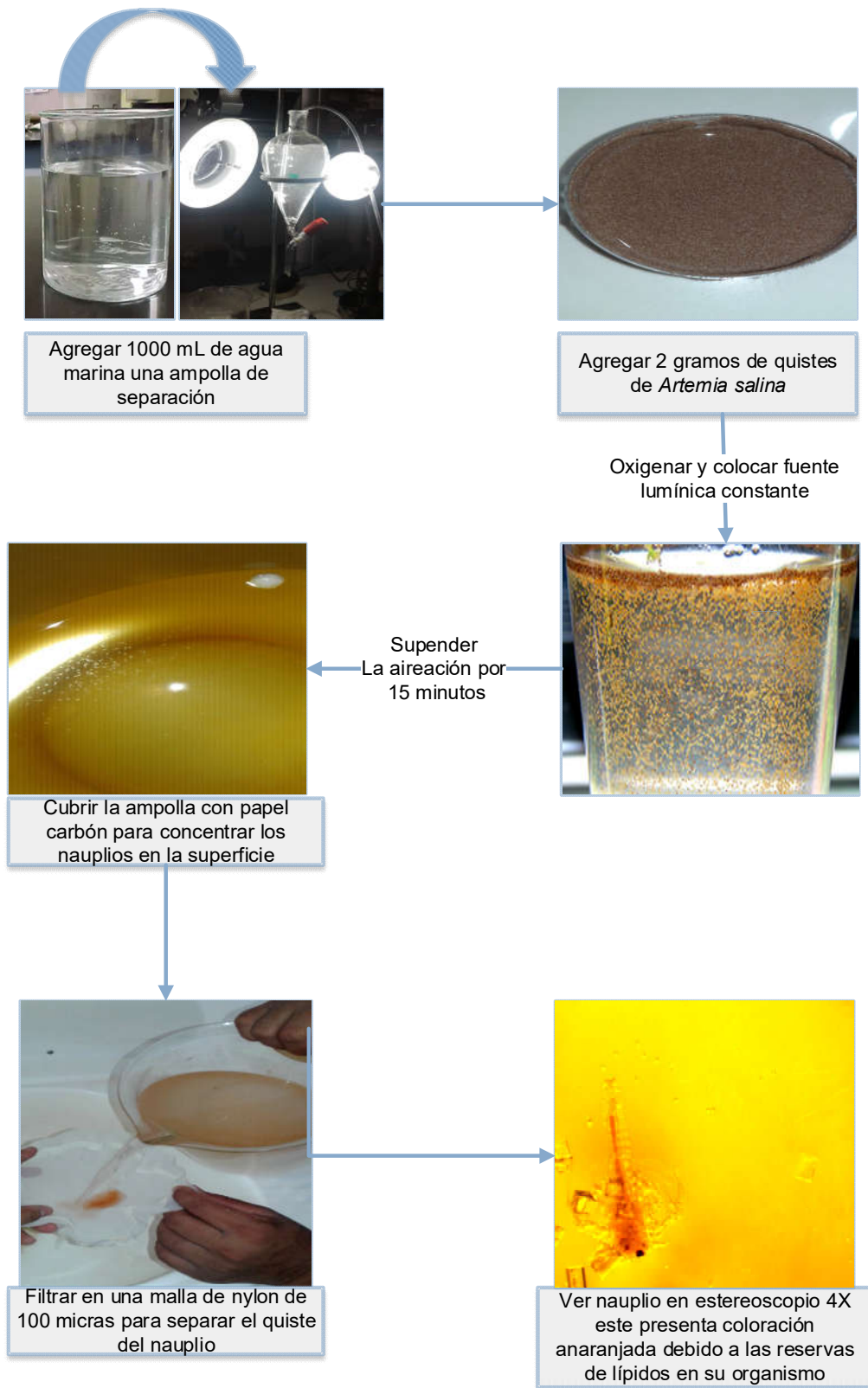
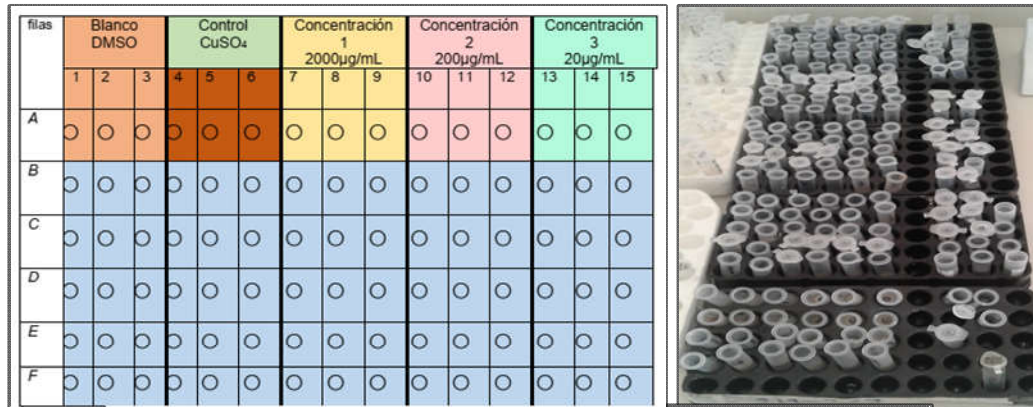


Figura N° 44. Esquema de eclosión de los quistes

ANEXO N° 10

PROCEDIMIENTO DEL BIOENSAYO ARTEMIA SALINA



Colocar los viales eppendorf de 2 mL según el orden



Llenar los viales 1,2,3 con 100 µL de DMSO y los viales 3, 4 y 5 concentración de 100 µL de CuSO₄

Llenar los viales 7,8 y 9 con 200 µL de concentración de 2000 µg/mL

Llenar los viales 10,11 y 12 con 200 µL de concentración 200 µg/mL

Llenar los viales 13,14 y 15 con 200 µL de concentración 20 µg/mL



Figura N° 45. Bioesayo *Artemia salina*

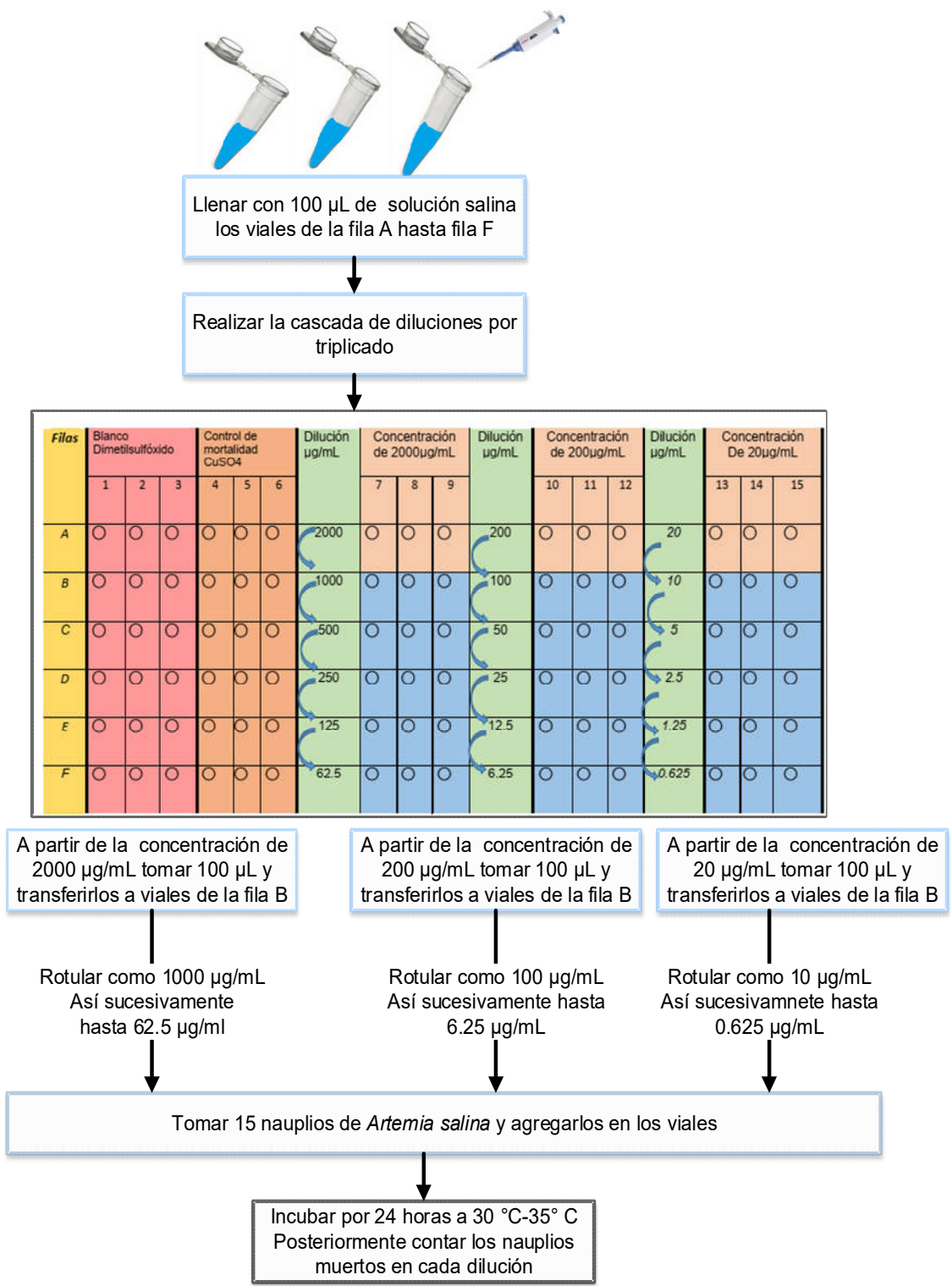


Figura N° 45. Continuación

ANEXO N° 11
ESQUEMA DEL METODO PROBIT Y
RESULTADOS DE MORTALIDAD PARA CADA MUESTRA

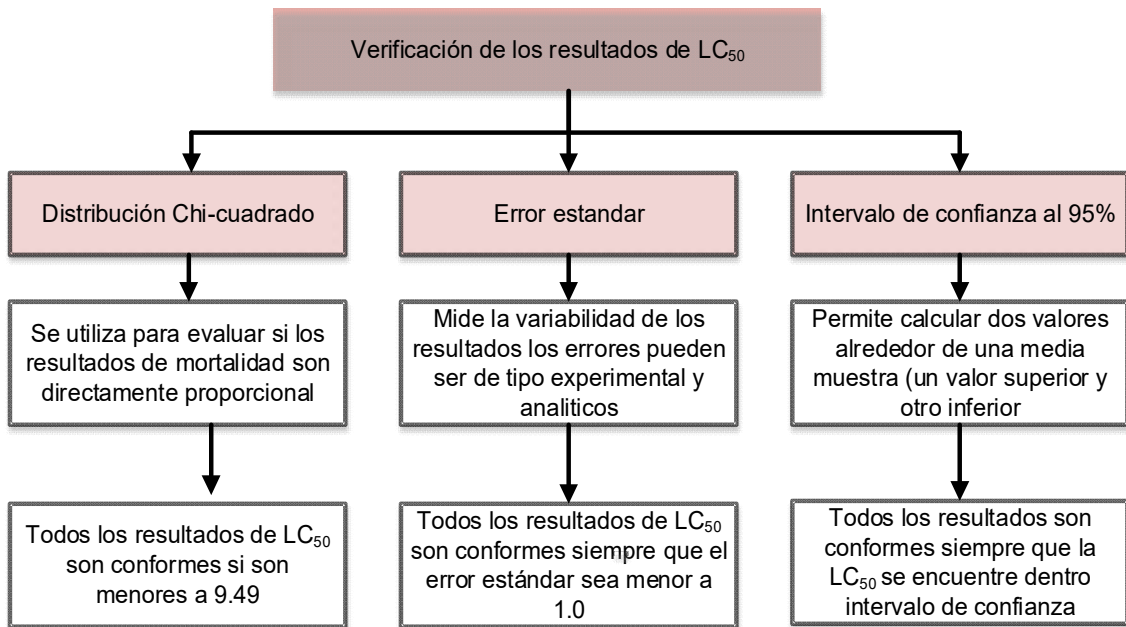
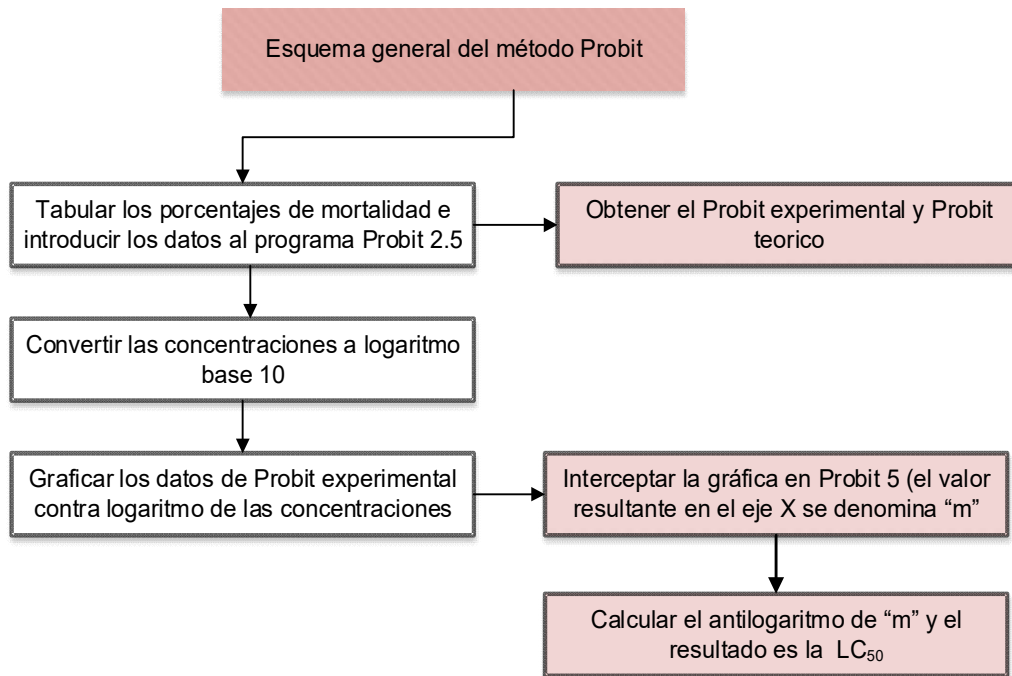


Figura N° 46. Esquema general del método Probit

Tabla N° 9. Resultados de mortalidad para las veinte plantas

Concentración µg/mL	Promedio mortalidad	Nauplios utilizados	Nauplios muertos	Log de µg/mL	Probit Experimental	Probit calculado
<i>Euphorbia lancifolia</i>						
2000	3.30	15	13.5	90.00	6.28	6.29
1000	3.00	15	11.5	76.66	5.74	5.74
500	2.70	15	8.5	56.66	5.18	5.20
250	2.40	15	5.5	36.66	4.67	4.65
125	2.10	15	3.00	20.00	4.16	4.11
62.5	1.80	15	1.00	6.66	3.52	3.56
200	2.301	15	13.50	90.00	6.28	6.15
100	2.000	15	10.50	70.00	5.52	5.51
50	1.699	15	6.50	43.33	4.80	4.87
25	1.398	15	2.50	16.66	4.05	4.22
12.5	1.097	15	1.00	6.66	3.52	3.58
6.25	0.796	15	0.50	3.33	3.12	2.93
20	1.30	15	10.5	50.0	5.25	5.25
10	1.00	15	8	46.6	4.92	4.90
5	0.70	15	5.5	33.3	4.56	4.55
2.5	0.40	15	3	20.0	4.16	4.20
1.25	0.10	15	1.5	13.3	3.82	3.83
0.625	-0.20	15	0.5	6.6	3.52	3.50
<i>Costus scaber</i>						
2000	7.5	15	50.0	3.30	5.00	4.98
1000	4.75	15	31.6	3.00	4.53	4.58
500	3.25	15	21.66	2.70	4.23	4.17
250	1.5	15	10.0	2.40	3.72	3.76
125	0.75	15	5.00	2.10	3.36	3.35
62.5	0.25	15	1.6	1.80	2.95	2.95
200	12	15	80.0	2.30	5.84	5.83
100	10	15	66.6	2.00	5.44	5.43
50	7.5	15	50.00	1.70	5.00	5.04
25	5.5	15	36.6	1.40	4.67	4.64
12.5	3.5	15	23.3	1.10	4.23	4.25
6.25	2	15	13.33	0.80	3.87	3.86
20	10.5	15	70.00	1.30	5.52	5.56
10	8	15	53.33	1.00	5.08	5.08
5	5.5	15	36.67	0.70	4.64	4.61
2.5	3	15	20.00	0.40	4.16	4.14
1.25	1.5	15	10.00	0.10	3.72	3.66
0.625	0.5	15	3.333	-0.20	3.12	3.19
<i>Ruellia simplex</i>						
2000	12.5	15	83.33	3.3010	5.95	5.88
1000	9.5	15	63.33	3.0000	5.33	5.41
500	7	15	46.67	2.6990	4.92	4.94
250	5	15	33.33	2.3979	4.48	4.47
125	3.5	15	23.33	2.0969	4.05	4.00
62.5	2.5	15	16.67	1.7959	3.52	3.53
200	10.5	15	70.00	2.3010	5.52	5.44

Tabla N° 9. Continuación

100	7.0	15	46.77	2.0000	4.92	4.98
50	4.5	15	30.00	1.6990	4.48	4.53
25	2.5	15	16.77	1.3979	4.05	4.07
12.5	1	15	6.667	1.0969	3.52	3.62
6.25	0.5	15	3.33	0.7959	3.12	3.17
20	8.0	15	53.33	1.3010	5.08	5.00
10	5.0	15	33.33	1.0000	4.56	4.62
5	3.0	15	20.00	0.6990	4.16	4.24
2.5	2.0	15	13.33	0.3979	3.87	3.86
1.25	1.0	15	6.67	0.0969	3.52	3.49
0.625	0.5	15	3.33	-0.2041	3.12	3.11
<i>Caesalpina pulcherrima L.</i>						
2000	14.5	15	96.67	3.3010	6.88	6.82
1000	13.5	15	90.00	3.0000	6.28	6.25
500	11	15	73.33	2.6990	5.61	5.68
250	7.5	15	50.00	2.3979	5.00	5.11
125	5.0	15	33.33	2.0969	4.56	4.54
62.5	2.0	15	13.33	1.7959	4.05	3.97
200	14	15	9.33	2.3010	6.48	6.28
100	11.5	15	76.667	2.0000	5.95	5.77
50	9.0	15	60.00	1.6990	5.25	5.27
25	6.0	15	40.00	1.3979	4.75	4.76
12.5	3.0	15	20.00	1.0969	4.16	4.26
6.25	1.0	15	6.67	0.7959	3.52	3.76
20	4.0	15	26.66	1.3010	4.39	4.41
10	3.0	15	20.00	1.0000	4.26	4.23
5	2.5	15	16.60	0.6990	4.05	4.06
2.5	2.0	15	13.33	0.3979	3.87	3.88
1.25	1.5	15	10.00	0.0969	3.72	3.70
0.625	1.0	15	6.667	-0.2041	3.52	3.53
<i>Tagetes erecta L.</i>						
2000	14.5	15	96.66	3.3010	6.88	6.85
1000	13.5	15	90.00	3.0000	6.28	6.34
500	12.0	15	80.00	2.6990	5.84	5.83
250	9.5	15	63.33	2.3979	5.33	5.31
125	6.5	15	43.33	2.0969	4.82	4.80
62.5	3.5	15	23.33	1.7959	4.26	4.28
200	14.00	15	93.33	2.301	6.88	6.85
100	13.00	15	86.67	2.000	6.13	6.19
50	10.50	15	70.00	1.699	5.52	5.53
25	7.00	15	46.67	1.398	4.92	4.88
12.5	3.50	15	23.33	1.097	4.26	4.22
6.25	1.00	15	6.67	0.796	3.52	3.56
20	11.50	15	76.67	1.301	5.95	5.91
10	10.00	15	66.67	1.000	5.44	5.47
5	7.50	15	50.00	0.699	5.00	5.03
2.5	5.50	15	36.67	0.398	4.56	4.58

Tabla N° 9. Continuación

1.25	3.00	15	20.00	0.097	4.16	4.14
0.625	1.50	15	10.00	-0.204	3.72	3.70
<i>Celosia argentea var. Cristata</i>						
2000	10.00	15	66.67	3.301	5.44	5.42
1000	8.00	15	53.33	3.000	5.08	5.03
500	5.00	15	33.33	2.699	4.56	4.64
250	3.50	15	23.33	2.398	4.23	4.26
125	2.00	15	13.33	2.097	3.87	3.87
62.5	1.00	15	6.67	1.796	3.52	3.48
200	9.50	15	63.33	2.301	5.33	5.27
100	6.50	15	43.33	2.000	4.8	4.83
50	4.00	15	26.67	1.699	4.39	4.39
25	2.00	15	13.33	1.398	3.87	3.95
12.5	1.00	15	6.67	1.097	3.52	3.51
6.25	0.50	15	3.33	0.796	3.12	3.07
20	8.50	15	56.66	1.3010	5.18	5.20
10	6.50	15	43.33	1.0000	4.82	4.78
5	3.50	15	23.33	0.6990	4.39	4.36
2.5	2.50	15	16.66	0.3979	3.87	3.94
1.25	1.00	15	6.66	0.0969	3.52	3.52
0.625	0.50	15	3.33	-0.2041	3.12	3.10
<i>Jatropha podagrica Hook</i>						
2000	13.50	15	90.00	3.301	6.28	6.17
1000	11.00	15	73.33	3.000	5.61	5.68
500	8.00	15	53.33	2.699	5.08	5.18
250	5.50	15	36.67	2.398	4.67	4.69
125	3.50	15	23.33	2.097	4.26	4.20
62.5	1.50	15	10.00	1.796	3.72	3.70
200	14.00	15	93.33	2.301	6.48	6.40
100	11.50	15	76.67	2.000	5.74	5.80
50	9.00	15	60.00	1.699	5.25	5.21
25	4.50	15	30.00	1.398	4.48	4.62
12.5	2.50	15	16.67	1.097	4.01	4.02
6.25	1.00	15	6.67	0.796	3.52	3.43
20	9.50	15	63.33	2.301	5.33	5.25
10	5.50	15	36.67	2.000	4.75	4.67
5	4.00	15	26.00	1.699	4.39	4.48
2.5	2.00	15	13.00	1.398	3.87	3.95
1.25	1.00	15	6.67	1.097	3.52	3.51
0.625	0.50	15	3.33	0.796	3.12	3.07
<i>Ageratum conyzoides</i>						
2000	11.50	15	76.67	3.301	5.71	5.69
1000	10.00	15	66.67	3.000	5.44	5.44
500	8.50	15	56.67	2.699	5.18	5.19
250	7.00	15	46.67	2.398	4.92	4.94
125	5.50	15	36.67	2.097	4.67	4.69
62.5	4.50	15	30.00	1.796	4.48	4.44

Tabla N° 9. Continuación

200	10.00	15	66.67	2.301	5.44	5.40
100	8.50	15	56.67	2.000	5.18	5.19
50	7.50	15	50.00	1.699	5.00	4.97
25	5.50	15	3667	1.398	4.67	4.75
12.5	4.50	15	30.00	1.097	4.48	4.54
6.25	4.00	15	26.67	0.796	4.39	4.32
20	9.5	15	63.33	1.301	5.33	5.29
10	7.5	15	50.00	1.000	5.00	5.00
5	5.5	15	36.67	0.699	4.67	4.71
2.5	4.00	15	26.67	0.398	4.39	4.43
1.25	3.00	15	20.00	0.097	4.16	4.14
0.625	2.00	15	13.33	-0.204	3.87	3.85
<i>Impatiens balsamina L.</i>						
2000	12.5	15	83.33	3.301	5.95	5.90
1000	9.5	15	63.33	3.000	5.33	5.42
500	7.0	15	46.66	2.699	4.92	4.93
250	5.0	15	33.33	2.398	4.56	4.45
125	2.0	15	13.33	2.097	3.87	3.97
62.5	1.0	15	6.667	1.796	3.52	3.49
200	11.0	15	73.33	2.301	5.61	5.69
100	8.5	15	56.66	2.000	5.18	5.17
50	6.0	15	40.00	1.699	4.75	4.65
25	3.5	15	23.33	1.398	4.26	4.14
12.5	1.0	15	6.66	1.097	3.45	3.62
6.25	0.50	15	3.33	0.796	3.12	3.10
20	9.00	15	60.00	1.30	5.25	5.25
10	6.50	15	43.33	1.00	4.82	4.92
5	5.50	15	36.66	0.70	4.64	4.58
2.5	4.00	15	26.66	0.40	4.39	4.25
1.25	2.00	15	13.33	0.10	3.87	3.91
0.625	0.50	15	3.33	-0.20	3.52	3.58
<i>Euphorbia hirta L.</i>						
2000	13.50	15	90.00	3.30	6.28	6.25
1000	12.00	15	80.00	3.00	5.84	5.86
500	10.00	15	6667	2.70	5.41	5.47
250	8.00	15	53.33	2.40	5.08	5.07
125	6.00	15	40.00	2.10	4.75	4.68
62.5	3.50	15	23.33	1.80	4.26	4.29
200	11.50	15	76.66	2.30	5.74	5.58
100	8.50	15	56.66	2.00	5.18	5.28
50	7.00	15	46.66	1.70	4.9	4.97
25	5.00	15	33.33	1.40	4.56	4.67
12.5	4.00	15	2.666	1.10	4.39	4.37
6.25	3.00	15	2.000	0.80	4.16	4.06
20	11.00	15	73.33	1.301	5.61	5.57
10	9.00	15	60.00	1.000	5.25	5.28
5	7.50	15	50.00	0.699	5	4.99

Tabla N° 9. Continuación

2.5	5.50	15	36.66	0.398	4.67	4.70
1.25	4.00	15	26.66	0.097	4.39	4.41
0.625	3.00	15	20.00	-0.204	4.16	4.12
<i>Psidium guajava L</i>						
2000	9.50	15	63.33	3.30	5.33	5.34
1000	8.00	15	53.33	3.00	5.08	5.11
500	8.50	15	56.66	2.70	4.92	4.89
250	5.50	15	36.66	2.40	4.67	4.66
125	4.50	15	30.00	2.10	4.48	4.43
62.5	3.00	15	20.00	1.80	4.16	4.21
200	8.00	15	53.333	2.30	5.08	4.59
100	7.50	15	50.00	2.00	5.00	4.36
50	6.00	15	40.00	1.70	4.75	4.14
25	5.00	15	33.33	1.40	4.56	3.91
12.5	4.50	15	30.00	1.10	4.48	3.68
6.25	3.00	15	20.00	0.80	4.16	3.46
20	7.50	15	50.00	1.30	5.00	5.04
10	5.50	15	36.66	1.00	4.64	4.74
5	3.50	15	23.33	0.70	4.48	4.43
2.5	2.50	15	16.66	0.40	4.05	4.12
1.25	1.50	15	1000	0.10	3.72	3.81
0.625	1.00	15	6.666	-0.20	3.52	3.50
<i>Kalanchoe pinnata (Lam.)</i>						
2000	13.50	15	90.00	3.301	6.28	6.19
1000	11.50	15	76.67	3.000	5.74	5.79
500	9.50	15	63.33	2.699	5.33	5.39
250	7.50	15	50.00	2.398	5	5.00
125	5.00	15	33.33	2.097	4.56	4.60
62.5	3.50	15	23.33	1.796	4.26	4.20
200	10.00	15	66.66	2.30	5.44	5.39
100	7.50	15	50.0	2.00	5.00	5.12
50	6.50	15	43.33	1.70	4.82	4.85
25	5.50	15	36.66	1.40	4.67	4.59
12.5	4.00	15	26.66	1.10	4.33	4.32
6.25	2.50	15	16.66	0.80	4.01	4.06
20	11.50	15	76.67	1.301	5.74	5.71
10	9.50	15	63.33	1.000	5.33	5.37
5	7.50	15	50.00	0.699	5.00	5.02
2.5	6.00	15	40.000	0.398	4.75	4.68
1.25	3.50	15	23.333	0.097	4.26	4.33
0.625	2.50	15	16.667	-0.204	4.01	3.98
<i>Acalypha arvensis Poepp.</i>						
2000	13.50	15	90.00	3.30	6.28	6.38
1000	12.50	15	83.33	3.00	5.95	6.00
500	10.50	15	70.00	2.70	5.52	5.62
250	9.00	15	60.00	2.40	5.25	5.24
125	6.50	15	43.33	2.10	4.82	4.86

Tabla N° 9. Continuación

62.5	5.00	15	33.33	1.80	4.56	4.48
200	10.50	15	70.00	2.30	5.52	5.52
100	9.50	15	63.33	2.00	5.33	5.29
50	7.50	15	50.00	1.70	5.00	5.05
25	6.50	15	43.33	1.40	4.82	4.81
12.5	5.00	15	33.33	1.10	4.56	4.58
6.25	4.00	15	26.67	0.80	4.36	4.34
20	7.50	15	50.00	1.30	5.00	4.94
10	5.50	15	36.67	1.00	4.67	4.72
5	4.50	15	30.00	0.70	4.48	4.50
2.5	3.50	15	23.33	0.40	4.26	4.28
1.25	2.50	15	16.67	0.10	4.05	4.06
0.625	2.00	15	13.33	-0.20	3.87	3.84
<i>Cissampelos pareira L.</i>						
2000	12.50	15	83.333	3.30	5.95	5.94
1000	11.50	15	76.667	3.00	5.74	5.71
500	10.00	15	66.667	2.70	5.44	5.48
250	9.00	15	60.00	2.40	5.25	5.25
125	7.50	15	50.00	2.10	5.00	5.02
62.5	6.50	15	43.33	1.80	4.82	4.79
200	9.00	15	60.00	2.301	5.25	5.26
100	8.00	15	53.33	2.000	5.08	5.08
50	7.00	15	46.66	1.699	4.92	4.91
25	6.00	15	40.00	1.398	4.75	4.74
12.5	5.00	15	33.33	1.097	4.56	4.57
6.25	4.00	15	26.6	0.796	4.39	4.39
20	7.50	15	50.00	1.301	5.08	5.10
10	6.50	15	43.33	1.000	4.82	4.81
5	5.00	15	33.33	0.699	4.56	4.53
2.5	3.50	15	23.33	0.398	4.26	4.24
1.25	2.00	15	13.33	0.097	3.87	3.96
0.625	1.50	15	10.00	-0.204	3.72	3.67
<i>Passiflora edulis Sims</i>						
2000	11.50	15	76.66	3.301	5.74	5.77
1000	10.00	15	66.66	3.000	5.44	5.45
500	8.50	15	56.66	2.699	5.18	5.13
250	6.50	15	43.3	2.398	4.82	4.81
125	4.50	15	30.00	2.097	4.48	4.49
62.5	3.00	15	20.00	1.796	4.16	4.17
200	8.50	15	56.66	2.301	5.18	5.20
100	7.50	15	50.00	2.000	5.00	5.01
50	6.50	15	43.33	1.699	4.82	4.82
25	5.50	15	36.66	1.398	4.67	4.62
12.5	4.50	15	30.00	1.097	4.48	4.43
6.25	3.00	15	20.00	0.796	4.16	4.23
20	7.50	15	50.00	1.301	5.00	5.00
10	5.50	15	36.66	1.000	4.67	4.62

Tabla N° 9. Continuación

5	3.00	15	20.00	0.699	4.16	4.24
2.5	2.00	15	13.33	0.398	3.87	3.87
1.25	1.00	15	6.66	0.097	3.52	3.49
0.625	0.50	15	3.33	-0.204	3.12	3.12
<i>Momordica charantia L.</i>						
2000	13.50	15	90.00	3.301	6.28	6.20
1000	12.00	15	80.00	3.000	5.84	5.88
500	10.50	15	70.00	2.699	5.52	5.56
250	8.50	15	56.66	2.398	5.18	5.24
125	7.00	15	46.66	2.097	4.92	4.91
62.5	5.50	15	36.6	1.796	4.64	4.59
200	11.00	15	73.33	2.301	5.61	5.55
100	9.00	15	60.00	2.000	5.25	5.31
50	8.00	15	53.33	1.699	5.08	5.07
25	6.50	15	43.33	1.398	4.82	4.83
12.5	5.00	15	33.33	1.097	4.56	4.59
6.25	4.00	15	26.66	0.796	4.39	4.35
20	8.50	15	56.66	1.301	5.18	5.16
10	6.50	15	43.33	1.000	4.83	4.81
5	4.50	15	30.00	0.699	4.48	4.47
2.5	2.50	15	16.66	0.398	4.05	4.12
1.25	1.50	15	10.00	0.097	3.72	3.78
0.625	1.00	15	6.66	-0.204	3.52	3.44
<i>Bauhinia variegata L.</i>						
2000	14.00	15	93.33	3.301	6.48	6.48
1000	13.00	15	86.66	3.000	6.13	6.07
500	11.00	15	73.33	2.699	5.61	5.67
250	9.00	15	60.0	2.398	5.25	5.26
125	6.50	15	43.333	2.097	4.82	4.85
62.5	4.50	15	30.00	1.796	4.48	4.44
200	10.00	15	66.66	2.301	5.44	5.44
100	9.00	15	60.00	2.000	5.25	5.25
50	8.00	15	53.33	1.699	5.08	5.05
25	6.50	15	43.33	1.398	4.82	4.85
12.5	5.50	15	36.66	1.097	4.64	4.66
6.25	4.50	15	30.00	0.796	4.48	4.46
20	9.00	15	60.00	1.301	5.25	5.25
10	7.00	15	46.66	1.000	4.92	4.90
5	5.00	15	33.33	0.699	4.56	4.55
2.5	3.00	15	20.00	0.398	4.16	4.21
1.25	2.00	15	13.33	0.097	3.87	3.86
0.625	1.00	15	6.66	-0.204	3.52	3.51
<i>Phyllanthus amarus S.</i>						
2000	14.50	15	96.67	3.301	6.88	6.86
1000	14.00	15	93.33	3.000	6.48	6.49
500	13.00	15	86.66	2.699	6.13	6.12
250	11.50	15	76.66	2.398	5.74	5.76

Tabla N° 9. Continuación

125	9.50	15	63.33	2.097	5.33	5.39
62.5	8.00	15	53.33	1.796	5.08	5.02
200	13.50	15	90.00	2.301	6.28	5.99
100	12.50	15	83.33	2.000	5.95	5.67
50	11.00	15	73.3	1.699	5.61	5.35
25	9.00	15	60.00	1.398	5.25	5.03
12.5	7.00	15	46.66	1.097	4.92	4.72
6.25	6.00	15	40.00	0.796	4.75	4.40
20	11.00	15	73.33	1.301	5.61	5.73
10	9.00	15	60.00	1.000	5.25	5.44
5	8.00	15	53.33	0.699	5.08	5.15
2.5	5.50	15	36.66	0.398	4.67	4.85
1.25	4.00	15	26.66	0.097	4.39	4.56
0.625	3.00	15	20.00	-0.204	4.16	4.27
<i>Azadirachta indica</i>						
2000	12.00	15	80.000	3.301	5.84	6.37
1000	11.00	15	73.333	3.000	5.61	6.10
500	9.00	15	60.000	2.699	5.25	5.83
250	7.50	15	50.000	2.398	5.00	5.56
125	6.50	15	43.333	2.097	4.82	5.29
62.5	4.50	15	30.000	1.796	4.48	5.02
200	13.00	15	86.666	2.301	6.13	5.87
100	11.50	15	76.667	2.000	5.74	5.56
50	10.00	15	66.667	1.699	5.44	5.25
25	8.00	15	53.333	1.398	5.08	4.93
12.5	7.00	15	46.667	1.097	4.82	4.62
6.25	5.00	15	33.333	0.796	4.56	4.31
20	11.50	15	76.667	1.301	5.74	5.76
10	10.00	15	66.667	1.000	5.44	5.46
5	7.50	15	50.000	0.699	5.15	5.15
2.5	5.00	15	33.333	0.398	4.92	4.84
1.25	4.00	15	26.667	0.097	4.56	4.53
0.625	2.50	15	16.667	-0.204	4.16	4.23
<i>Opuntia cf. Cochenillifera (L.)</i>						
2000	13.00	15	86.666	3.301	6.13	6,10
1000	12.00	15	80.000	3.000	5.84	5.82
500	10.50	15	70.000	2.699	5.52	5.53
250	8.50	15	56.666	2.398	5.18	5.25
125	7.00	15	46.666	2.097	4.92	4.96
62.5	6.00	15	40.000	1.796	4.75	4.68
200	8.50	15	56.666	2.301	5.18	5.18
100	7.00	15	46.666	2.000	4.9	4.95
50	6.50	15	43.333	1.699	4.82	4.72
25	4.50	15	30.000	1.398	4.48	4.48
12.5	3.00	15	20.000	1.097	4.16	4.25
6.25	2.50	15	16.666	0.796	4.05	4.01
20	8.00	15	53.333	1.301	5.08	5.01

Tabla N° 9. Continuación

10	5.50	15	36.666	1.000	4.67	4.76
5	4.50	15	30.000	0.699	4.48	4.50
2.5	3.50	15	23.333	0.398	4.26	4.24
1.25	2.50	15	16.666	0.097	4.01	3.98
0.625	1.50	15	10.000	-0.204	3.72	3.73

ANEXO N° 12

ANALISIS PROBIT DE LAS MUESTRAS ESTUDIADAS

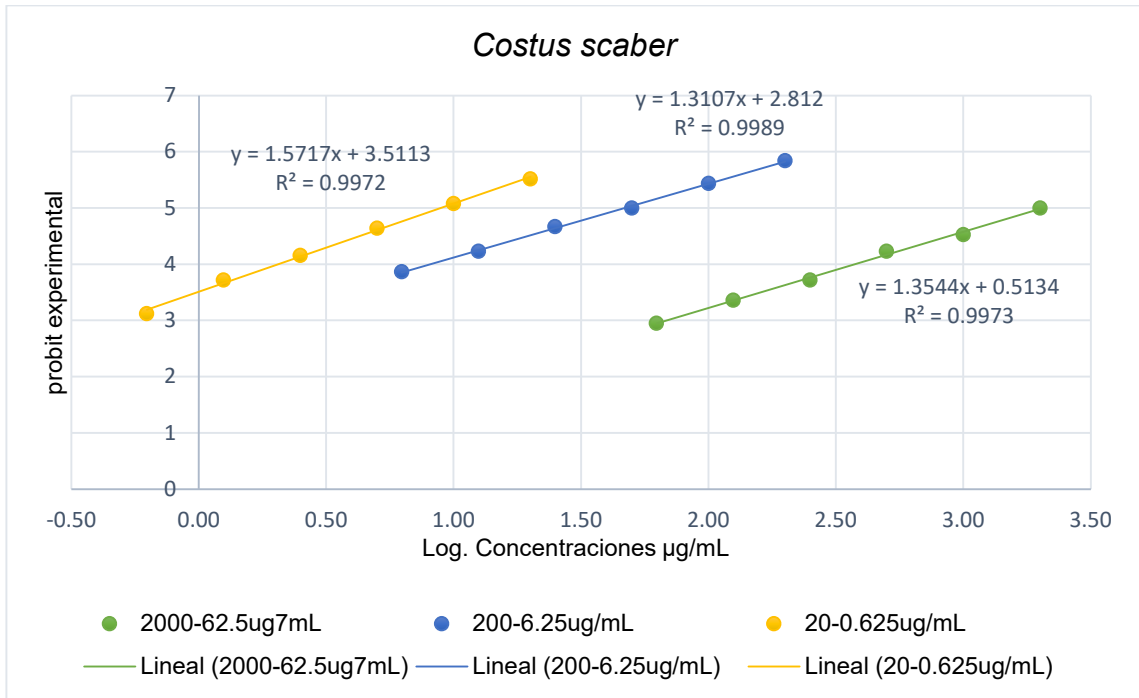


Figura N° 47 Análisis Probit de *Costus scaber*

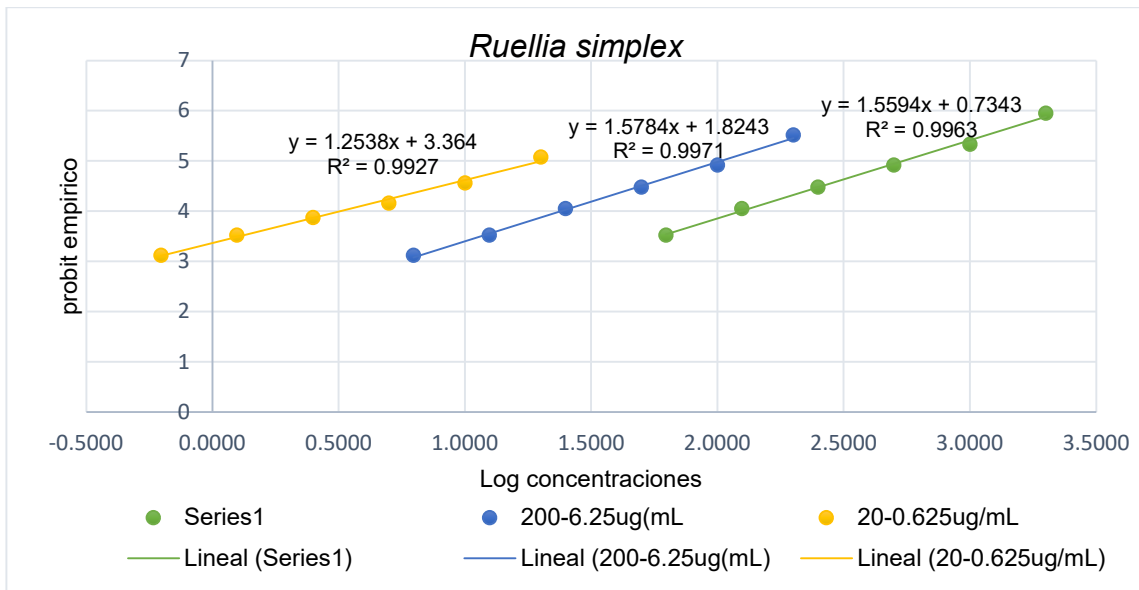


Figura N° 48 Análisis Probit de *Ruellia simplex*

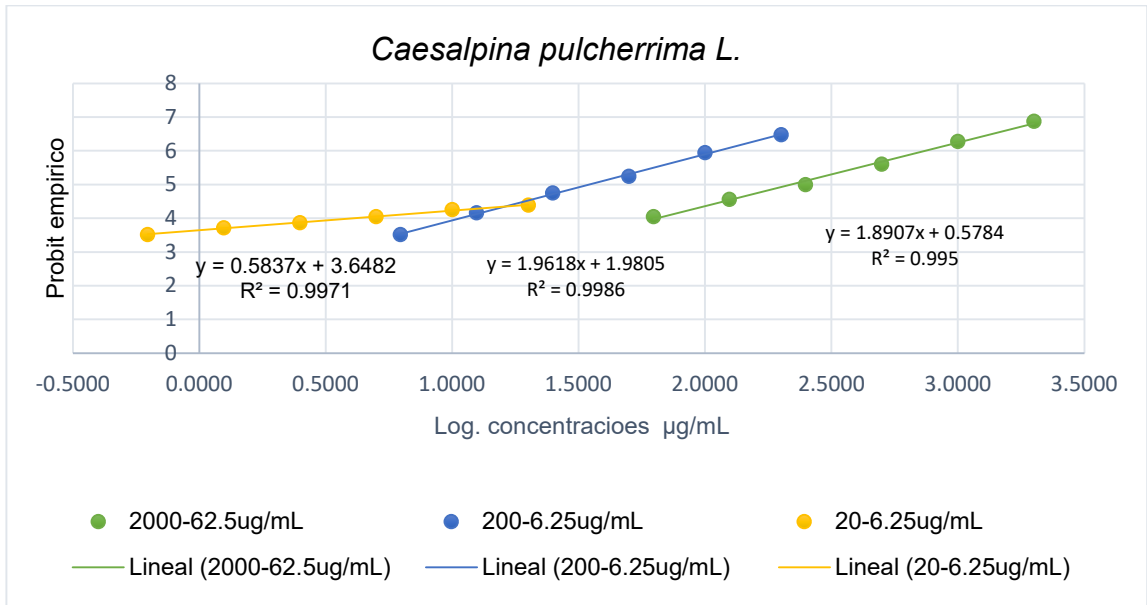


Figura N° 49 Análisis Probit de *Caesalpinia pulcherrima L.*

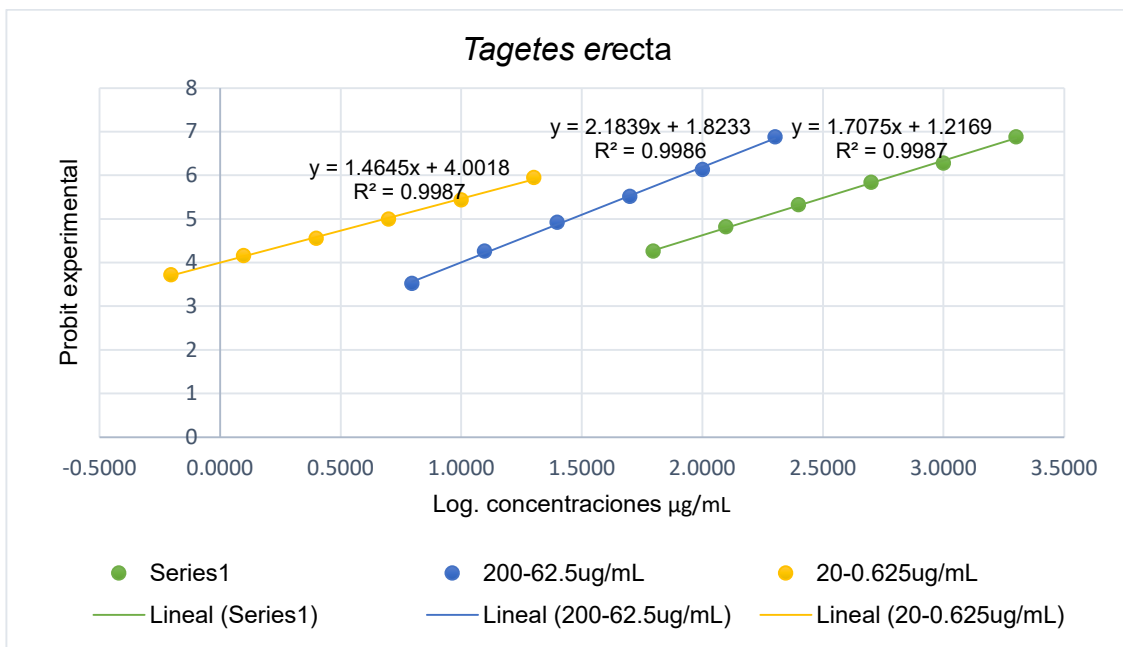


Figura N° 50 Análisis Probit de *Tagetes erecta*

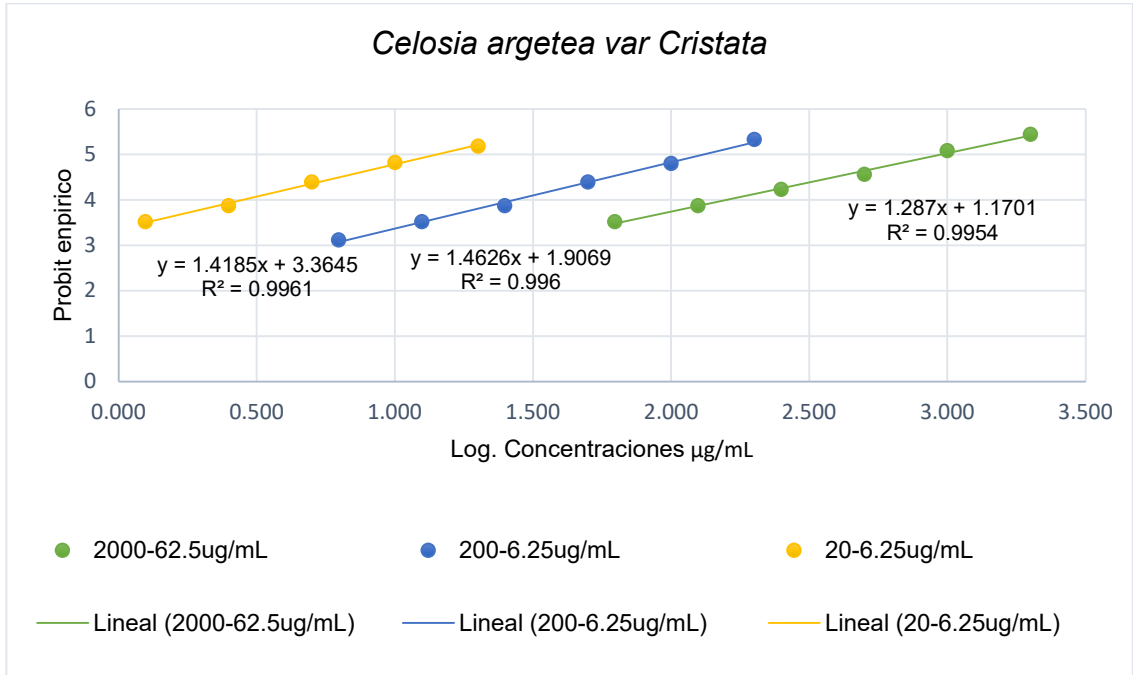


Figura N° 51 Análisis Probit de *Celosia argentea*

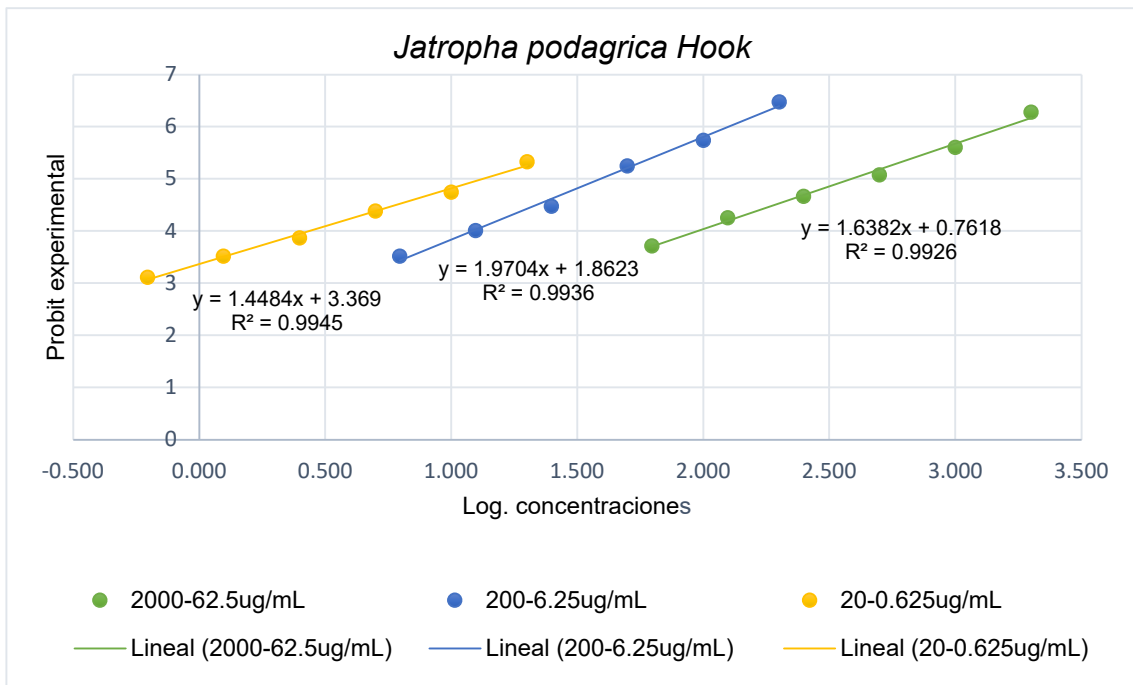


Figura N° 52 Análisis Probit de *Jatropha podagrica Hook*

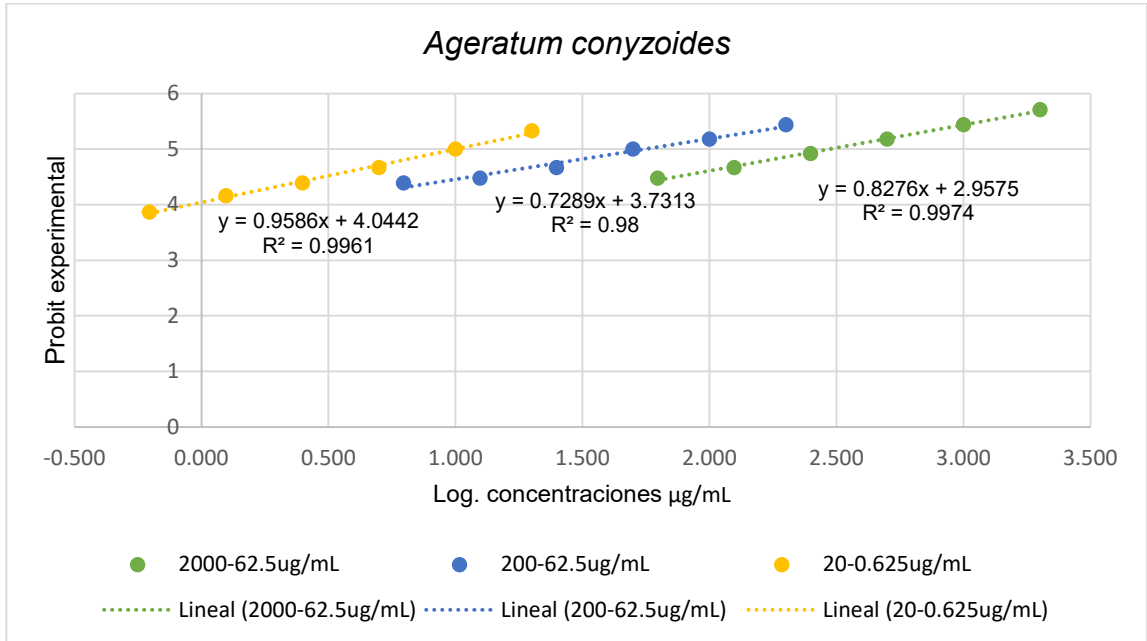


Figura N° 53 Análisis Probit de *Ageratum conyzoides*

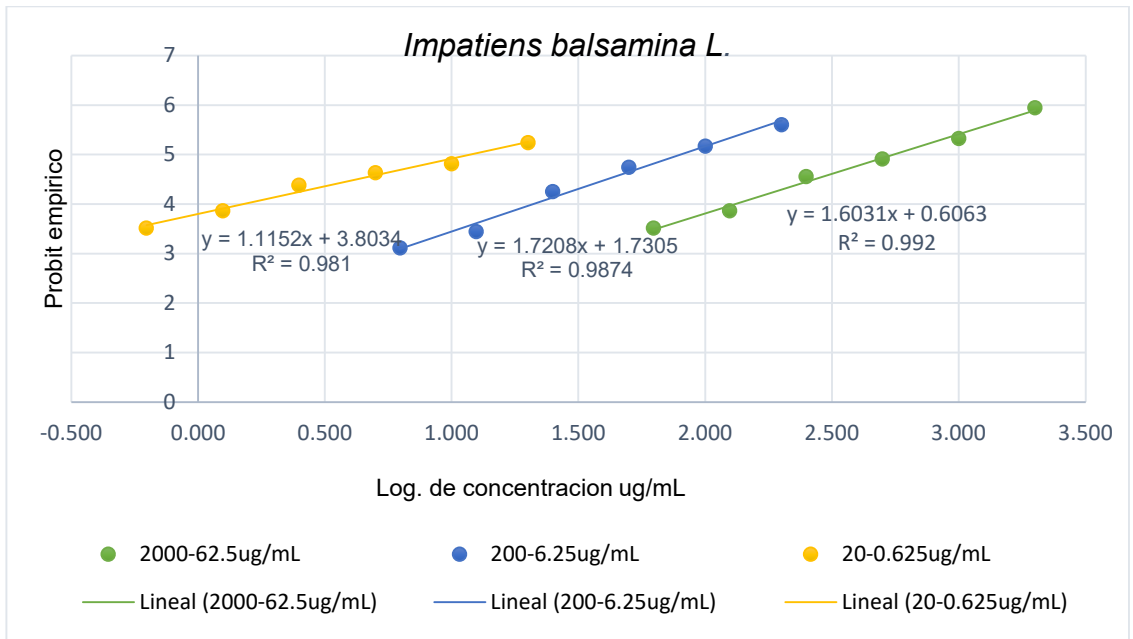


Figura N° 54 Análisis Probit de *Impatiens balsamina L.*

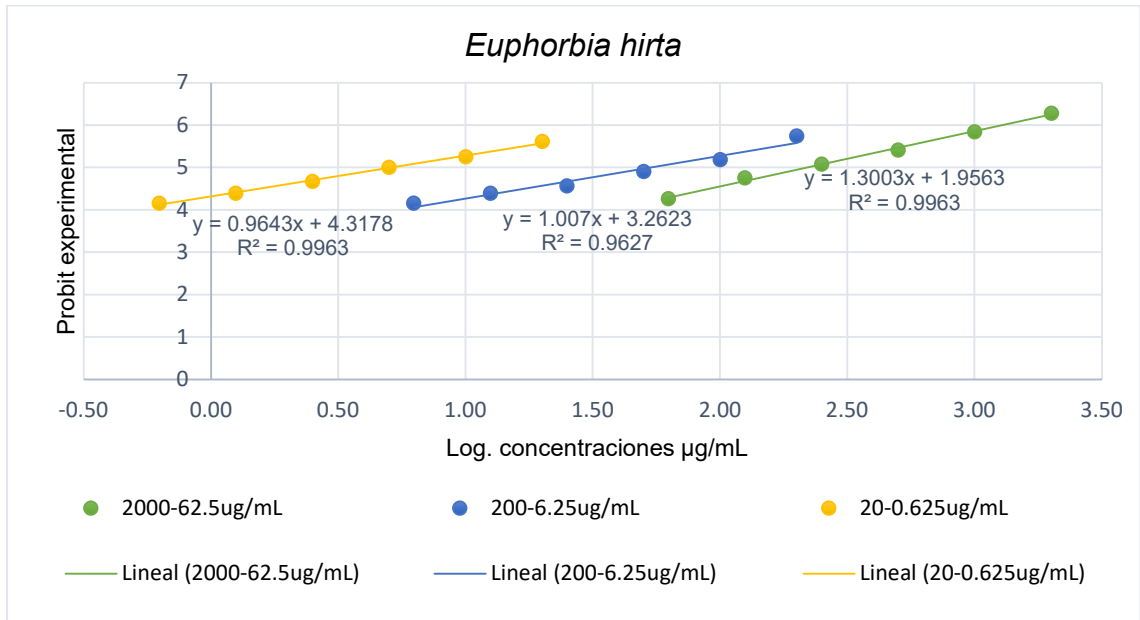


Figura N° 55 Análisis Probit de *Euphorbia hirta*

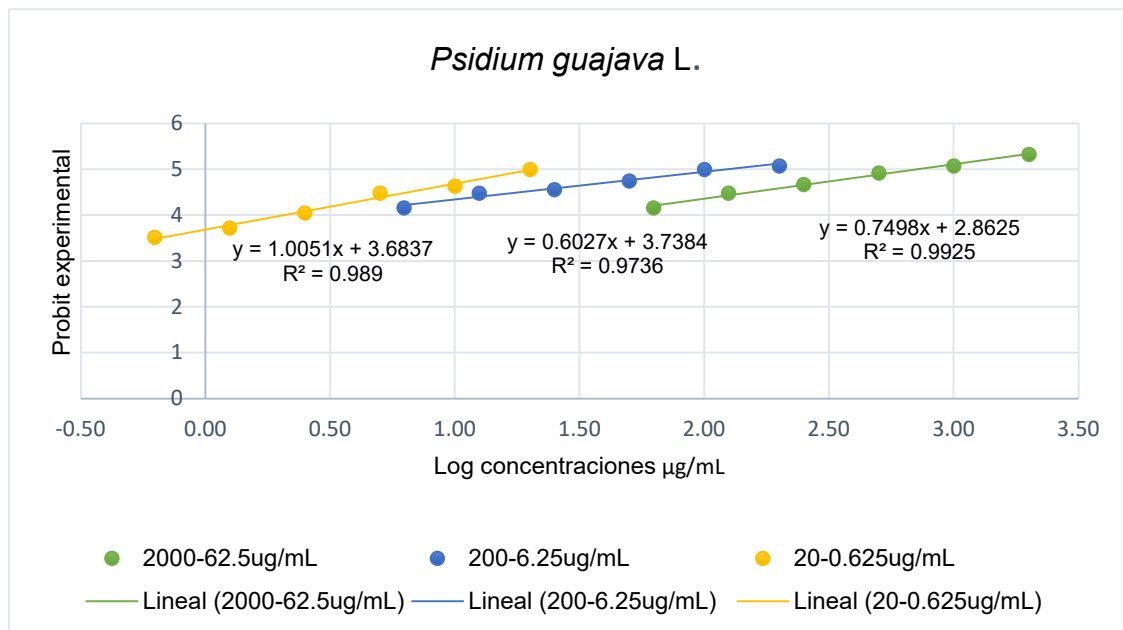


Figura N° 56 Análisis Probit de *Psidium guajava L.*

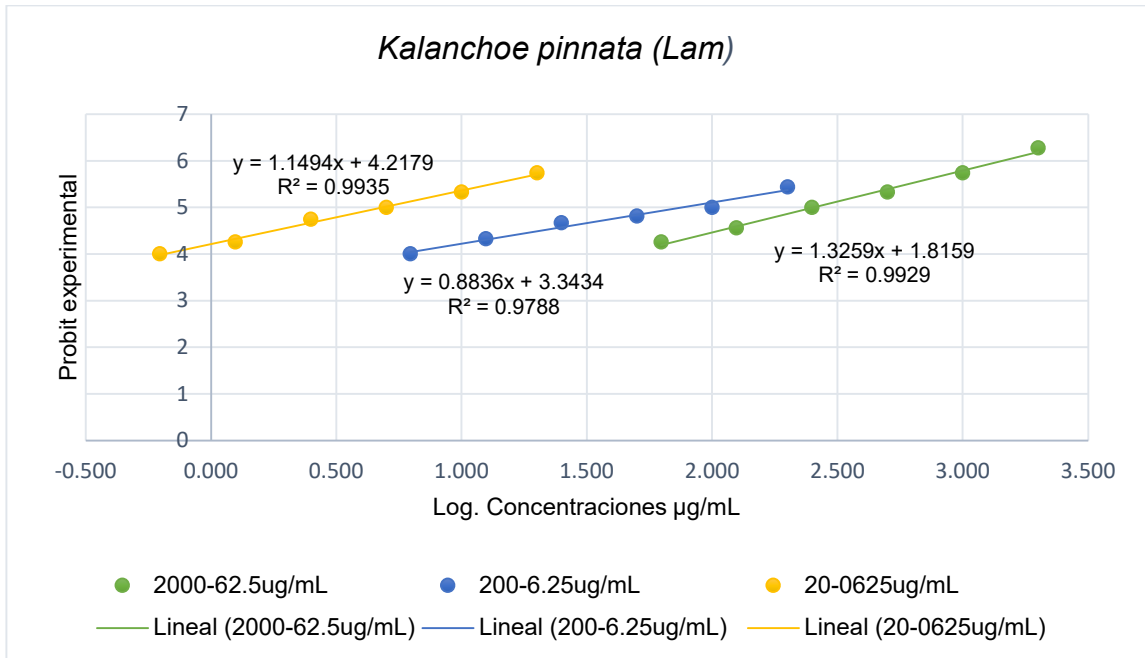


Figura N° 57 Análisis Probit de *Kalanchoe pinnata Lam*

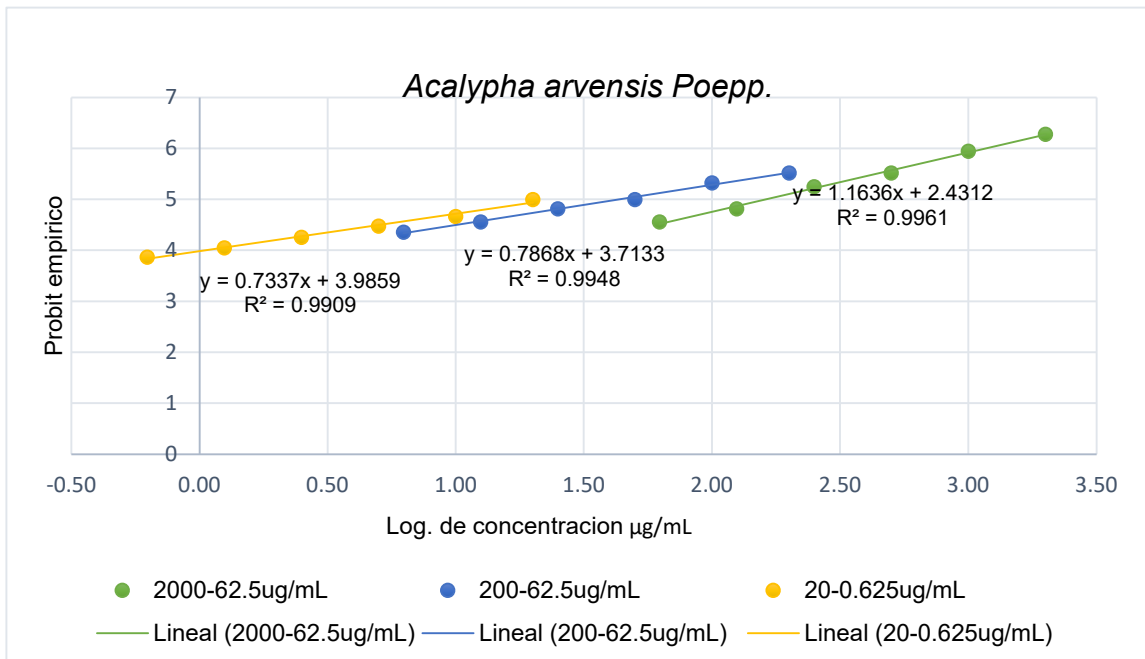


Figura N° 58 Análisis Probit de *Acalypha arvensis Poepp*

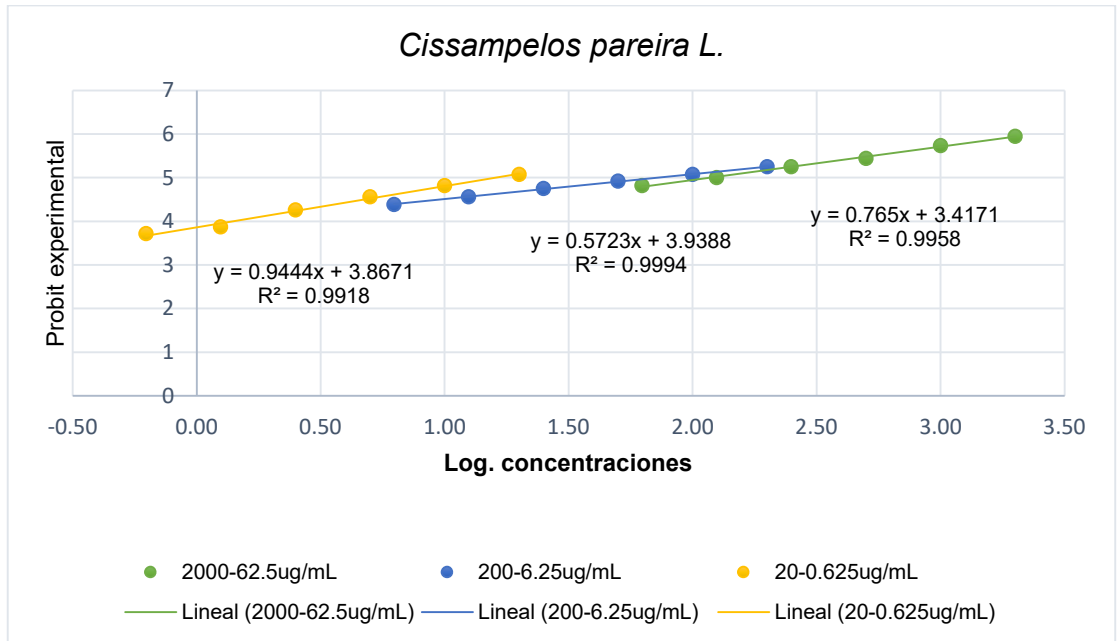


Figura N° 59 Análisis Probit de *Cissampelos pareira L*

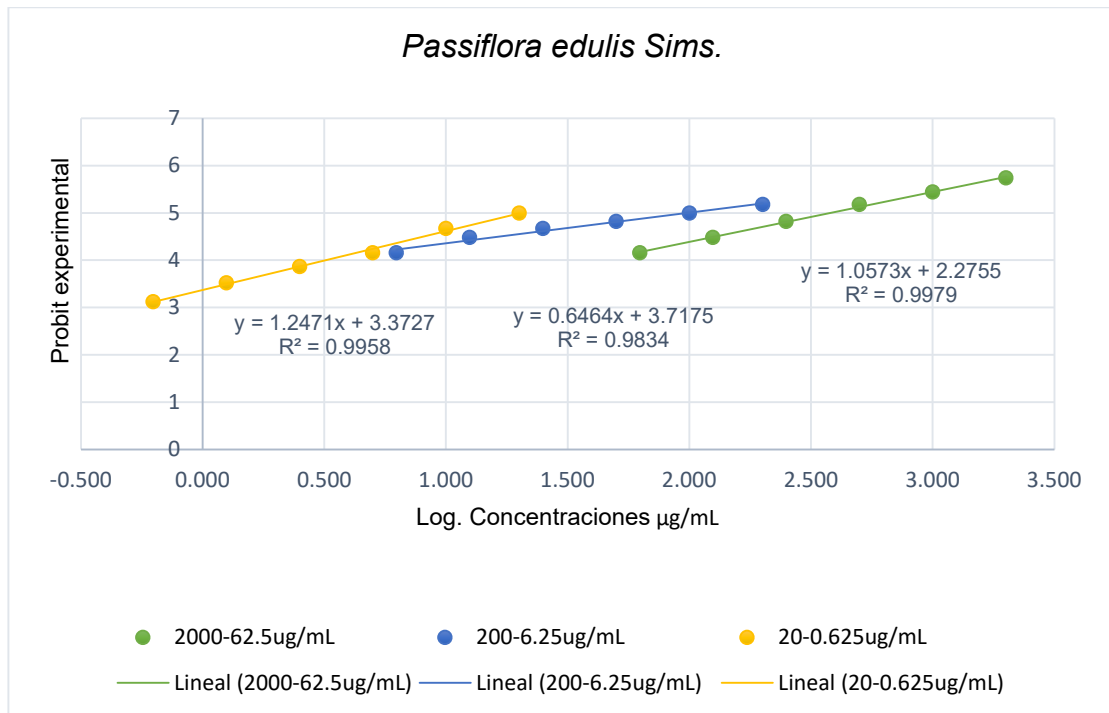


Figura N° 60 Análisis Probit de *Passiflora edulis Sims*

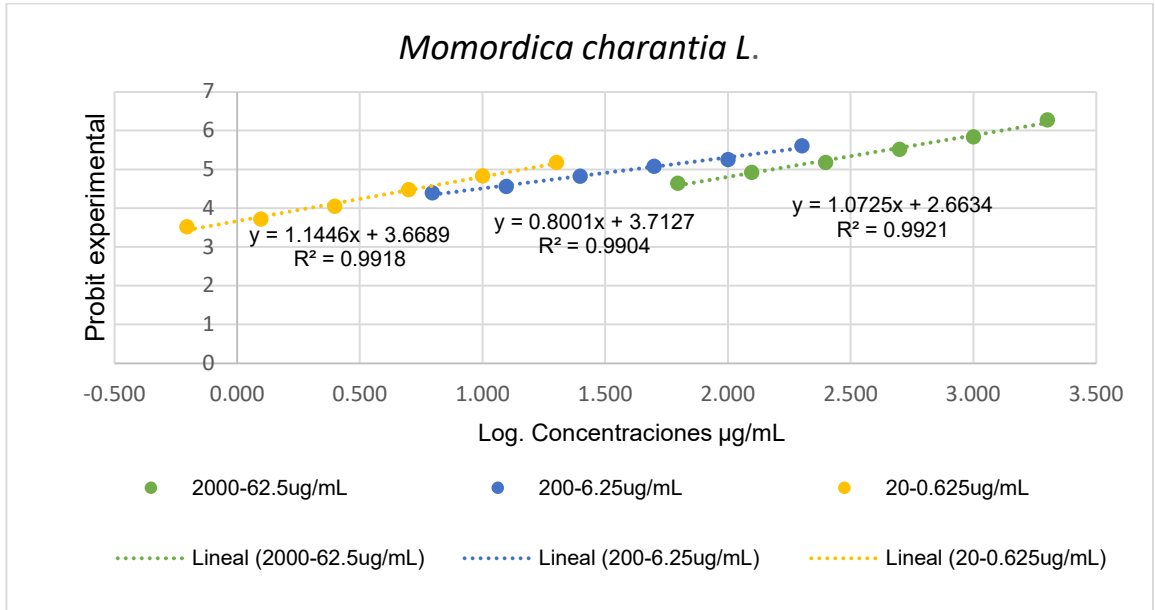


Figura N° 61 Análisis Probit de *Momordica charantia L.*

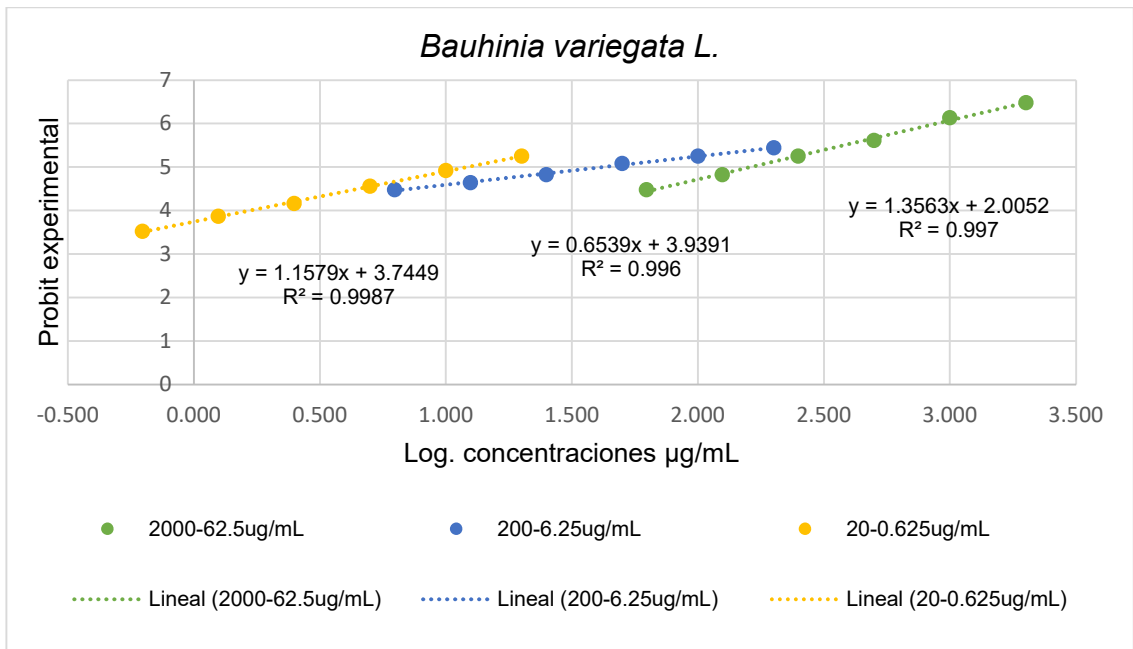


Figura N° 62 Análisis Probit de *Bauhinia variegata L.*

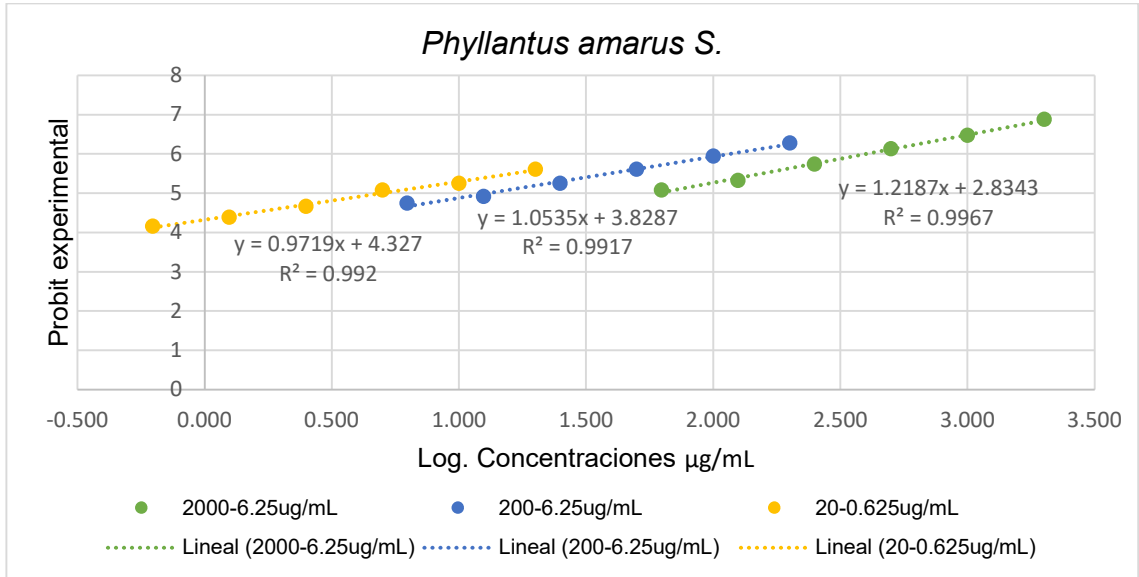


Figura N° 63 Análisis Probit de *Phyllanthus amarus S.*

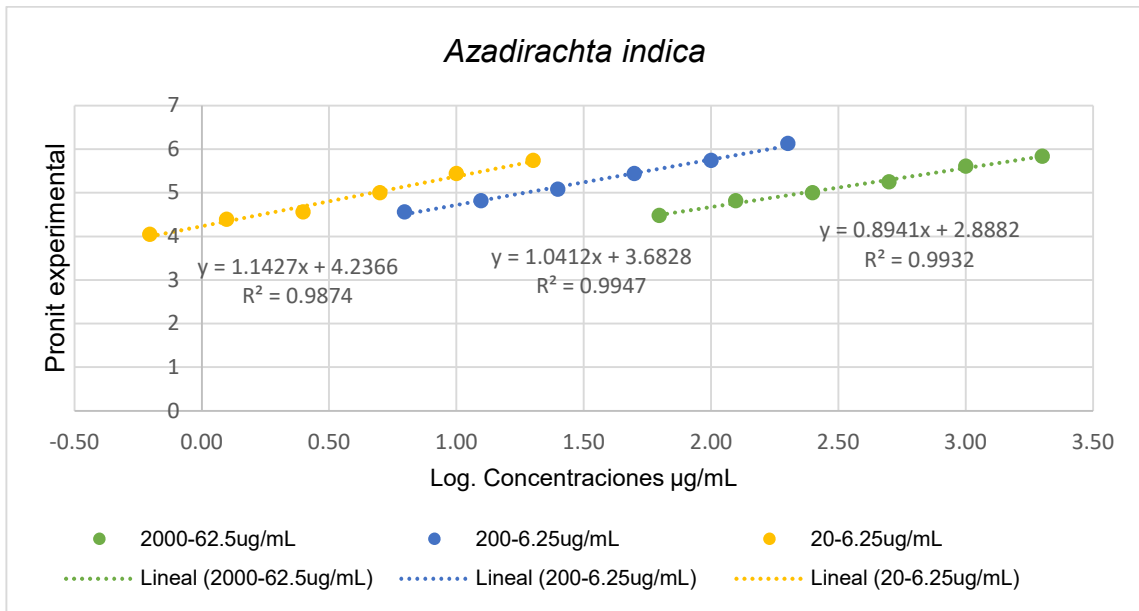


Figura N° 64 Análisis Probit de *Azadirachta indica*

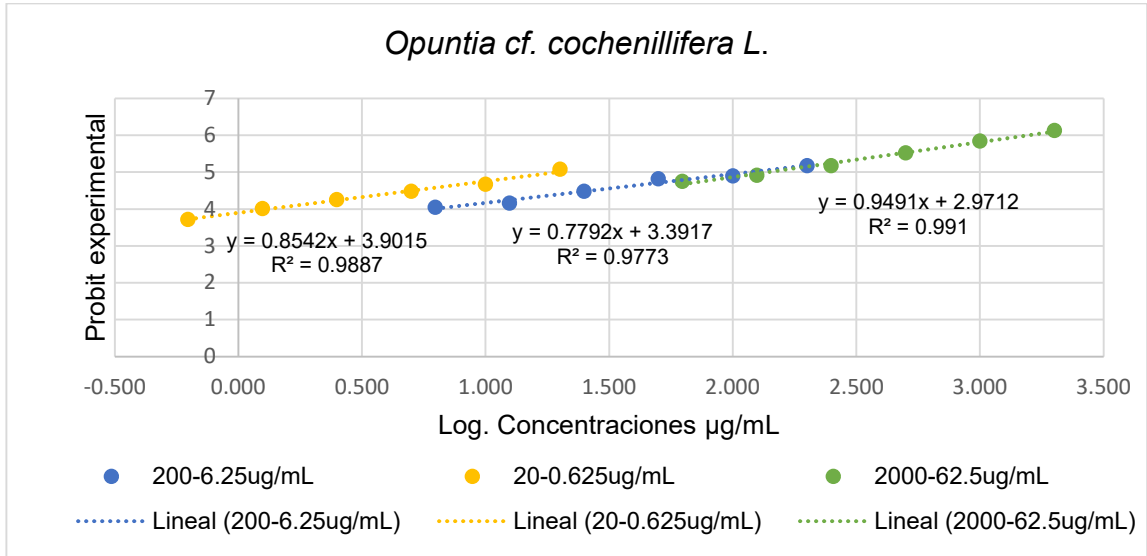


Figura N° 65 Análisis Probit de *Opuntia Cf. Cochenillifera L.*