

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



**DETERMINACION DE LA BIOACTIVIDAD CITOTOXICA DE  
EXTRACTOS DE VEINTICINCO ESPECIES VEGETALES  
MEDIANTE EL BIOENSAYO CON ARTEMIA SALINA.**

**Trabajo de Graduación presentado por:  
GRISEL MARILYN BLANCO SIERRA  
GRACIA PATRICIA LAINEZ ZELAYA**

**Para optar al grado de:  
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA**

**MARZO DE 2002  
SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMÉRICA.**



**© 2001, DERECHOS RESERVADOS**

**Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,  
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador**

**SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

RECTOR

DRA. MARIA ISABEL RODRÍGUEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. LIDIA MARGARITA MUÑOZ VELA

**FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA**

DECANO

LIC. MARIA ISABEL RAMOS DE RODAS

SECRETARIO

LIC. ANA ARELY CÁCERES MAGAÑA

**ASESOR**

LIC. RHINA ANTONIETA TOLEDO MENDOZA

**JURADO CALIFICADOR**

DR. CARLOS ALBERTO GALDAMEZ

LIC. AIDA ESTELA ROSALES RIVAS

LIC. ROCIO RUANO DE SANDOVAL

## INDICE GENERAL

### RESUMEN

### INTRODUCCIÓN

<b>CAPITULO I: REVISIÓN BIBLIOGRAFICA</b>		1
1	Monografías de las especies vegetales.	2
1.1	<u>Bocconia arborea</u> (Sangre de Toro)	2
1.2	<u>Byrsonima crassifolia</u> (Nance)	4
1.3	<u>Jacquinia aurantiaca</u> (Mirra)	8
1.4	<u>Litsea glaucescens</u> (Laurel )	10
1.5	<u>Pithecellobium dulce</u> (Mongollano)	13
1.6	<u>Sesamun indicum</u> (Ajonjolí)	15
2	Bioensayo	18
2.1	Concepto y Clasificación	18
2.2	Generalidades sobre la Artemia salina	19

2.3	Ciclo de vida	21
2.3.1	Cistos	21
2.3.2	Nauplios	22
2.3.3	Juveniles	22
2.3.4	Adultos	22
2.4	Condiciones Optimas del Medio de Cultivo	22
2.4.1	Salinidad	22
2.4.2	Temperatura	23
2.4.3	pH	23
2.4.4	Oxígeno disuelto	23
2.5	Citotoxicidad	23
<b>CAPITULO II: PARTE EXPERIMENTAL</b>		<b>25</b>
1	Recursos Materiales	26
1.1	Especies Vegetales	26
1.2	Animal de Experimentación	26
1.3	Componentes del Medio de cultivo	27
1.4	Materiales y Cristalería	27
1.5	Equipo	28

1.6	Reactivos	30
2	Metodología	33
2.1	Recolección del Material Vegetal	33
2.2	Extracciones	33
2.3	Determinación Fitoquímica Preliminar	33
2.4	Bioensayo con Artemia salina.	41
2.4.1	Preparación del Medio de Cultivo (Agua de Mar).	41
2.4.2	Preparación de los nauplios	41
2.4.3	Preparación de las muestras	42
2.4.4	Preparación del blanco	43
2.4.5	Preparación de la solución patrón	44
2.4.6	Bioensayo	44
2.4.7	Lectura de Resultados	46
2.4.8	Cálculos de la Concentración Letal Media (LC <sub>50</sub> )	46
2.4.9	Programa de Cálculo PROBIT para computadora	47
<b>CAPITULO III: RESULTADOS Y ANALISIS</b>		<b>49</b>
<b>CAPITULO IV: CONCLUSIONES</b>		<b>83</b>
<b>CAPITULO V: RECOMENDACIONES</b>		<b>87</b>

## **BIBLIOGRAFÍA**

### **ANEXOS**

ANEXO 1 GLOSARIO

ANEXO 2 CRISTALERIA Y EQUIPO

ANEXO 3 DIAGRAMA DEL MICROPLATO UTILIZADO EN EL  
BIOENSAYO CON ARTEMIA SALINA

ANEXO 4 CALCULO DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA Y EL  
COEFICIENTE DE CORRELACION

## INDICE DE CUADROS

Cuadro No.1	Resumen de las especies vegetales recolectadas, órganos seleccionados y lugar de recolección.	51
Cuadro No. 2	Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares: Sesquiterpenlactonas.	52
Cuadro No. 3	Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares: Alcaloides.	53
Cuadro No. 4	Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares: Flavonoides y Antraquinonas.	54
Cuadro No. 5	Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares: Taninos.	55
Cuadro No. 6	Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares: Glucósidos Saponínicos.	56
Cuadro No. 7	Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares: Glucósidos Cardiotónicos.	57
Cuadro No. 8	Porcentajes de la Mortalidad promedio sobre Artemia salina utilizando extractos de 25 especies vegetales a diferentes concentraciones.	62
Cuadro No. 9	Resultados de LC <sub>50</sub> y Coeficiente de correlación.	67



## RESUMEN

El presente estudio ha sido elaborado con el fin de determinar la bioactividad citotóxica de extractos de 25 especies vegetales, mediante el bioensayo con *Artemia salina*, utilizando el “Método de los Micropozos”, llamado así por utilizar una placa con un número determinado de micropozos que tiene las ventajas de ser un método de bajo costo, sencillo y confiable.<sup>14</sup>

La investigación se basa en el principio que se considera citotóxico todo extracto vegetal que presenta una Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>) menor de 1000 microgramo por mililitro, por lo que el rango de concentraciones a las que se realizó el bioensayo fue desde 1000 hasta 0.08 microgramo por mililitro.

La interpretación de este bioensayo se realizó a través de la introducción de los valores de las concentraciones y sus respectivos porcentajes de mortalidad en *Artemia salina* en un programa de computadora para Cálculo o prueba de Finney que mediante una fórmula de regresión lineal simple determina los valores de Concentración Letal 50. Además este valor viene acompañado por otro valor denominado Coeficiente de Correlación, el cuál indica el grado de confianza que presenta el valor calculado como Concentración Letal 50 cuanto más cercano esté a la unidad.

Los resultados de nuestra investigación revelan que los extractos de Casimiroa edulis (Matasano) y Piper tuberculatum (Cordoncillo) son considerados como activos en el bioensayo ya que poseen una Concentración Letal 50 menor a 100 microgramos por mililitros por lo que su poder citotóxico es muy elevado. Los extractos de Hyptis verticillata (Verbena blanca) y Lippia dulcis (Orozus) tienen una Concentración Letal 50 entre 100 y 500 microgramos por mililitros, y aunque su toxicidad es menor son considerados como activos respecto a sus efectos citotóxicos en el organismo. Es por esto que los extractos de estas cuatro especies vegetales no deberán seguir siendo utilizadas para el tratamiento de las diversas patologías para las que hasta hoy han sido destinadas.

En cuanto al resto de los extractos, presentan una Concentración Letal 50 mucho mayor a 1000 microgramos por mililitros o son inactivos en el bioensayo por lo que pueden ser usados con toda confianza para el tratamiento de las enfermedades para las cuales se ha demostrado su actividad terapéutica.

## INTRODUCCION

El uso de las plantas medicinales como fuente primaria de medicamentos es una práctica milenaria que mantiene su vigencia. Cada vez se adicionan nuevas especies al arsenal de plantas con propiedades terapéuticas demostradas por la ciencia; sin embargo para que sea admitido su empleo como fármaco, es necesaria la evaluación citotóxica de éstas. Los bioensayos de toxicidad son una herramienta intensamente utilizadas en países desarrollados y que actualmente se están introduciendo en países en vías de desarrollo como es el nuestro, con el objeto de evaluar en forma efectiva y eficiente los efectos tóxicos en los organismos vivos.

Desde los años sesenta se han realizado varios bioensayos tales como: análisis de residuos de pesticidas, micotoxinas, anestésicos, compuestos derivados de la morfina, toxicidad de aceites dispersantes, etc. Fue hasta 1992 que se comenzaron a realizar bioensayos con *Artemia salina*, el cuál es un crustáceo cuyas larvas son sensibles a gran variedad de sustancias y que fácilmente pueden medir la actividad biológica en cuanto a la citotoxicidad de extractos vegetales, por lo que este bioensayo se ha convertido en la base de nuestra investigación determinando la toxicidad a los extractos de 25 especies vegetales que actualmente están siendo utilizadas por nuestra población para el tratamiento de

diversas afecciones, cuyos atributos curativos han sido transmitidos de generación en generación a lo largo de los siglos.

Este trabajo forma parte de un macroproyecto de bioensayos simples que se realiza en la sección de Investigación Aplicada y Tesis Profesionales de la Facultad de Química y Farmacia bajo la colaboración del Programa de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) y Centro de Investigaciones de la Flora Panameña (CIFLORPAN).

# **CAPITULO I**

## **Revisión Bibliográfica.**

## Monografías de las Especies Vegetales

### 1.1 Bocconia arborea

**Familia:** Papaveraceas

**Nombres comunes:**

Sangre de Toro, Tiñe

canasto, Lloro sangre.<sup>14</sup>



**Hábitat y Distribución:** Habita en bosques de encino, pino-encino y otras coníferas desde el nivel del mar hasta los 1600 metros sobre el nivel del mar. No recibe manejo en el bosque. La semilla se recolecta de mayo a junio. En El Salvador se cultiva en varias zonas de nuestro país: Panchimalco e Izalco, también es importada desde Guatemala.<sup>14</sup>

**Descripción Botánica:** Arbusto o árbol de 2.5 metros a 6 metros de altura, muy ramificado; hojas pinatilobadas, haz glabro y envés más o menos tomentoso, color café. Flores reunidas en panículas. Tienen la característica de poseer látex.<sup>14</sup>

**Contenido Químico:** Las hojas contienen alcaloides, flavonoides. La corteza alcaloides y triterpenos. La raíz contiene alcaloides, glicósidos saponínicos.<sup>14</sup>

**Actividad Biológica:** Los extractos etanólicos y acuosos de raíz y tallo, fueron activos contra *Staphylococcus aureus*. El extracto acuoso de hoja también mostró actividad contra *Staphylococcus aureus*.<sup>14</sup>

**Usos Medicinales:** La savia se usa en odontalgias, en Guatemala. En México se comprobó que sus alcaloides inyectados producían anestesia local. Se usa como hipotensor y sedante. Un estudio se llevó a cabo experimentalmente con pacientes voluntarios, con odontalgias. Calmó el dolor en el 50% de los casos.<sup>14</sup>

**Toxicidad:** En la revisión de literatura no se encontraron referencias sobre la toxicidad de esta especie.

## 1.2 Byrsonima crassifolia

**Familia:** Malpighiaceae

**Nombres Comunes:** Nance, Chi, Carbo, Nanche, Nanzin, Tapal, Zacpah.<sup>14</sup>



**Hábitat y Distribución:** Nativo del Caribe, México, Centro y Sur América en bosques secos de pino–encino y de clima tropical hasta 1800 metros sobre el nivel del mar. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chiquimula, El Progreso, El Quiché, Escuintla, Jutiapa, Huehuetenango, Izabal, Jalapa, Petén, Quezaltenango, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa.<sup>7</sup>

**Descripción Botánica:** Árbol de 3-10 metros de alto, copa redondeada o extendida, tronco recto, corteza café oscuro, rugosa, rosada por dentro. Hojas siempre verdes opuestas, ovaladas o elípticas, coriáceas, 5-20 centímetros de largo y 4-15 centímetros de ancho, puntiagudas. Flores de 5 pétalos, amarillas o anaranjadas, 1-2 centímetros de ancho, numerosas, en grupos erectos de 12 centímetros de largo.<sup>7</sup>



Fruta en drupa, 8-12 milímetros de diámetro, piel delicada, amarilla, carnaza blanca, 5 milímetros de espesor, jugosa, ácida, con olor peculiar, tiene una semilla negra muy dura.<sup>7</sup>

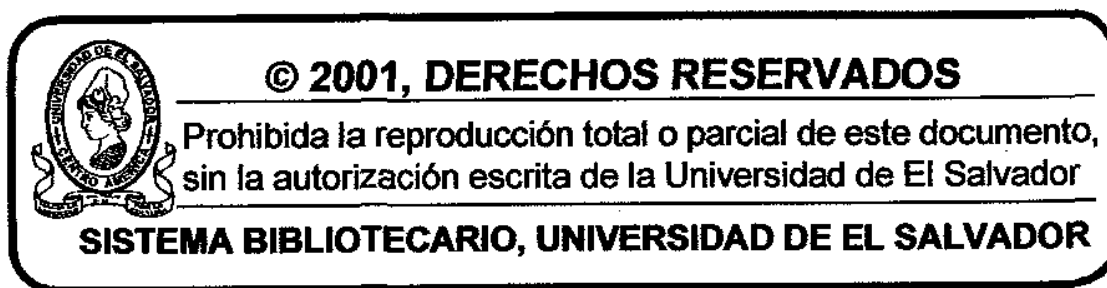
**Contenido Químico:** La corteza contiene taninos (20-30%), ácido oxálico (2.7%), glicósidos, flavonoides, saponinas, sesquiterpenlactonas y triterpenos ( $\beta$ -amirinas). El tamizaje fitoquímico de hojas indica saponinas, esteroides insaturados, cardenólidos, bufadienólidos, flavonoides, leucoantocianinas, taninos, polifenoles y triterpenoides (birsominol); contiene terpenos (betulinaldehído, betulina, ácido betulínico, lupeol, ácido oleoanólico, ursenaldehído), esteroides ( $\beta$ -sitosterol y su glucósido), flavonoides (catequina, epicatequina, guayaverina, hiperina, quercetina y galoil galactósido), éster aromático (metil galato), amino ácidos (alanina, ácido aspártico, prolina, valina, ácido piperónico y 5-hidroxipiperónico) y un sulfonoglicolípido. La raíz tiene flavonoides, glicósidos cardiotónicos, sesquiterpenlactonas, taninos y triterpenos.<sup>1</sup>

**Usos Medicinales:** El cocimiento de corteza y flores se usa por vía oral para tratar afecciones respiratorias, digestivas, dolor de muelas, hemorragias, mordeduras de culebra, parásitos y favorecer el parto y la expulsión de la placenta.

El fruto se usa para tratar fiebres y las semillas para la disentería. Por vía tópica se usa para tratar afecciones dermatomucosas, tumores y apretar los dientes.

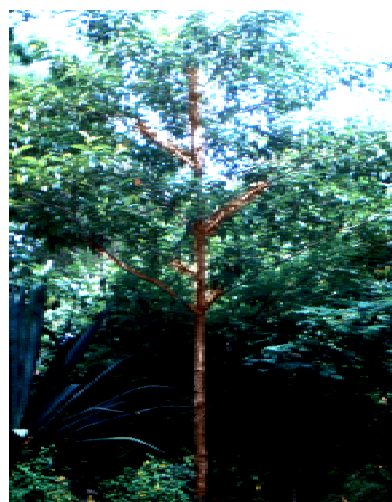
Por su acción astringente y antibacteriana está indicado su uso por vía oral en el tratamiento de diarrea, atonía gástrica y cólera. Por su actividad astringente, antiséptica y antifúngica está indicado su uso tópico en el tratamiento de candidiasis (oral y vaginal), tiña y úlcera. Se le atribuye propiedad acaricida, antifúngica, antineurálgica, antitusiva, astringente, cicatrizante, desinflamante, emenagoga, febrífuga, galactogoga y tónica. El fruto se come fresco, el mesocarpio representa hasta 40% del fruto y se prepara de numerosas formas. La corteza es dura y flexible, se usa en la industria de cueros, para teñir de color café claro hilos de algodón y la madera en la construcción y fabricación de carbón. La cáscara del fruto se usa para teñir hilos de algodón de color encarnado, del fruto verde se obtiene una tinta. La corteza se usa para envenenar peces.<sup>1</sup>

**Actividad Biológica:** Estudios antimicrobianos demuestran que el extracto acuoso de hojas, corteza y raíz es activo contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. La tintura de corteza es activa contra *Vibrio cholerae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida albicans*.



El extracto etanólico tiene buena actividad nematocida. En un estudio de tres grupos de personas con lesiones confirmadas de candidiasis oral, agrupadas y tratadas aleatoriamente, se demostró mejoría negativización del exámen microscópico en 70% de los tratados con trociscos a base del extracto etanólico de corteza, 90% de los tratados con un enjuague a base de tintura de corteza y 83% en el grupo tratado con clotrimazol.<sup>1</sup>

**Toxicología:** A la corteza se le atribuye cierta toxicidad, pero no hay estudios específicos. Los extractos acuoso y etanólico de hojas, corteza y raíz son tóxicos a peces del género *Mollinesia*. La infusión de corteza por vía oral en ratón no tiene toxicidad aguda en dosis de 1-5 gramos por kilogramo.<sup>1</sup>



### 1.3 Jacquinia aurantiaca

**Familia:** Teofrastaceas

**Nombres comunes:** Mirra.



**Hábitat y Distribución:** Esta planta proviene posiblemente de África, pero es sembrada en muchas regiones tropicales, alcanzando de uno a uno y medio metro de alto. Posee flores acampanadas, solitarias. La mejor época para la siembra es entre septiembre y diciembre.<sup>14</sup>

**Descripción Botánica:** Arbusto o árbol pequeño de 1.5- 4 metros de altura, muy enramado. Hojas elíptico-lanceoladas u oblongas. Flores en racimos color anaranjado, fruto globoso u ovoide.<sup>14</sup>

**Contenido Químico:** Los resultados de laboratorio han determinado que las hojas y flores contienen alcaloides, flavonoides, glicósidos saponínicos, sesquiterpenlactonas, taninos, triterpenos. El tallo contiene alcaloides, taninos, glicósidos saponínicos, sesquiterpenlactonas.<sup>14</sup>

**Actividad Biológica:** Los extractos acuosos y etanólicos de hojas, tallos y flores, no manifestaron actividad inhibitoria en los cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.<sup>14</sup>

**Usos Medicinales:** Es utilizada para aliviar el dolor de cabeza y los mareos. Se colocan las flores secas sobre brasas y el humo que despiden al quemarse debe ser aspirado profundamente. Tiene propiedades antiinflamatorias y antibióticas. Sus componentes le confieren fundamentalmente propiedades expectorantes, antitusivas y antisépticas. También se le atribuye acción antiespasmódica, antifúngica, astringente y estimulante inmunitaria, circulatoria y digestiva. En uso externo es balsámica y desinfectante. Se usa para ayudar a la cicatrización de las heridas y a su desinfección, en reumatismos y en cosmética entra en la composición de algunas cremas nutritivas. Se utiliza sobre todo, en inflamaciones de la cavidad oral (gargarismos y dentríficos) y afecciones respiratorias. No usar durante el embarazo, pues algunos autores le atribuyen una acción estimulante uterina.<sup>41</sup>

**Toxicidad:** Dichos extractos fueron sumamente tóxicos para los peces, que murieron casi instantáneamente en ellos.<sup>14</sup>

#### 1.4 Litsea glaucescens.

**Familia:** Lauráceas

**Nombres comunes:** Aguardel,  
Laurelillo, Spac-tzé, sufricalla,  
zit-zuch, Laurel.



**Hábitat y Distribución:** Es nativo de México a Centro América; en Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Huehuetenango, Quetzaltenango, San Marcos y Zacapa. Se propaga por semillas y flores de Febrero y Junio.<sup>32</sup>

**Descripción Botánica:** Pequeño árbol, muy ornamental. Hojas perennes, alternas, coriáceas, ahusadas, divididas claramente por un nervio central, son de color verde oscuro y brillante por el haz y más claro por el envés. Altura normalmente 2 metros, alcanza los 25 metros en climas cálidos. Floración en primavera.

Las flores son blancas o amarillentas y se agrupan en las axilas foliares (donde las hojas se unen al tallo) . El fruto parece una aceituna pequeña y es de color negro. Al romper las hojas, despiden un fragante y característico aroma, muy agradable.<sup>32</sup>

**Contenido Químico:** El aceite esencial contiene 1,8-cineol (22%), sabineno (13%), terpineno-4-ol (10%),  $\gamma$ -terpineno (9%), acetato de  $\alpha$ -terpenilo (7%), acetato de nerilo (7%),  $\alpha$ -pineno (5%), sabineno y  $\beta$ -pineno (4%).<sup>14</sup>

**Usos Medicinales:** El cocimiento de hojas por vía oral se usa para el tratamiento de afecciones respiratorias y gastrointestinales, carencia de leche en la madre e hinchazón. El cocimiento de la corteza se usa para tratar mordeduras de culebras y de perros. Tópicamente se usa en lavados y baños para cansancio, úlceras, piernas hinchadas y epilepsia, en sahumeros se usa para parálisis. Se le atribuye propiedad aromática, antiséptica, astringente, balsámica, carminativa, emenagoga, emoliente, estimulante, espasmolítica, febrífuga y pectoral. Las hojas aromáticas son muy empleadas como condimento en la preparación de platillos como sopa, guisos y repostería.

De las hojas se extrae un aceite etéreo con aplicación en la industria de cervezas y salchichas. Se usa popularmente haciendo lavados vaginales cociendo hojas secas en agua contra la Leucorrea, también se utilizan emplastos de hojas colocándolas sobre la piel en la parte afectada en enfermedades tópicas como la dermatitis alérgica o por contacto.

Su uso tópico en forma de alcoholato o pomada se indica como antirreumático, pediculicida y parasiticida. Está indicando en el tratamiento de anorexia, digestión lenta, espasmo gastrointestinal, meteorismo y bronquitis crónica.

Para uso tópico se recomienda la decocción de 5 hojas taza en el tratamiento de estomatitis, faringitis y sinusitis, usada como colutorio, gargarismo o compresa.<sup>14</sup>

**Toxicología:** En la revisión de literatura no se encontraron referencias sobre la toxicidad de esta especie.



## 1.5 Phithecellobium dulce

**Familia:** Leguminosas

**Nombres Comunes:**

Mongollano, Espino,

Mongollano blanco,

Guachimol, Guachacán

blanco, Chucún.<sup>14</sup>



**Hábitat y Distribución:** Es nativa de una vasta región que se extiende desde las laderas del Pacífico en México y en el Sur de California, pasando por América Central hasta Colombia y Venezuela. Se ha plantado y naturalizado ampliamente en muchas regiones tropicales, particularmente en las regiones más cálidas y secas de las Filipinas e India.<sup>2</sup>

**Descripción Botánica:** Es un árbol grande, casi siempre verde que alcanza hasta 20 metros de altura y tiene una copa amplia (hasta 30 metros de ancho) y un tronco corto (hasta 1 metro de diámetro). En la base de cada hoja normalmente se encuentra un par de espinas cortas y puntiagudas, aunque algunos especímenes carecen de ellas.<sup>2</sup>

**Composición Química:** La hoja contiene alcaloides, flavonoides, glicósidos saponínicos y taninos. El tallo y la raíz contienen además triterpenos.<sup>14</sup>

**Usos Medicinales:** Tiene poder astringente utilizándose la pulpa del fruto. Del tallo se prepara una decocción para realizar enjuagues y es usado para dolor de muelas y piorrea. Hemostático en hemorragias externas e internas. Contra heridas infectadas y contra calenturas. Antidisentérico. La corteza se ha usado en remedios caseros y en otros lugares en la tenería. La pulpa blanca, agridulce alrededor de las semillas puede ser comida o preparada en una bebida. Esta atractiva especie se utiliza en la ornamentación de carreteras. La madera es duradera, se pule bien y se utiliza en varios países para la construcción general y para postes.

**Actividad Biológica:** Los extractos acuosos y etanólicos de hojas y raíz, no mostraron actividad, inhibitoria contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.<sup>14</sup>

**Toxicología:** La presencia de saponinas le confieren alta toxicidad, por lo que se recomienda no usar dosis elevadas, ni uso prolongado. Dichos extractos presentaron alta toxicidad para los peces.<sup>14</sup>

## 1.6 Sesamum indicum

**Familia:** Pedaliaceae

**Nombres Comunes:** Ajonjolí,  
sésamo.



**Hábitat y Distribución:** El ajonjolí es cultivado hoy en día en todos los climas más cálidos de las zonas cercanas al Ecuador. Las principales zonas de cultivo están localizadas en la India, China, Ecuador, Honduras, Nicaragua y México, y es cultivado también abundantemente en Egipto. Las plantas son cultivadas una vez al año, las cuales alcanzan una altura alrededor de 2 metros (cerca de 6 pies) en tres o cuatro meses. Las plantas son cortadas y secadas, y al momento de secarse, las cápsulas que contienen las semillas se abren y las semillas son fácilmente extraídas al sacudir las plantas en una posición de cabeza.<sup>42</sup>

**Descripción Botánica:** Planta herbácea de 1 metro erecta, cultivada. Hojas alternas con glándulas vesiculosas.

La flor es tubular, en forma de campana con doble labio, aparece en colores palo de rosa hacia blanco y tiene una longitud de 2 a 2.5 centímetros. Fruto capsular quinquelocular, dehiscente con numerosas semillas amarillo claro, oleosas, de sabor dulce.<sup>42</sup>

**Composición Química:** El ajonjolí contiene 18.6 % de proteínas. Unos cien gramos de semillas de ajonjolí contienen un gran porcentaje de las Vitaminas B requeridas: Tiamina 0 .98, Riboflavina 0 .24 , Niacina 5.4.<sup>42</sup> La hoja, el tallo, la raíz contienen alcaloides, taninos, triterpenos.<sup>14</sup>

**Usos Medicinales:** Por su aceite las semillas tienen propiedades alimenticias, dermatológicas y aumenta mucho la leche materna, cocidas en agua y consumida diariamente. Se utiliza también como antidiarréico haciendo un té con hojas secas de ajonjolí, tomando media taza por la mañana y por la tarde.<sup>42</sup>

El aceite extraído de la semilla de ajonjolí es usado en cocina, como aceite para ensaladas, y en la elaboración de margarinas.

De acuerdo con los dermatólogos, el principal problema es la resequedad de la piel, según algunos estudios clínicos, la causa de la resequedad de la piel es la deficiencia de ácidos grasos esenciales.

Puede ser la razón para sentir comezón, tener marcas de estiramiento, caspa y escamosidad en cualquier parte del cuerpo. La aplicación local en forma de ungüento mejora las malas condiciones de la piel causadas por dietas deficientes y por tensión. Algunas personas se aplican localmente aderezos para ensaladas. Ahora se pueden adquirir cremas cosméticas que contienen ácidos grasos poliinsaturados, es utilizado hoy en día ya que ayuda a reducir las malas condiciones de la piel causadas por estrés y dietas deficientes, por los elementos únicos que contiene ayuda a la cicatrización de las heridas y estimula la reparación de tejidos.<sup>42</sup>

**Actividad Biológica:** Los extractos acuosos y etanólicos de hojas, tallo, semillas y raíz no mostraron actividad inhibitoria en los cultivos de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.<sup>14</sup>

**Toxicología:** Dichos extractos no presentaron ninguna toxicidad para los peces.<sup>14</sup>

## **2 Bioensayo**

### **2.1 Concepto y Clasificación**

Procedimientos de prueba realizados en unidades moleculares o celulares sencillas y en organismos más complejos; con el objeto de reconocer e investigar la existencia de nuevas sustancias de origen natural capaces de ejercer efectos biológicos, principalmente de tipo citotóxico, antitumoral ó anticancerígeno.

Los bioensayos se clasifican en: ensayos in vitro y ensayos in vivo, atendiendo a que se empleen unidades celulares u organismos de animales respectivamente.<sup>18</sup>

#### **Bioensayo in vitro:**

El término cultivo in vitro es un término muy genérico que se refiere más bien a la metodología usada que al propio objetivo de ese método. En sentido estricto, in vitro quiere decir "dentro de vidrio", es decir, el cultivo de plantas o de alguna de sus partes (pero también de células y tejidos animales) dentro de recipientes de vidrio en condiciones de ambiente controlado.<sup>18</sup>

#### **Bioensayos in vivo:**

Son definidos como las pruebas que tienen como blanco de experimentación organismos de animales que presentan similitud con las células humanas por lo que pueden predecir la actividad citotóxica de nuevas drogas descubiertas.<sup>18</sup>

### **Ventajas del Bioensayo con Artemia salina:**

La Artemia salina tiene varias características las cuales la hacen ideal para su uso en bioensayos, es decir, fácil manejo, porque mantiene un estado latente en forma de cistos (huevecillos) secos los cuales pueden ser fácilmente almacenados, transportados, etc.

La Artemia es adaptable a altos rangos de condiciones ambientales, no es selectivo en su alimentación debido a que es un animal puramente filtrador, es capaz de crecer a altas densidades (10,000 individuos por litro) tiene alta tasa de fecundidad y largo ciclo de vida.<sup>40</sup>

## **2.2 Generalidades sobre la Artemia salina**

### TAXONOMÍA DE LA ARTEMIA<sup>16</sup>

#### Clasificación

Phyllum	Artrópoda
Clase	Crustácea
Subclase	Branquiopoda
Orden	Anostracea
Familia	Artemiidae
Género	Artemia, Leach 1819

El nombre específico *Artemia salina* no es taxonómicamente válida en la actualidad. Experiencias de cruzamiento entre diferentes poblaciones de *Artemia* han demostrado el aislamiento reproductivo de algunos grupos poblacionales. Y esto ha llevado al reconocimiento de especies hermanas a las que se les han dado nombres diferentes.<sup>16</sup>

Entre las cepas bisexuales de *Artemia* (poblaciones compuestas por ejemplares machos y hembras), se han descrito hasta la fecha 6 especies hermanas:

*Artemia salina* Lymington England

*Artemia tunisiana*: Europa

*Artemia franciscana*: América (Norte, Centros, Sur)

*Artemia persimilis*: Argentina

*Artemia urmiana*: Irán

*Artemia mónica*: California-USA.<sup>44</sup>

La *Artemia salina* es un pequeño organismo que vive en las aguas salobres e hipersalinas de todo el mundo. Es la presa viva más adecuada para la alimentación de los estadíos post-larvarios de muchas especies de peces y crustáceos marinos. Y en su fase adulta resulta un aporte alimenticio interesante para multitud de invertebrados y peces que pueblan los acuarios.



Las ventajas que representa como alimento son:

- Pequeño tamaño (adultos 8-13 milímetros de longitud).
- Elevado contenido en proteínas (nauplios 50-60%; adultos 40-50%. Ver literal 2.3)
- Gran eficiencia en la conversión del alimento.
- Reproducción por medio de quistes durables que toleran la desecación y pueden ser activados en cualquier momento bajo condiciones adecuadas.

En la naturaleza este crustáceo vive en condiciones de salinidad sumamente extrema que puede variar de 60 a 200 partes por trillón. En estas condiciones desarrolla una vida normal y no tiene competidores por el alimento ni depredadores.<sup>40</sup>

## **2.3 Ciclo de Vida<sup>40</sup>**

La Artemia posee varios estadios en su ciclo de vida:

### **2.3.1 Cistos**

Es un huevecillo de aproximadamente 200 a 300 micras de diámetro puede mantenerse inactivo por algún tiempo hasta obtener las condiciones óptimas para pasar a su segundo estado: nauplios.<sup>40</sup>

### **2.3.2 Nauplios**

Inmediatamente después de la ruptura de la membrana del cisto sale el nauplio, el cual mide aproximadamente 0.4 a 0.5 milímetro y pesa aproximadamente 0.002-0.003 miligramo.<sup>40</sup>

### **2.3.3 Juveniles**

Son pequeñas larvitas de aproximadamente de 2 a 4 milímetro, las cuales nadan libremente. Se les observa un tracto digestivo funcional, un abdomen alargado y muchos apéndices bien diferenciados.<sup>40</sup>

### **2.3.4 Adultos**

Estos son de aproximadamente 8 a 10 milímetro, se les observa once pares de teracópodos muy bien diferenciados con antenuelas sensoriales, un par de ojos laterales y tracto digestivo completo.<sup>40</sup>

## **2.4 Condiciones Optimas del Medio de Cultivo<sup>40</sup>**

### **2.4.1 Salinidad**

La salinidad óptima a mantener es de 120 a 150 partes por trillón, a esta salinidad la Artemia mantendrá un ciclo de vida normal y libre de depredadores.<sup>40</sup>

### **2.4.2 Temperatura**

La temperatura óptima en el día oscila entre los 30- 35 grados centígrados y durante la noche de 23 a 28 grados centígrados.<sup>40</sup>

### **2.4.3 pH**

El pH del agua normal debe estar entre 7.5 a 8.9, un pH mayor o menor de este rango es letal para la Artemia.<sup>40</sup>

### **2.4.4 Oxígeno disuelto**

La Artemia no requiere alto grado de oxígeno en el agua, su rango está entre 1.5 y 3 partes por millón.<sup>40</sup>

## **2.5 Citotoxicidad**

Es la capacidad que tienen ciertas sustancias de destruir o lesionar las células tisulares. Todas las sustancias con efecto tóxico, por variado que éstas sean, son compuestos químicos complejos que provocan enfermedades, o en casos muy graves, ocasionan la muerte según la dosis ingerida.<sup>35</sup>

Entre las sustancias tóxicas que contienen muchas plantas se encuentran alcaloides, glicósidos cardiotónicos, saponinas y terpenoides.

Gran parte de la población, desconoce los efectos tóxicos de muchas plantas. La toxicidad depende de la sustancia, de su concentración, del lugar donde crece la planta y el estado de desarrollo.

También la concentración de las sustancias tóxicas puede variar mucho en las diferentes partes de la planta, como raíces, hojas, tallos, flores, frutos o semillas.

La evaluación de la actividad tóxica de los extractos vegetales o compuestos purificados es indispensable para considerar que un tratamiento es seguro.<sup>35</sup>

Dentro de la investigación citotóxica que presentan los extractos de las especies vegetales en estudio sobre los nauplios de *Artemia salina*, se incluye: la determinación de la Concentración Letal Media ( $LC_{50}$ ) con la finalidad de conocer la concentración que producirá un efecto tóxico en el 50% de la especie en experimentación y visualizar la relación riesgo-beneficio que implicará el uso de estos extractos vegetales como alternativa medicinal.

Los valores de la Concentración Letal 50 ( $LC_{50}$ ) se consideraran activos cuando ésta sea menor a 1,000 microgramos por mililitro. Estas especies vegetales activas presentan un efecto letal sobre el animal en experimentación indicando su gran poder citotóxico.<sup>14</sup>

## **CAPITULO II**

### **Parte Experimental.**

## 1 Recursos Materiales

### 1.1 Especies Vegetales

<b>Nombre Científico</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Órgano utilizado</b>
<u>Anredera vesicaria</u>	Suelda con suelda	Hojas
<u>Bocconia arborea</u>	Sangre de Toro	Hojas
<u>Bougainvillea glabra</u>	Veranera ocre	Flores
<u>Byrsonima crassifolia</u>	Nance	Corteza
<u>Casimiroa edulis</u>	Matasano	Hojas
<u>Cupressus lusitanica</u>	Ciprés	Hojas
<u>Cymbopogon nardus</u>	Citronela	Hojas
<u>Urera baccifera</u>	Chichicaste	Hojas
<u>Blumea viscosa</u>	Talía	Hojas y tallo
<u>Hyptis mutabilis</u>	Chichinguaste	Hojas
<u>Hyptis verticillata</u>	Verbena blanca	Hojas
<u>Jacquinia aurantiaca</u>	Mirra	Flores
<u>Litsea glaucescens</u>	Laurel	Hojas
<u>Lippia dulcis</u>	Orozu	Hojas
<u>Passiflora quadrangularis</u>	Granadilla	Fruto
<u>Piper tuberculatum</u>	Cordoncillo	Hojas
<u>Pithecellobium dulce</u>	Mongollano	Corteza
<u>Plantago major</u>	Llantén	Hojas
<u>Photomorphe umbellata</u>	Santa María	Hojas
<u>Rosmarinus officinalis</u>	Romero	Hojas
<u>Sesamum indicum</u>	Ajonjolí	Semilla
<u>Solanum hernandesii</u>	Huistomate	Hojas
<u>Solanum mammosum</u>	Chichigua	Fruto
<u>Tagetes lucida</u>	Pericón	Flores y hojas
<u>Vetiveria zizanioides</u>	Vetiver	Raíz

### 1.2 Animal de Experimentación

Nauplios de Artemia salina

### **1.3 Componentes del Medios de cultivo**

Sal de mar Sigma Chem. Co.

Levadura comercial

Agua destilada

### **1.4 Materiales y Cristalería**

Agitadores de vidrio

Algodón

Ampolla de separación (125 mililitro)

Aro metálico

Balones volumétricos con tapones de vidrio (10 y 100 mililitro)

Beakers (600,100,50,25 y 10 mililitros)

Cápsulas de porcelana

Embudos de vidrio

Espátulas (metálicas y plásticas)

Frasco lavador

Frascos de vidrio

Goteros de vidrio

Gradillas

Guantes de goma

Mortero y pistilo

Pinzas de extensión para crisol  
Probetas (1000, 50, 25, 10 mililitro)  
Termómetros  
Tubing (mangueras)  
Tubos de ensayo  
Vidrio de reloj

## **1.5 Equipo**

Balanza Analítica  
Marca Mettler  
Modelo 45

Balanza Granataria  
Marca Ohaus  
Modelo 1

Baño de María

Equipo de reflujo

Estereoscopio  
Marca Swift Modelo MZ 816

Extensión



Hot plate

Marca Thermolyne

Modelo HPA 1915 B

Lámpara de luz blanca

Marca General Electric

Modelo SK-891

Micropipetas

Marca Wheaton

Capacidad 100 microlitros

Capacidad 10 microlitros

Capacidad 200 microlitros

Marca Nichiyo CO, LTN.

Capacidad 10,20,40,52,50,100 microlitros

Motor para válvulas de oxigenación para peceras

Marca Elite Air Pump

Modelo 802

Peceras de vidrio

Piedras aireadoras

Marca Penn-plax

Capacidad 7/16, 1 cm

Placas de micropozos

Refrigerador

Marca Cetron, Mod SK-821

Salinómetro

Marca Aquarium Hydrometer

with thermometer

Válvulas de oxigenación para peceras de cinco salidas

Marca Penn-plax

Serie VN-5

Modelo Lok-Tite

## 1.6 Reactivos

### **Pruebas Fitoquímicas Preliminares:**

#### Soluciones

Ácido clorhídrico 1N (36%)

Acido clorhídrico concentrado

Acido sulfúrico 10 %

Acido Sulfúrico concentrado

Agua de bromo

Clorhidrato férrico al 1% en KOH

Indicador de rojo de metilo

Lugol

Peróxido de Hidrógeno 30%

Reactivo de Balget

Reactivo de Borntrager

Reactivo de Dragendorff

Reactivo de Kedde

Reactivo de Séller

Reactivo de Kelliani

Reactivo de Legal

Reactivo de Lieberman Burchard

Reactivo de Mayer

Reactivo de Salkowski

Reactivo de Shinoda

Reactivo de Wagner

Solución de clorhidrato de hidroxilamina 2N

Solución de clorhidrato de quinina 5%

Solución de cloruro férrico 1%

Solución de gelatina al 5 %

Sub acetato de Plomo 5%  
Solución de sulfato de atropina

Solventes

Acetato de etilo  
Alcohol metílico  
Anhídrido acético  
Benceno  
Cloroformo  
Etanol  
Piridina

Sólidos

Láminas de magnesio

**Bioensayo:**

Solvente

Dimetilsulfóxido (DMSO)

Sólido

Sulfato de cobre pentahidratado

## **2 Metodología**

### **2.1 Recolección de material vegetal**

Se recolectaron plantas en varios puntos del país, tomando en cuenta que, las muestras estuviesen en buen estado, libre de insectos, plagas y materiales extraños.

Se lavaron las muestras y luego se secaron al aire libre evitando que fuesen dañadas por el sol o cualquier otro agente externo.

Se seleccionó la parte que sería utilizada de cada planta: las hojas se trituraron, las raíces se cortaron en trozos pequeños y las semillas se fraccionaron.

### **2.2 Extracciones**

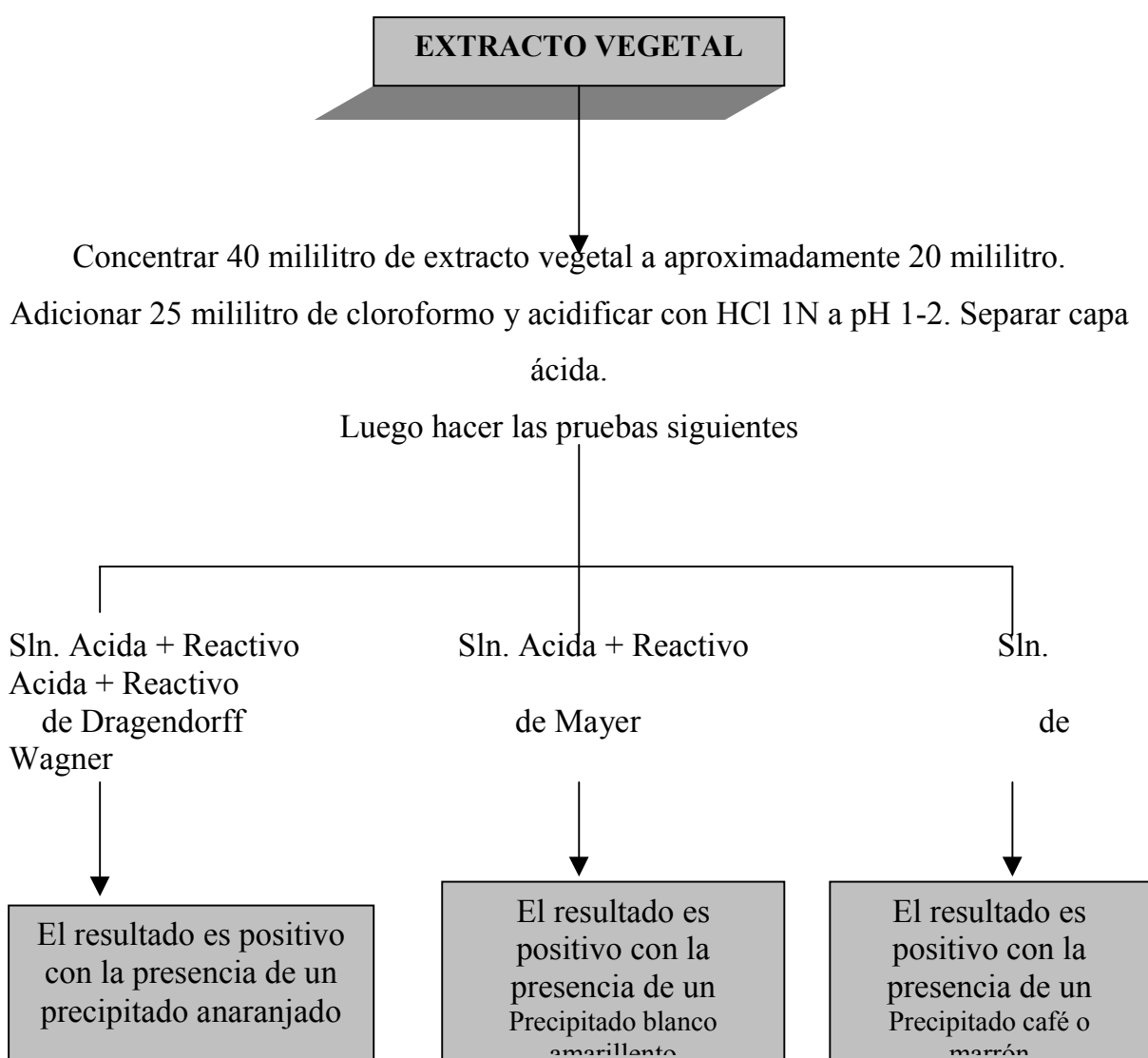
Se colocó 200 gramos del material vegetal en un aparato de reflujo con camisa térmica, agregando 1,000 mililitros de alcohol 90° y se reflujo durante 8 horas, se removió el alcohol de los extractos obtenidos en un baño de vapor.

Los extractos fueron envasados en frascos color ámbar.

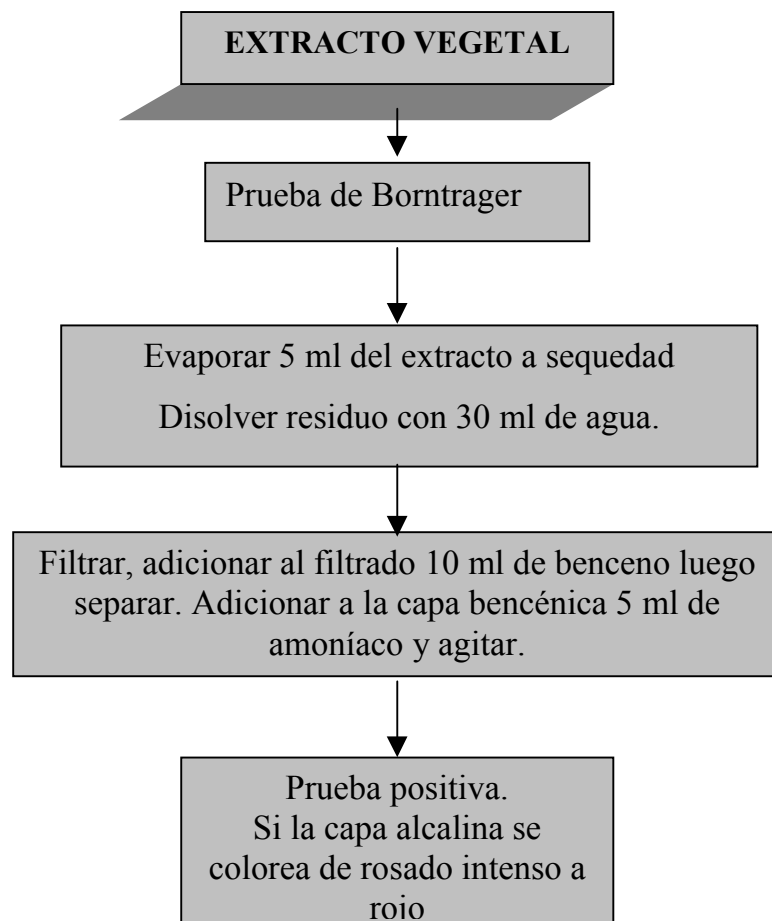
### **2.3 Determinación Fitoquímica Preliminar <sup>18</sup>**

Al extracto vegetal obtenido anteriormente se le realizaron las siguientes pruebas para identificar los metabolitos secundarios presentes en ellos:

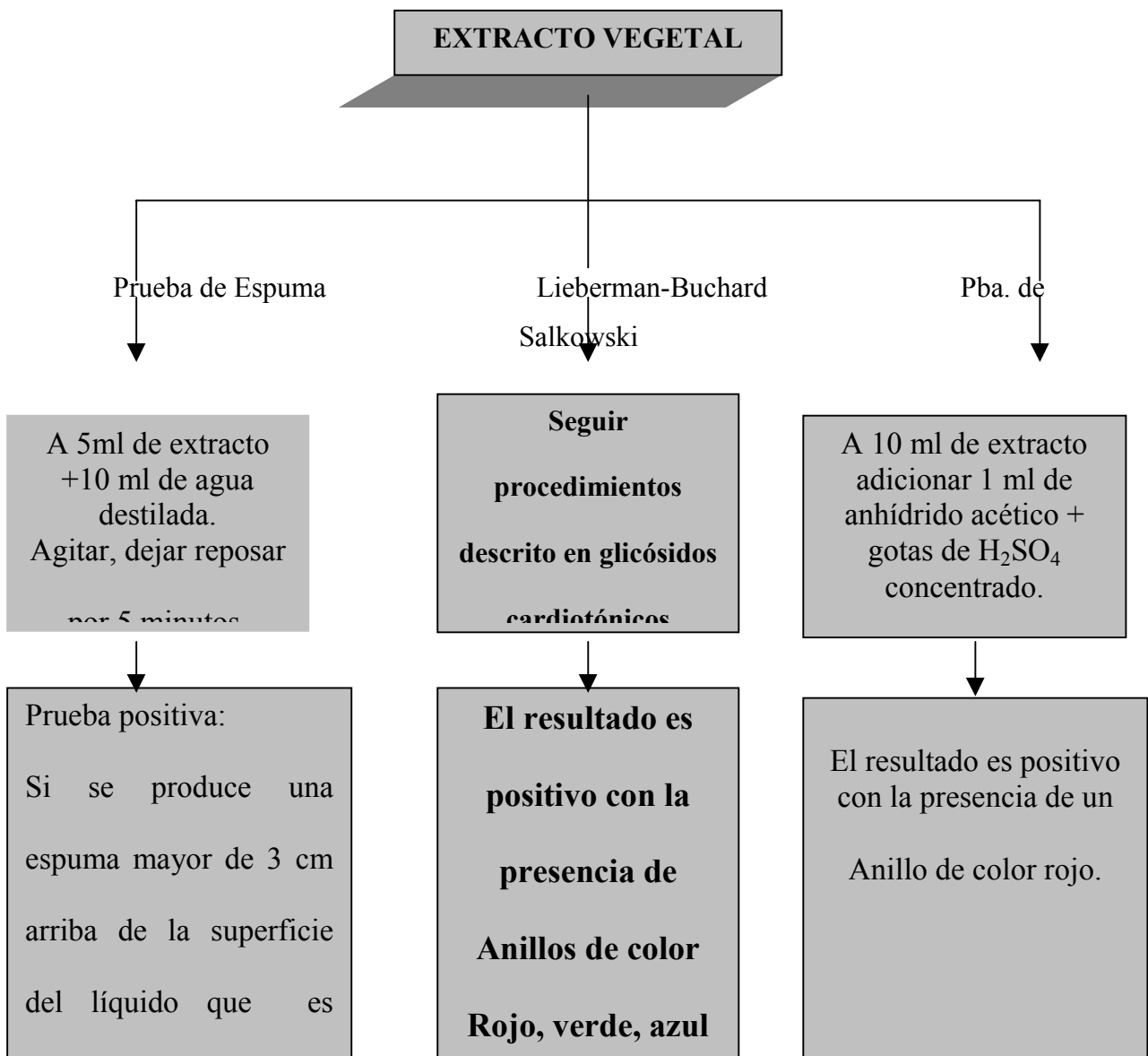
### Ensayos para determinar alcaloides



### Ensayos para determinar antraquinonas

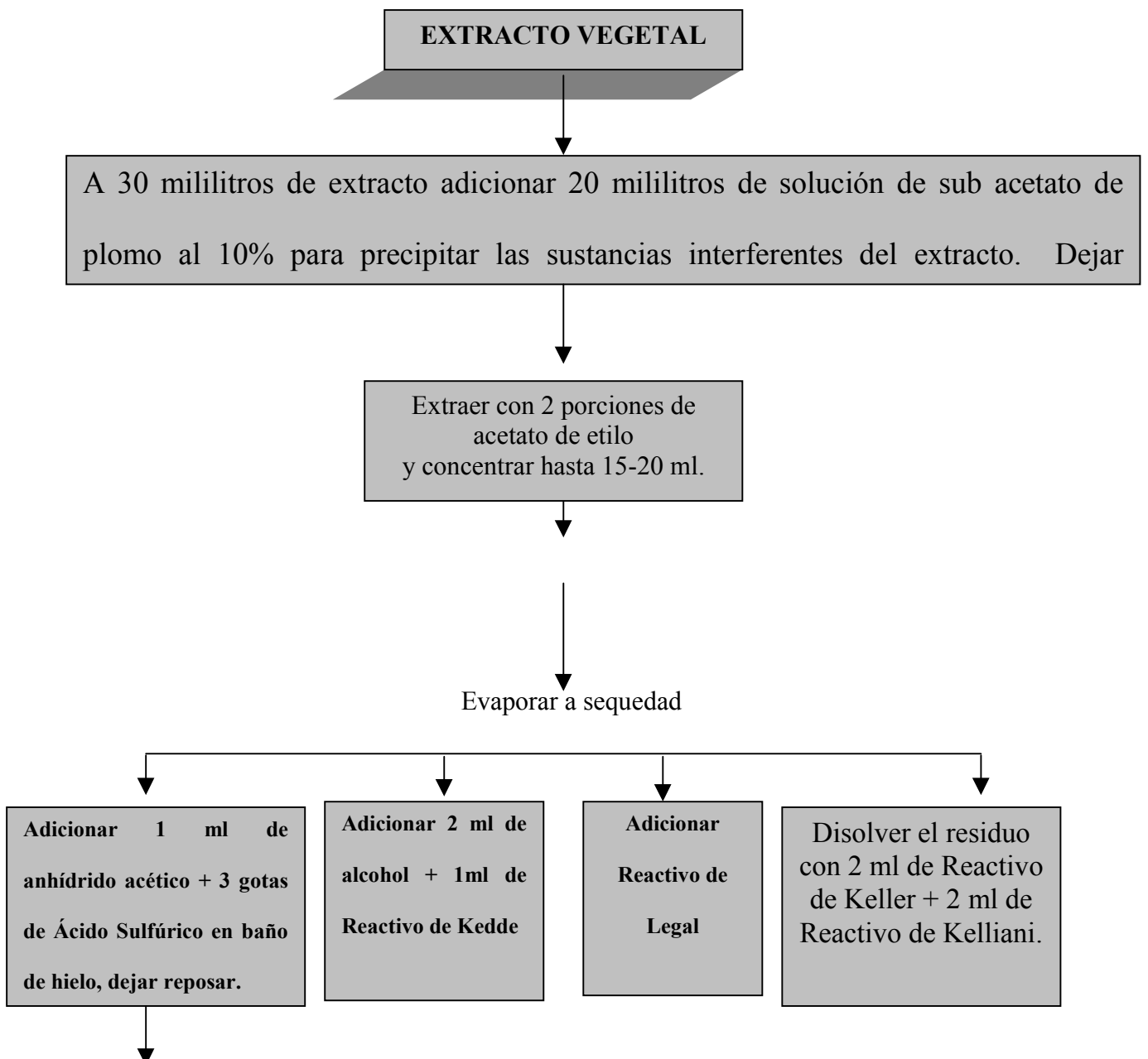


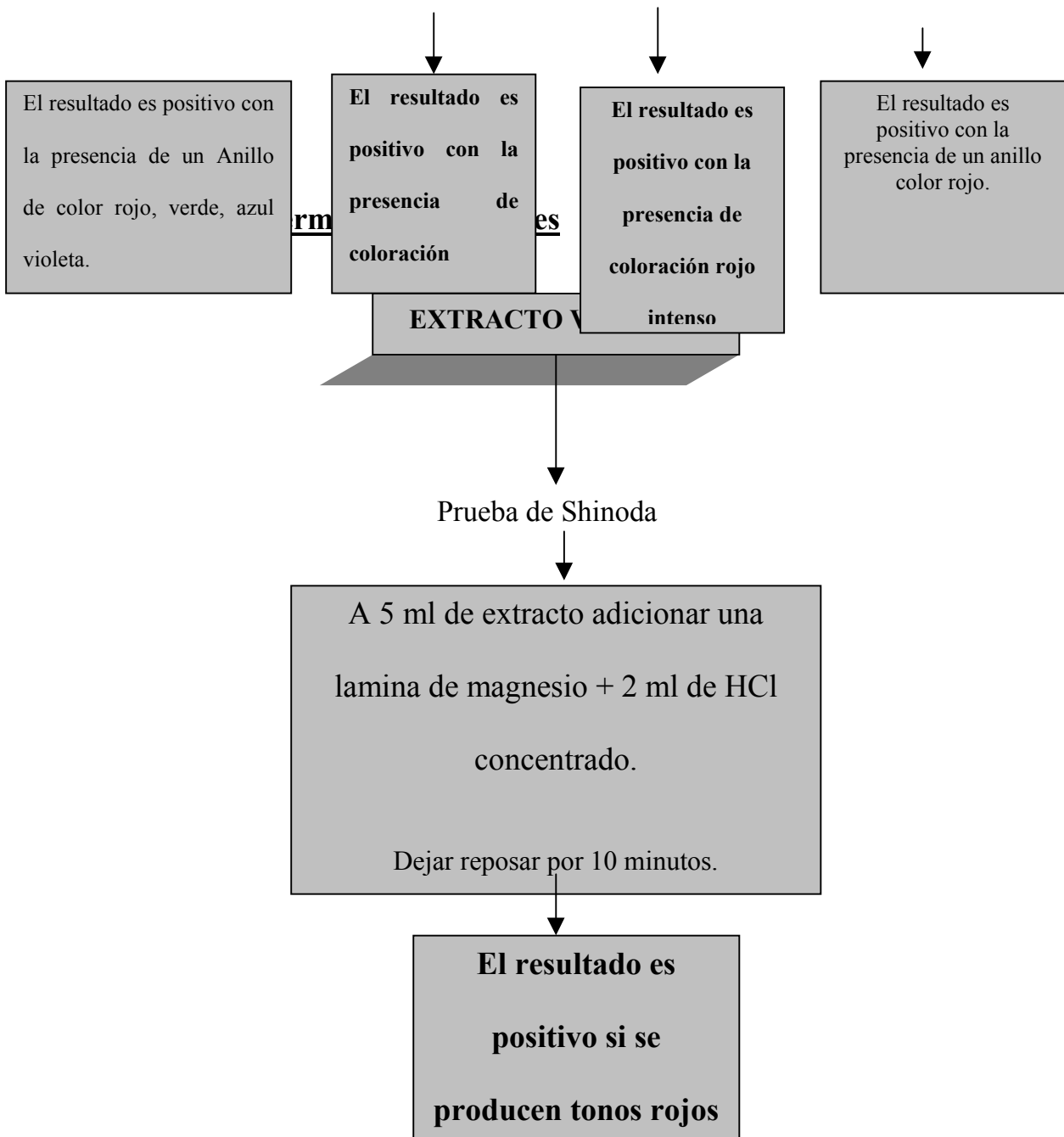
### Ensayos para determinar glicósidos saponínicos



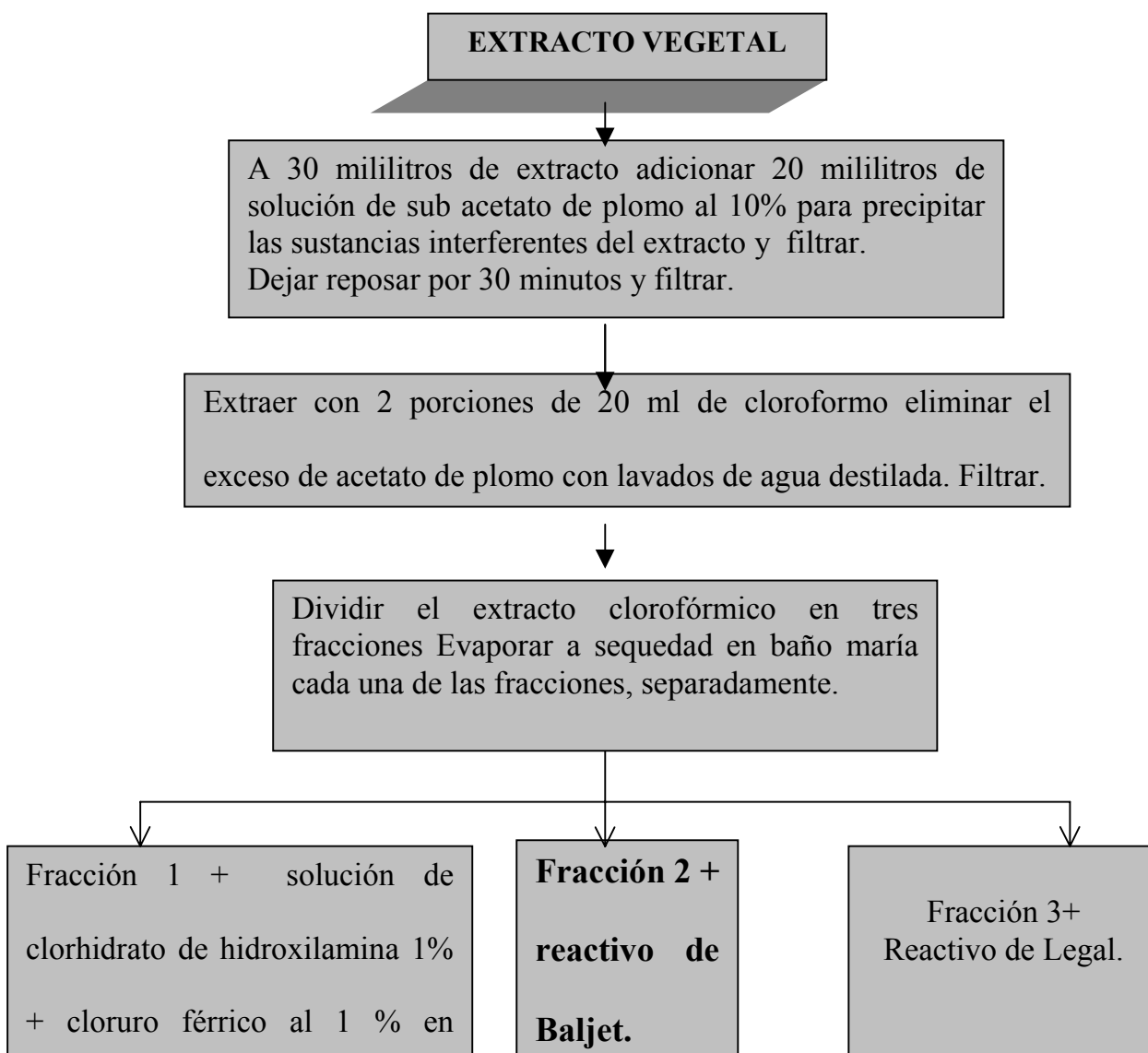


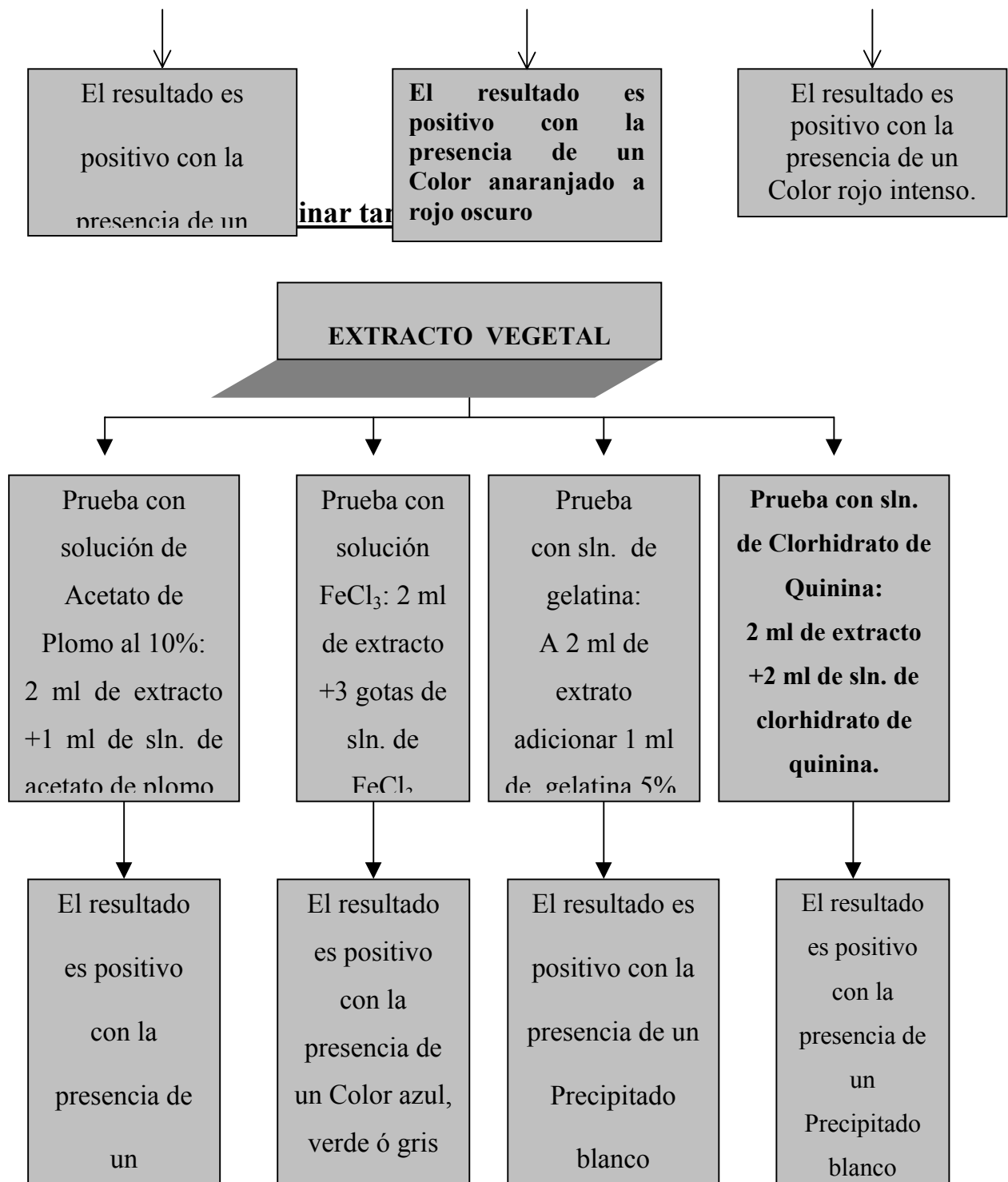
### Ensayos para determinar glicósidos cardiotónicos





### Ensayos para determinar Sesquiterpenlactonas





## **2.4 Bioensayo con Artemia salina.** <sup>45</sup>

### **2.4.1 Preparación del medio de cultivo (Agua de Mar)**

- a) Pesar 30 gramos de sal de mar y disolver en medio litro de agua destilada.
- b) Pesar 6 miligramos de levadura y disolver en 20 mililitros de agua destilada, calentar si es necesario.
- c) Mezclar ambas soluciones y aforar hasta un litro con agua destilada.

### **2.4.2 Preparación de los nauplios:**

- a) En un recipiente limpio de 400 mililitros colocar 200 mililitros de agua de mar (a temperatura ambiente) y aproximadamente 100 miligramos de huevecillos de Artemia salina (no es necesario hacer una pesada).
- b) Oxigenar la mezcla con ayuda de una bomba de aire para acuario, durante 30 horas aproximadamente a una temperatura de 22 a 29 grados Celcius.

- c) Al cabo de 30 horas separar los nauplios de los huevecillos, quitándoles el burbujeo y dejando que los nauplios se reúnan en una esquina del recipiente debido a su movimiento fototrópico.
- d) Remover los nauplios con la ayuda de una pipeta Pasteur y colocarlos en vaso de precipitado de 400 mililitros conteniendo 200 mililitros de agua de mar fresca, previamente oxigenada.
- e) Repetir esta operación en el caso que se hayan traspasado muchos huevecillos. Este paso asegura la edad o estadio de los nauplios utilizados en el ensayo.
- f) Continuar oxigenando alrededor de 18 horas, transcurrido este tiempo con un pipeta de 100 microlitros, contar cuantos nauplios promedio se recogen en cinco intentos. Se recomienda que las cantidades recogidas no excedan de 15 nauplios ni sean menores de 10 nauplios.

En caso de que haya una alta población de nauplios retirar el exceso, removiendo la oxigenación, utilizando una pipeta Pasteur. En caso de que el conteo sea menor de 10 nauplios adicionar nauplios frescos.

### **2.4.3 Preparación de las muestras**

Para cada uno de los extractos de las veinticinco especies vegetales se prepararon tres muestras a diferentes concentraciones, obteniéndose 75 muestras en total a las cuales se le realizó el bioensayo:

**Muestra 1 con una Concentración de 1,000 microgramos por mililitro:**

Pesar 10 miligramos del extracto de la especie vegetal y disolver en 0.5 mililitros de Dimetilsulfóxido (DMSO). Adicionar 9.50 mililitros de agua de mar, para completar una solución de una concentración de 1 miligramo por mililitro ó 1,000 microgramos por mililitro.

**Muestra 2 con una Concentración de 100 microgramos por mililitros:**

De la Muestra 1 se tomó una alícuota de 1 ml y se adicionó 9 ml de agua de mar, para completar una solución de una concentración de 0.1 miligramos por mililitro ó de 100 microgramos por mililitro.

**Muestra 3 con una Concentración de 10 microgramos por mililitro:**

De la solución anterior se tomó una alícuota de 1 ml y se adicionó 9 ml de agua de mar, para completar una solución de una concentración de 0.01 miligramos por mililitros ó de 10 microgramos por mililitro.

A partir de las tres diferentes concentraciones se realizo el bioensayo.

#### **2.4.4 Preparación blanco**

- a) Disolver 0.5 mililitros microlitros de Dimetilsulfóxido (DMSO) en 9.50 mililitros de Agua de Mar.

#### **2.4.5 Preparación de la solución patrón**

- a) Pesar en balanza analítica 12.5 miligramo de Sulfato de Cobre, transferir a un balón volumétrico de 50 mililitros y aforar con agua de mar, para obtener una concentración final de 250 microgramos por mililitro.

#### **2.4.6 Bioensayo**

- a) En un plato de 96 micro pozos (Ver Anexo 3), de 0.3 mililitros (300 microlitros), colocar 0.1 mililitros (100 microlitros) de agua de mar, excepto en la línea A.
- b) En los pozos A1, A2 y A3 colocar 0.2 mililitros (200 microlitros) de solución blanco. En los pozos A4, A5 y A6 colocar 0.2 mililitros (200 microlitros) de la solución patrón. En los pozos A7, A8 y A9 colocar 0.2 mililitros (200 microlitros) de solución de la muestra 1, en los pozos A10, A11 y A12 colocar la muestra 2, en otro microplato colocar en los pozos A1, A2 y A3 la muestra 3.



- c) Usando una pipeta de 8 canales a lo largo de la línea A (pozos del A1 al A8), remover 0.1 mililitros (100 microlitros) de la solución y colocarla en la línea B, mezclado por succiones repetidas de la solución.
- d) Luego remover 0.1 mililitros (100 microlitros) de ésta línea y colocarla en la línea C y mezclar; repetir este procedimiento hasta el final del plato. Al final quedarán 0.1 mililitros (100 microlitros) de solución que se debe descartar.
- e) Repetir este procedimiento para las columnas 9 a 12. Ahora todos los micropozos contienen 0.1 mililitros (100 microlitros) de solución. (Ver Anexo 3).

Para la muestra 1 la línea A tendrá una concentración de 1,000 microgramos por mililitro, la línea B de 500 microgramos por mililitro y así sucesivamente.

Para la muestra 2 la línea A tendrá una concentración de 100 microgramos por mililitro, la línea B una concentración de 50 microgramos por mililitro y así sucesivamente.

Para la muestra 3 la línea A tendrá una concentración de 10 microgramos por mililitro, la línea B una concentración de 5 microgramos por mililitro y así sucesivamente.

- f) Adicionar 0.1 mililitros (100 microlitros) de la suspensión de Artemia salina conteniendo entre 10 y 15 nauplios a todos los pozos.
- g) Tapar el plato e incubar a 22-29 grados Celsius durante 24 horas.

#### 2.4.7 Lectura de resultados:

- a) Luego de 24 horas de llenado de las placas, contar los nauplios muertos usando un estereoscopio (x12.5). Anotar este número en cada casilla de un cuadro simulando una placa.
- b) Adicionar 100 microlitros de metanol a todos los micropozos con la ayuda de una pipeta de 8 canales, este paso se realiza para matar los nauplios aún vivos, ya que es demasiado difícil contar los nauplios que están vivos, por la rapidez de sus movimientos, dejar reposar por unos 20 minutos. Contar, en todos los pozos, el total de nauplios y anotarlos en la respectiva casilla.

#### 2.4.8 Cálculos de la Concentración Letal Media (LC<sub>50</sub>)

Sumar el número de **nauplios muertos** en los tres pozos de la misma concentración de una misma muestra. Sumar el **número total** ( $\Sigma$  **nTotal**) de nauplios en los tres pozos de la misma concentración de una misma muestra. Dividir el número de nauplios muertos entre el número

total de nauplios. El resultado de la división multiplicado por 100 es el porcentaje de mortalidad de Artemia salina para esa concentración de la muestra.

Fórmula:

$$\% \text{ mortalidad de Artemia salina} = \frac{\sum \text{nauplios muertos}}{\sum \text{total de nauplios}} \times 100$$

Se repitió el bioensayo para cada muestra tres veces, para comprobar la repetitividad de los resultados, utilizando el mismo procedimiento con los datos obtenidos.

#### 2.4.9 Programa de Cálculo PROBIT para Computadora

Para calcular el valor de la Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>) de los extractos ensayados se utiliza el Programa de Computadoras para Cálculo “**PROBIT**” o Prueba de Finney. El programa presenta un cuadro de tabulación en el cuál se encuentran tres variables que ayudan a determinar la Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>) de las plantas en estudio.

La concentración de los extractos: representada en unidades de microgramos por mililitro, haciéndose diluciones a partir de una concentración de 1000 hasta 7.81 microgramos por mililitro. Luego

encontramos los correspondientes logarítmicos de cada concentración. Y el porcentaje de mortalidad el cual depende del efecto del extracto de cada planta sobre la *Artemia salina*.<sup>16</sup>

El coeficiente de correlación (  $r$  ) nos determina el grado o intensidad de relación entre las variables en estudio en este caso la concentración de los extractos y el porcentaje de mortalidad. Se determina estadísticamente a partir de los datos que se encuentran en la tabla de tabulación y cuando  $r = 1.0$  será perfecto.<sup>16</sup>

El dato que representa el valor de la  $LC_{50}$  en valor logarítmico (base 10) es determinado utilizando la gráfica correspondiente (Ver Bioensayo con *Artemia salina*, página 61); donde el porcentaje de mortalidad está ubicado en el eje de las ordenadas, en una escala lineal y la concentración de los extractos en el eje de las abscisas, en una escala logarítmica; por lo que hay que obtener el logaritmo de los valores de 1, 10, 100 y 1000 para trazar los puntos.<sup>16</sup>

Se usa la escala logarítmica porque se han obtenido valores elevados y mínimos del porcentaje de mortalidad, dando exactitud y precisión al obtener la gráfica.<sup>16</sup>

# **CAPITULO III**

## **Resultados y Análisis**

# **Pruebas Fitoquímicas**

## **Preliminares**

**Cuadro # 1: Resumen de las especies vegetales recolectadas, órganos seleccionados y lugar de recolección.**

#	Especie vegetal		Órgano Recolectado	Lugar de Recolección
	Nombre científico	Nombre común		
1	<u>Anredera vesicaria</u>	Suelda con Suelda	Hojas	San Salvador
2	<u>Bocconia arborea</u>	Sangre de Toro	Hojas	Tonacatepeque
3	<u>Bougainvillea glabra</u>	Veranera ocre	Flores	San Salvador
4	<u>Byrsonima crassifolia</u>	Nance	Corteza	San Marcos
5	<u>Casimiroa edulis</u>	Matasano	Hojas	Pacún, San Vicente
6	<u>Blumea viscosa</u>	Talia	Hojas y Tallo	San Salvador
7	<u>Cupressus lusitánica</u>	Ciprés	Hojas	Santo Tomás
8	<u>Cymbopogon nardus</u>	Citronela	Hojas	Pacún, San Vicente
9	<u>Urera baccifera</u>	Chichicaste	Hojas	Los Naranjos, Sonsonate
10	<u>Hyptis mutabilis</u>	Chichinguaste	Hojas	La Unión
11	<u>Hyptis verticillata</u>	Verbena blanca	Hojas	Pacún, San Vicente
12	<u>Jacquinia aurantiaca</u>	Mirra	Flores	El Amate, San Miguel
13	<u>Passiflora quadrangularis</u>	Granadilla	Fruto	San Salvador
14	<u>Lippia dulcis</u>	Orozos	Hojas	Pacún, San Vicente
15	<u>Litsea glaucescens</u>	Laurel de especie	Hojas	San Salvador
16	<u>Photomorphe umbellata</u>	Santa María	Hojas	Tonacatepeque
17	<u>Piper tuberculatum</u>	Cordoncillo	Hojas	Tonacatepeque
18	<u>Pithecellobium dulce</u>	Mongollano	Corteza	San Salvador
19	<u>Plantago major</u>	Llantén	Hojas	Pacún, San Vicente
20	<u>Rosmarinus officinalis</u>	Romero	Hojas	San Salvador
21	<u>Sesamum indicum</u>	Ajonjolí	Semilla	San Salvador
22	<u>Solanum hernandesii</u>	Huistomate	Hojas	San Jorge, San Miguel
23	<u>Solanum mammosum</u>	Chichigua	Fruto	San Salvador
24	<u>Tagetes lucida</u>	Pericón	Flores y Hojas	Metapan
25	<u>Vetiveria zizanioides</u>	Vetiver	Raíz	Pacún, San Vicente



Cuadro # 2: Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares

EXTRACTOS	SESQUITERPENLACTONAS			
	LEGAL	BALJET	HIDROXILAMIN A	RESULTAD O
<u>Anredera vesicaria</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Bocconia arborea</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Bougainvillea glabra</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Byrsonima crassifolia</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Casimiroa edulis</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Blumea viscosa</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Cupressus lusitánica</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Cymbopogon nardus</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Urera baccifera</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Hyptis mutabilis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Hyptis verticillata</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Jacquinia aurantiaca</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Passiflora quadrangularis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Lippia dulcis</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Litsea glaucescens</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Photomorphe umbellata</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Piper tuberculatum</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Pithecellobium dulce</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Plantago major</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Rosmarinus officinalis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Sesamum indicum</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Solanum hernandesii</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Solanum mammosum</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Tagetes lucida</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Vetiveria zizanioides</u>	-	-	-	NEGATIVO

Cuadro # 3: Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares

EXTRACTOS	ALCALOIDES			RESULTADO
	WAGNER	MAYER	DRAGENDORF F	
<u>Anredera vesicaria</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Bocconia arborea</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Bougainvillea glabra</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Byrsonima crassifolia</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Casimiroa edulis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Blumea viscosa</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Cupressus lusitánica</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Cymbopogon nardus</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Urera baccifera</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Hyptis mutabilis</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Hyptis verticillata</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Jacquinia aurantiaca</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Passiflora quadrangularis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Lippia dulcis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Litsea glaucescens</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Photomorphe umbellata</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Piper tuberculatum</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Pithecellobium dulce</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Plantago major</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Rosmarinus officinalis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Sesamum indicum</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Solanum hernandesii</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Solanum mammosum</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Tagetes lucida</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Vetiveria zizanioides</u>	-	-	-	NEGATIVO

Cuadro # 4: Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares

EXTRACTOS	FLAVONOIDES		ANTRAQUINONAS	
	SHINODA	RESULTAD O	BORNTRAGER	RESULTAD O
<u>Anredera vesicaria</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Bocconia arborea</u>	+	POSITIVO	-	NEGATIVO
<u>Bougainvillea glabra</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Byrsonima crassifolia</u>	+	POSITIVO	-	NEGATIVO
<u>Casimiroa edulis</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Blumea viscosa</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Cupressus lusitanica</u>	+	POSITIVO	-	NEGATIVO
<u>Cymbopogon nardus</u>	+	POSITIVO	-	NEGATIVO
<u>Urera baccifera</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Hyptis mutabilis</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Hyptis verticillata</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Jacquinia aurantiaca</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Passiflora quadrangularis</u>	+	POSITIVO	-	NEGATIVO
<u>Lippia dulcis</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Litsea glaucescens</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Photomorphe umbellata</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Piper tuberculatum</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Pithecellobium dulce</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Plantago major</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Rosmarinus officinalis</u>	+	POSITIVO	-	NEGATIVO
<u>Sesamum indicum</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Solanum hernandesii</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Solanum mammosum</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Tagetes lucida</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO
<u>Vetiveria zizanioides</u>	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO

Cuadro # 5: Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares

EXTRACTOS	TANINOS				RESULTADO
	FeCl <sub>3</sub>	Sub acetato de Pb	Gelatina	Quinina	
<u>Anredera vesicaria</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Bocconia arborea</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Bougainvillea glabra</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Byrsonima crassifolia</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Casimiroa edulis</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Blumea viscosa</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Cupressus lusitánica</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Cymbopogon nardus</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Urera baccifera</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Hyptis mutabilis</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Hyptis verticillata</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Jacquinia aurantiaca</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Passiflora quadrangularis</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Lippia dulcis</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Litsea glaucescens</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Photomorphe umbellata</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Piper tuberculatum</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Pithecellobium dulce</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Plantago major</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Rosmarinus officinalis</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Sesamum indicum</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Solanum hernandesii</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Solanum mammosum</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Tagetes lucida</u>	+	+	+	+	POSITIVO
<u>Vetiveria zizanioides</u>	-	-	-	-	NEGATIVO

Cuadro # 6: Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares

EXTRACTOS	SAPONINAS			
	LIEBERMAN D BUCHARD	SALKOWS KI	PRUEBA DE ESPUMA	RESULTAD O
<u>Anredera vesicaria</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Bocconia arborea</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Bougainvillea glabra</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Byrsonima crassifolia</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Casimiroa edulis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Blumea viscosa</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Cupressus lusitánica</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Cymbopogon nardus</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Urera baccifera</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Hyptis mutabilis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Hyptis verticillata</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Jacquinia aurantiaca</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Passiflora quadrangularis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Lippia dulcis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Litsea glaucescens</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Photomorphe umbellata</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Piper tuberculatum</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Pithecellobium dulce</u>	+	+	+	POSITIVO
<u>Plantago major</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Rosmarinus officinalis</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Sesamum indicum</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Solanum hernandesii</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Solanum mammosum</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Tagetes lucida</u>	-	-	-	NEGATIVO
<u>Vetiveria zizanioides</u>	-	-	-	NEGATIVO

Cuadro # 7: Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares

EXTRACTOS	CARDIOTONICOS				RESULTAD O
	KEDDE	LEGAL	KELLER KILLIAN I	LIEBERMAN D BUCHARD	
<u>Anredera vesicaria</u>	-	-	-	+	NEGATIVO
<u>Bocconia arborea</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Bougainvillea glabra</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Byrsonima crassifolia</u>	-	+	-	+	NEGATIVO
<u>Casimiroa edulis</u>	-	+	-	-	NEGATIVO
<u>Blumea viscosa</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Cupressus lusitánica</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Cymbopogon nardus</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Urera baccifera</u>	-	-	-	+	NEGATIVO
<u>Hyptis mutabilis</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Hyptis verticillata</u>	-	+	-	-	NEGATIVO
<u>Jacquinia aurantiaca</u>	-	+	-	-	NEGATIVO
<u>Passiflora quadrangularis</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Lippia dulcis</u>	-	+	-	-	NEGATIVO
<u>Litsea glaucescens</u>	-	+	-	-	NEGATIVO
<u>Photomorphe umbellata</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Piper tuberculatum</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Pithecellobium dulce</u>	-	-	-	+	NEGATIVO
<u>Plantago major</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Rosmarinus officinalis</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Sesamum indicum</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Solanum hernandesii</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Solanum mammosum</u>	-	+	-	-	NEGATIVO
<u>Tagetes lucida</u>	-	-	-	-	NEGATIVO
<u>Vetiveria zizanioides</u>	-	-	-	-	NEGATIVO

### **Análisis de Resultados de pruebas fitoquímicas preliminares**

La investigación fitoquímica de las especies vegetales proporciona la información para comprender la composición química de las especies en estudio, para dar una referencia sobre el grupo de componentes a los cuales se le atribuye en forma general la probable actividad biológica del extracto. Estas pruebas de tipo cualitativo indican la presencia de los metabolitos secundarios en las plantas estudiadas.

Se determinará la presencia del componente químico investigado cuando todos los resultados de las pruebas preliminares realizadas en cada grupo sean positivos.

El Cuadro No. 1 describe la parte de la planta a la cuál se le desarrollo el ensayo así como el lugar en donde las especies vegetales fueron recolectadas, donde son cultivadas en condiciones adecuadas para ser utilizadas en nuestro estudio, a las cuales se les determinó la presencia de metabolitos secundarios más importantes, realizando las pruebas fitoquímicas cuyos resultados se encuentran tabulados en los cuadros presentados.

En el Cuadro No. 2 se presentan las pruebas preliminares para sesquiterpenlactonas en la cuál se determinó que están presentes en los siguientes extractos: Nance, Matasano, Verbena blanca, Mirra, Orozus, Laurel de especie y Chichigua.

El Cuadro No.3 se encontró positivos a la pruebas para Alcaloides los extractos de: Sangre de Toro, Chichicaste, Chichinguaste, Verbena blanca, Mirra, Mongollano, Ajonjolí, Huistomate, Chichigua y Pericón.

En el Cuadro No.4 para la prueba de Flavonoides dieron positiva a la prueba de Shinoda: Sangre de Toro, Nance, Ciprés, Citronela, Granadilla y Romero. También en este cuadro se observó que para la prueba de Borntrager ninguno de los extractos dio positiva a la presencia de antraquinonas.

Las pruebas en el Cuadro No. 5 que determinan presencia de Taninos dieron positivos casi en la mayoría de los extractos vegetales a excepción de la Sangre de Toro, Citronela, Granadilla, Orozus y Vetiver.

En el Cuadro No.6 se encuentran los resultados de los Glicósidos Saponínicos dando positivo la Suelda con Suelda, Nance, Chichicaste y Mongollano.



Para el caso de Cardiotónicos como se observa el Cuadro No. 7, se obtuvieron resultados positivos solamente en la prueba de Legal para los extractos de Nance, Matasano, Verbena blanca, Mirra, Orozuz, Laurel de especie y Chichigua, esta prueba identifica la presencia de sesquiterpenlactonas en la que todos los resultados son positivos como se observa en el cuadro #2, pero en el caso de cardiotónicos las demás pruebas indican que el resultado es negativo.

Al igual que la prueba de Liebermand Buchard identifica la presencia del anillo esteroidal que poseen los glicósidos en general, para los extractos de Suelda con Suelda, Nance, Chichicaste y Mongollano, sin embargo las demás pruebas indican que el resultado para el grupo cardiotónicos es negativo y para el grupo saponínicos es positivo como se indicó en el cuadro #6.

# **Bioensayo con Artemia salina**

**Cuadro No. 8: Porcentajes de la Mortalidad promedio sobre Artemia salina utilizando extractos de 25 Especies Vegetales a Diferentes Concentraciones.**

CONCENTRACIONES UG/ML	PORCENTAJE DE MORTALIDAD PROMEDIO				
	Anredera vesicaria	Bocconia Arborea	Bougainvillea glabra	Byrsonima crassifolia	Casimiroa edulis
1000	0	0	0	0	100
500	0	0	0	0	100
250	0	0	0	0	100.
125	0	0	0	0	98.19
100	0	0	0	0	72.38
62.5	0	0	0	0	32.06
50	0	0	0	0	25.44
31.2	0	0	0	0	3.50
25	0	0	0	0	77.44
15.63	0	0	0	0	27.32
12.5	0	0	0	0	16.41
10	0	0	0	0	0
7.81	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
3.13	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	0	55.20
1.56	0	0	0	0	36.00
1.25	0	0	0	0	33.33
0.78	0	0	0	0	9.04
0.63	0	0	0	0	0
0.31	0	0	0	0	0
0.16	0	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0	0
Concentración Letal 50	Inactiva	Inactiva	Inactiva	Inactiva	45.23539402 ug/ml

**En la fila denominada Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>):**

**Se dará el valor en microgramos por mililitros en que la especie vegetal causa actividad citotóxica a los nauplios de Artemia salina.**

**Cuando la especie vegetal no causa ninguna actividad citotóxica a los nauplios de Artemia salina se denominará Inactiva.**

**Nota:** Ver Anexo 3 para preparación de las diferentes concentraciones.

## Continuación.....

CONCENTRACIONES UG/ML	PORCENTAJE DE MORTALIDAD PROMEDIO				
	Blumea viscosa	Cupressus lusitanica	Cymbopogon nardus	Hyptis mutabilis	Hyptis verticillata
1000	0	19.17	0	0	79.77
500	0	2.47	0	0	72.56
250	0	0.90	0	0	36.96
125	0	0	0	0	33.28
100	0	0	0	0	23.60
62.5	0	0	0	0	10.93
50	0	0	0	0	1.58
31.2	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	17.79
15.63	0	0	0	0	5.69
12.5	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
7.81	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
3.13	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	0	0
1.56	0	0	0	0	0
1.25	0	0	0	0	0
0.78	0	0	0	0	0
0.63	0	0	0	0	0
0.31	0	0	0	0	0
0.16	0	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0	0
Concentración Letal 50	Inactivos	13,913.99 ug/ml	Inactivos	Inactivos	289.62 ug/ml

**En la fila denominada Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>):**

**Se dará el valor en microgramos por mililitros en que la especie vegetal causa actividad citotóxica a los nauplios de Artemia salina.**

**Cuando la especie vegetal no causa ninguna actividad citotóxica a los nauplios de Artemia salina se denominará Inactiva.**

**Nota:** Ver Anexo 3 para preparación de las diferentes concentraciones.

## Continuación...

CONCENTRACIONES UG/ML	PORCENTAJE DE MORTALIDAD PROMEDIO				
	Jacquinia aurantiaca	Lippia Dulcis	Litsea glaucescens	Piper tuberculatum	Photomorphe umbellata
1000	48.12	100	0	96.74	0
500	26.61	49.14	0	94.57	0
250	9.94	37.20	0	71.39	0
125	3.46	7.67	0	58.06	0
100	0	0	0	7.23	0
62.5	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0
31.2	0	0	0	0	0
25	0	25.36	0	14.40	0
15.63	0	0	0	16.27	0
12.5	0	0	0	23.92	0
10	0	0	0	16.80	0
7.81	0	0	0	11.66	0
6.25	0	0	0	3.21	0
5	0	0	0	0.77	0
3.13	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	1.62	0
1.56	0	0	0	0	0
1.25	0	0	0	0	0
0.78	0	0	0	0	0
0.63	0	0	0	0	0
0.31	0	0	0	0	0
0.16	0	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0	0
Concentración Letal 50	1,202.67 ug/ml	365.64 ug/ml	Inactivos	88.04 ug/ml	Inactivos

**En la fila denominada Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>):**

**Se dará el valor en microgramos por mililitros en que la especie vegetal causa actividad citotóxica a los nauplios de Artemia salina.**

**Cuando la especie vegetal no causa ninguna actividad citotóxica a los nauplios de Artemia salina se denominará Inactiva.**

**Nota:** Ver Anexo 3 para preparación de las diferentes concentraciones.

## Continuación...

CONCENTRACIONES UG/ML	PORCENTAJE DE MORTALIDAD PROMEDIO				
	Passiflora quadrangularis	Pithecellobium Dulce	Plantago major	Rosmarinus officinalis	Sesamun indicum
1000	0	22.74	0	0	4.29
500	0	9.69	0	0	0.77
250	0	3.51	0	0	0
125	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0
62.5	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0
31.2	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0
15.63	0	0	0	0	0
12.5	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
7.81	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
3.13	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	0	0
1.56	0	0	0	0	0
1.25	0	0	0	0	0
0.78	0	0	0	0	0
0.63	0	0	0	0	0
0.31	0	0	0	0	0
0.16	0	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0	0
Concentración Letal 50	Inactivos	11,945.84 ug/ml	Inactivos	Inactivos	30,557,980.915 ug/ml

En la fila denominada **Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>)**:

Se dará el valor en microgramos por mililitros en que la especie vegetal causa actividad citotóxica a los nauplios de *Artemia salina*.

Cuando la especie vegetal no causa ninguna actividad citotóxica a los nauplios de *Artemia salina* se denominará **Inactiva**.

**Nota:** Ver Anexo 3 para preparación de las diferentes concentraciones.

### Continuación...

CONCENTRACIONES UG/ML	PORCENTAJE DE MORTALIDAD PROMEDIO				
	Solanum hernandesii	Solanum mammosum	Tagetes lucida	Urera baccifera	Vetiveria zizanioides
1000	0	0	35.46	0	0
500	0	0	21.21	0	0
250	0	0	4.52	0	0
125	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0
62.5	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0
31.2	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0
15.63	0	0	0	0	0
12.5	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
7.81	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
3.13	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	0	0
1.56	0	0	0	0	0
1.25	0	0	0	0	0
0.78	0	0	0	0	0
0.63	0	0	0	0	0
0.31	0	0	0	0	0
0.16	0	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0	0
Concentración Letal 50	Inactivos	Inactivos	2,292.23 ug/ml	Inactivos	Inactivos

**En la fila denominada Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>):**

**Se dará el valor en microgramos por mililitros en que la especie vegetal causa actividad citotóxica a los nauplios de Artemia salina.**

**Cuando la especie vegetal no causa ninguna actividad citotóxica a los nauplios de Artemia salina se denominará Inactiva.**

**Nota:** Ver Anexo 3 para preparación de las diferentes concentraciones.

### Cuadro #9: Resultados de LC<sub>50</sub> y Coeficiente de correlación

En este cuadro se presentan solamente las especies vegetales que presentaron actividad citotóxica sobre los nauplios de *Artemia salina*, además se presentan el valor de la Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>) y su coeficiente de correlación.

Nombre Científico	Nombre Común	LC <sub>50</sub> ug/ml	Coeficiente de correlación r
<u>Casimiroa edulis</u>	Matasano	45.2353	0.892675878
<u>Piper tuberculatum</u>	Cordoncillo	88.0400	0.961676080
<u>Hyptis verticillata*</u>	Verbena blanca	289.6200	0.944619211
<u>Lippia dulcis</u>	Orozos	365.6400	0.968780753
<u>Jacquinia aurantiaca</u>	Mirra	1,202.6700	0.975402913
<u>Tagetes lucida</u>	Pericón	2,292.2300	0.978112247
<u>Pithecellobium dulce</u>	Mongollano	11,945.8400	0.959947449
<u>Cupressus lusitanica</u>	Ciprés	13,913.9900	0.840151479
<u>Sesamun indicum</u>	Ajonjolí	30,557,980,915.0000	0.859769805

\* En el Anexo 4 se encuentra un ejemplo del cálculo matemático de la Concentración Letal Media LC<sub>50</sub> y del Coeficiente de correlación r, para una de las especies vegetales aquí presentadas (*Hyptis verticillata*).

### INTRODUCCIÓN A LAS GRAFICAS

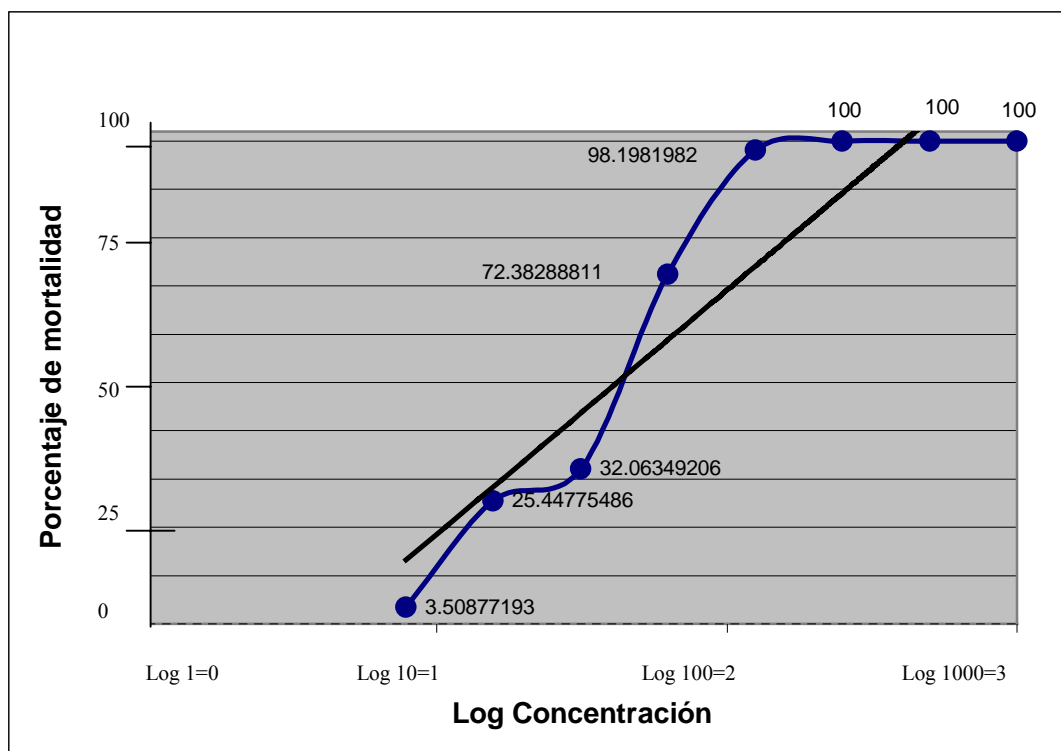
A continuación se presentan las gráficas de cada una de las especies vegetales que presentaron actividad al bioensayo con *Artemia salina*. En la gráfica se pueden observar dos líneas, una en la que se encuentran los puntos de los datos experimentales y la línea recta que indica la tendencia ideal que debe tener la gráfica. El punto de intersección cuando el porcentaje de mortalidad es 50 es el valor logarítmico de la LC<sub>50</sub>.



**Cálculos de LC<sub>50</sub> para Artemia salina**  
**Casimiroa edulis**

Concentración Microgramo por mililitro	Logaritmo de la Concentración	Porcentaje de Mortalidad
1000.00	3.000000000	100.00000000
500.00	2.698970004	100.00000000
250.00	2.397940009	100.00000000
125.00	2.096910013	98.19819820
62.50	1.795880017	72.38288811
31.25	1.494850022	32.06349206
15.62	1.193681030	25.44775486
7.81	0.892651034	3.50877193

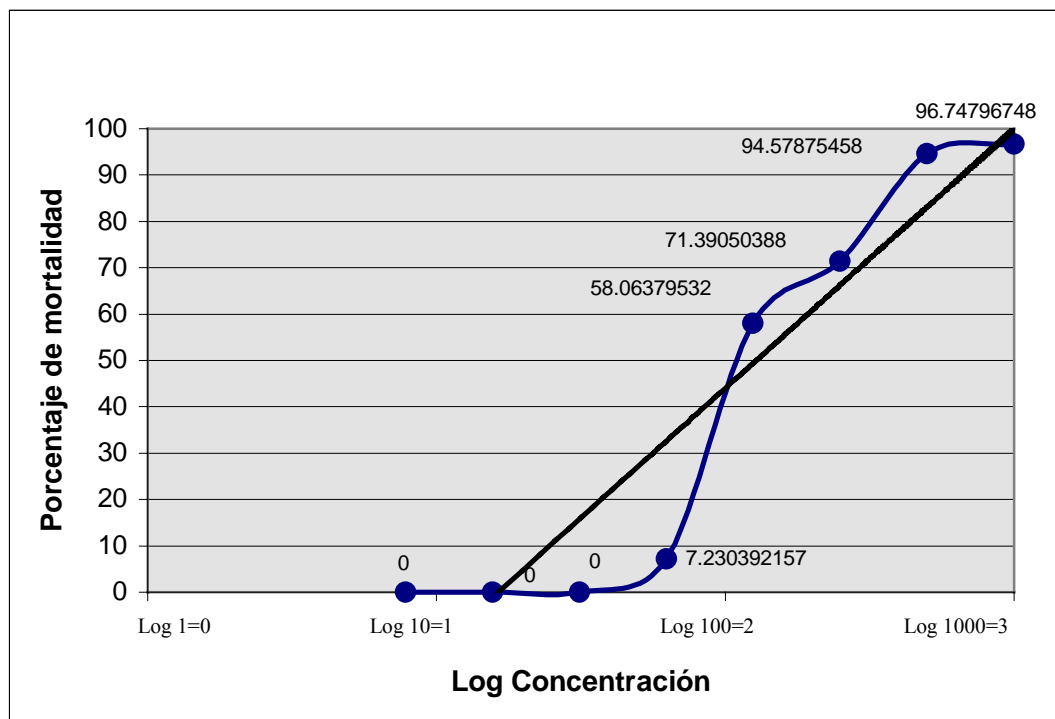
Valor de r	Valor logarítmico de LC <sub>50</sub>	LC <sub>50</sub> microgramo por mililitro
<b>0.892675878</b>	<b>1.655478378</b>	<b>45.23539402</b>



**Cálculos de LC<sub>50</sub> para Artemia salina**  
**Piper tuberculatum**

Concentración Microgramo por mililitro	Logaritmo de la Concentración	Porcentaje de Mortalidad
1000.00	3.000000000	96.747967480
500.00	2.698970004	94.578754580
250.00	2.397940009	71.390503880
125.00	2.096910013	58.063795320
62.50	1.795880017	7.230392157
31.25	1.494850022	0.000000000
15.62	1.193681030	0.000000000
7.81	0.892651034	0.000000000

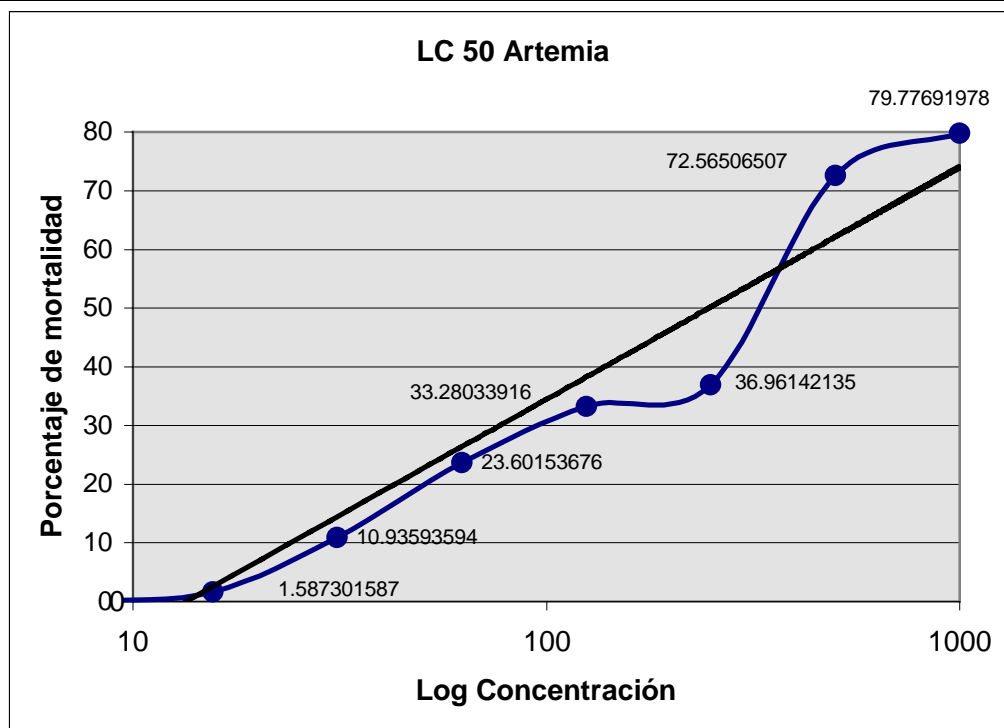
Valor de r	Valor logarítmico de LC <sub>50</sub>	LC <sub>50</sub> microgramo por mililitro
<b>0.96167608</b>	<b>1.944729258</b>	<b>88.04997918</b>



**Cálculos de LC<sub>50</sub> para Artemia salina**  
**Hyptis verticillata**

Concentración Microgramo por mililitro	Logaritmo de la Concentración	Porcentaje de Mortalidad
1000.00	3.000000000	79.776919780
500.00	2.698970004	72.565065070
250.00	2.397940009	36.961421350
125.00	2.096910013	33.280339160
62.50	1.795880017	23.601536760
31.25	1.494850022	10.935935940
15.62	1.193681030	1.587301587
7.81	0.892651034	0.000000000

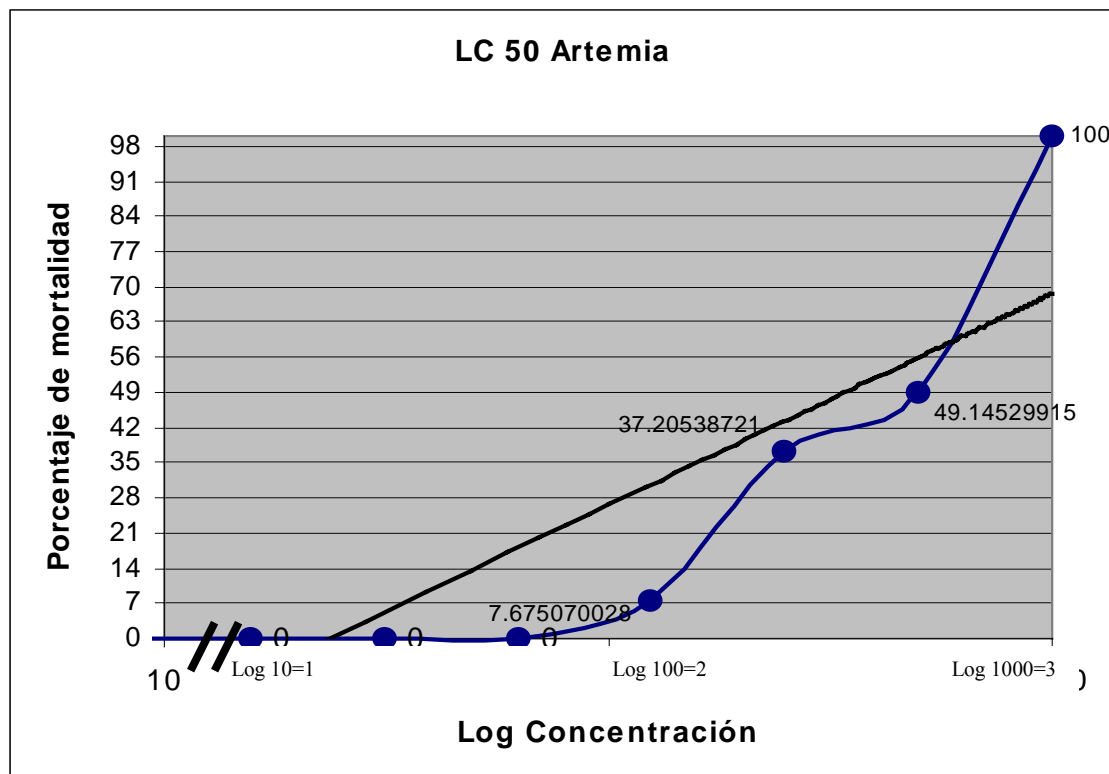
Valor de r	Valor logarítmico de LC <sub>50</sub>	LC <sub>50</sub> microgramo por mililitro
0.944619211	2.461840715	289.6281132



### Cálculos de $LC_{50}$ para *Artemia salina* *Lippia dulcis*

Concentración Microgramo por mililitro	Logaritmo de la Concentración	Porcentaje de Mortalidad
1000.00	3.000000000	100.000000000
500.00	2.698970004	49.145299150
250.00	2.397940009	37.205387210
125.00	2.096910013	7.675070028
62.50	1.795880017	0.000000000
31.25	1.494850022	0.000000000
15.62	1.193681030	0.000000000
7.81	0.892651034	0.000000000

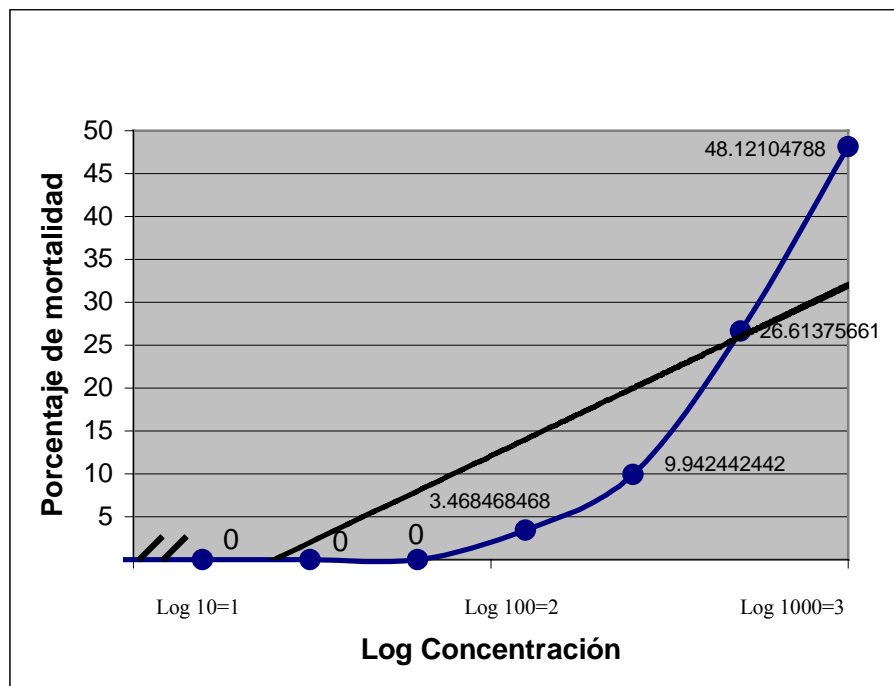
Valor de r	Valor logarítmico de $LC_{50}$	$LC_{50}$ microgramo por mililitro
0.968780753	2.563060427	365.6456636



**Cálculos de LC<sub>50</sub> para Artemia salina**  
**Jacquinia aurantiaca**

Concentración Microgramo por mililitro	Logaritmo de la Concentración	Porcentaje de Mortalidad
1000.00	3.000000000	48.121047880
500.00	2.698970004	26.613756610
250.00	2.397940009	9.942442442
125.00	2.096910013	3.468468468
62.50	1.795880017	0.000000000
31.25	1.494850022	0.000000000
15.62	1.193681030	0.000000000
7.81	0.892651034	0.000000000

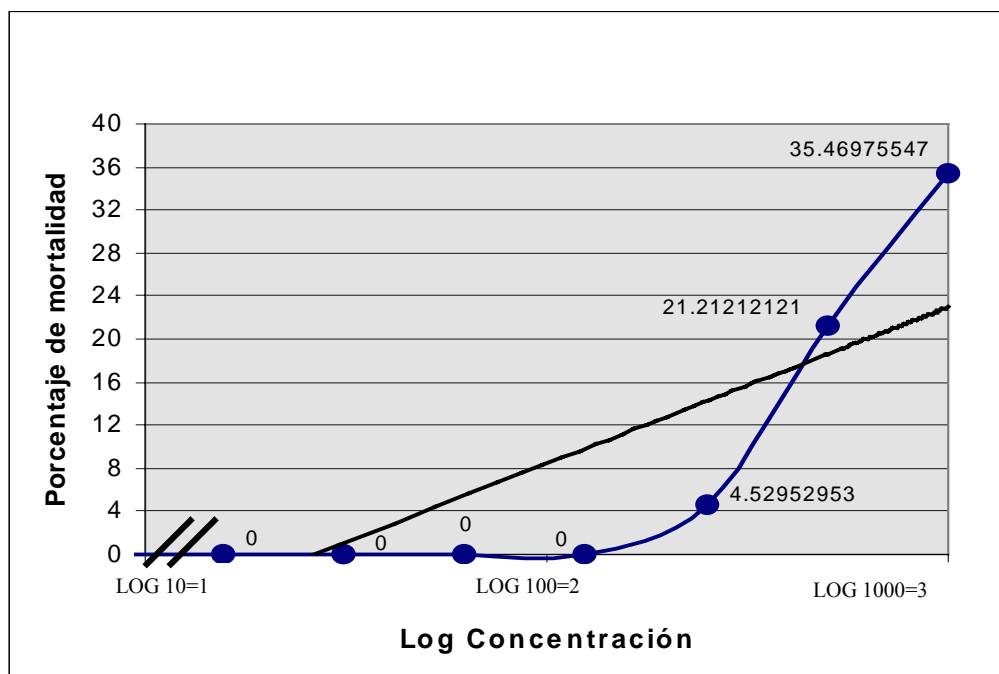
Valor d	Log 10=1	Log 100=2	Log 1000=3	ilitro
0.975402913	3.080149005		1202.676998	



### Cálculos de $LC_{50}$ para *Artemia salina* Tagetes lucida

Concentración Microgramo por mililitro	Logaritmo de la Concentración	Porcentaje de Mortalidad
1000.00	3.000000000	35.46975547
500.00	2.698970004	21.21212121
250.00	2.397940009	4.52952953
125.00	2.096910013	0.00000000
62.50	1.795880017	0.00000000
31.25	1.494850022	0.00000000
15.62	1.193681030	0.00000000
7.81	0.892651034	0.00000000

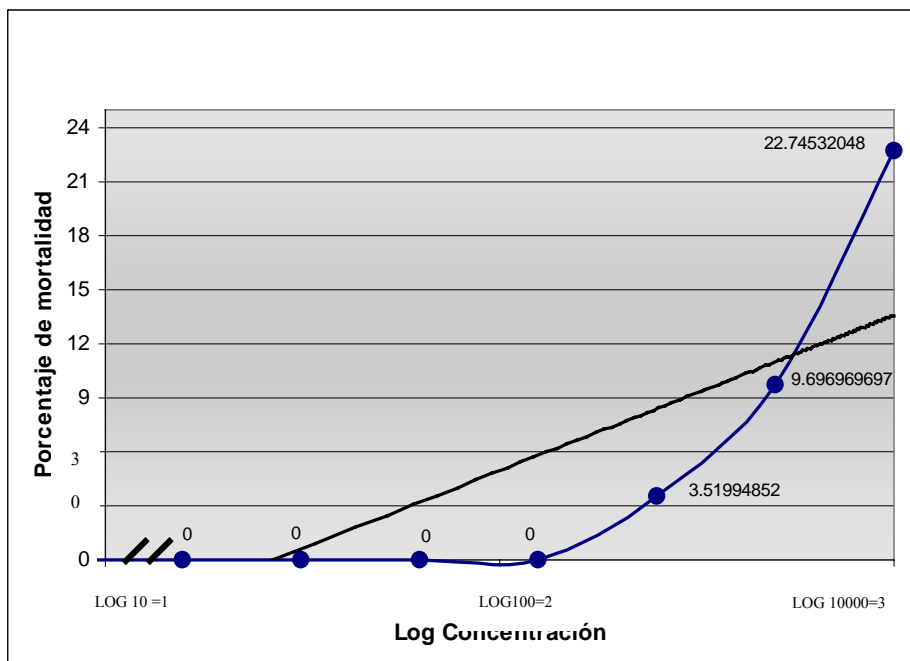
Valor de r	Valor logarítmico de $LC_{50}$	$LC_{50}$ microgramo por mililitro
0.978112247	3.360259821	2292.2386



### Cálculos de $LC_{50}$ para *Artemia salina* *Pithecellobium dulce*

Concentración Microgramo por mililitro	Logaritmo de la Concentración	Porcentaje de Mortalidad
1000.00	3.000000000	22.745320480
500.00	2.698970004	9.696969697
250.00	2.397940009	3.519948520
125.00	2.096910013	0.000000000
62.50	1.795880017	0.000000000
31.25	1.494850022	0.000000000
15.62	1.193681030	0.000000000
7.81	0.892651034	0.000000000

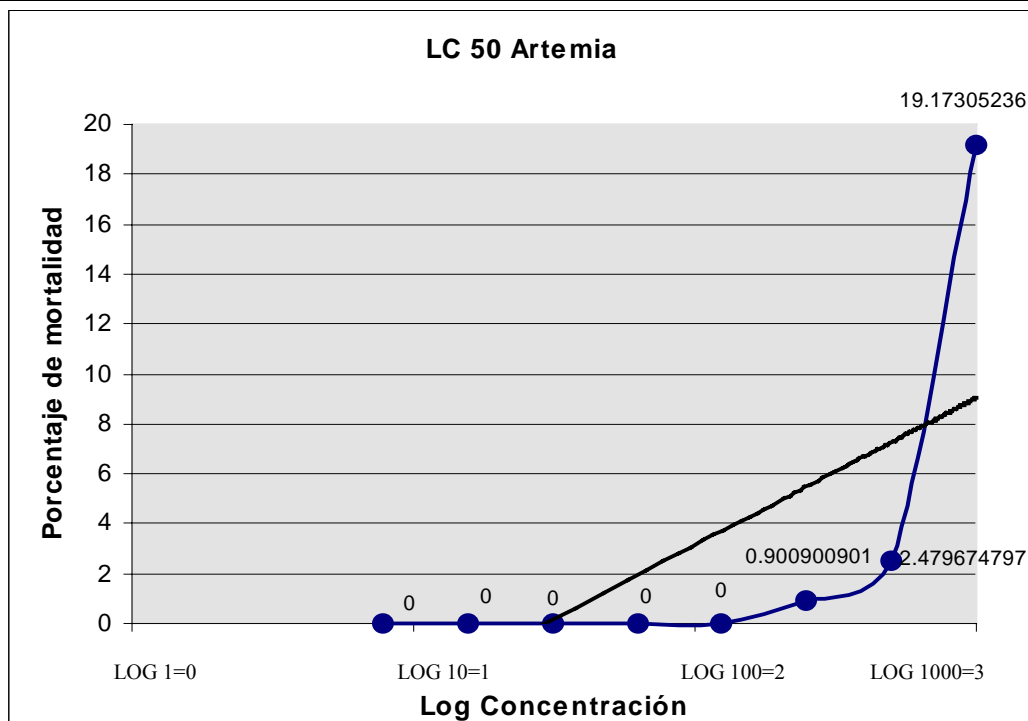
Valor de r	Valor logarítmico de $LC_{50}$	$LC_{50}$ microgramo por mililitro
0.959947449	4.077216798	11945.84288



**Cálculos de LC<sub>50</sub> para Artemia salina**  
**Cupressus lusitanica**

Concentración Microgramo por mililitro	Logaritmo de la Concentración	Porcentaje de Mortalidad
1000.00	3.000000000	19.173052360
500.00	2.698970004	2.479674797
250.00	2.397940009	0.900900901
125.00	2.096910013	0.000000000
62.50	1.795880017	0.000000000
31.25	1.494850022	0.000000000
15.62	1.193681030	0.000000000
7.81	0.892651034	0.000000000

Valor de r	Valor logarítmico de LC <sub>50</sub>	LC <sub>50</sub> microgramo por mililitro
0.840151479	4.143451826	13913.99445

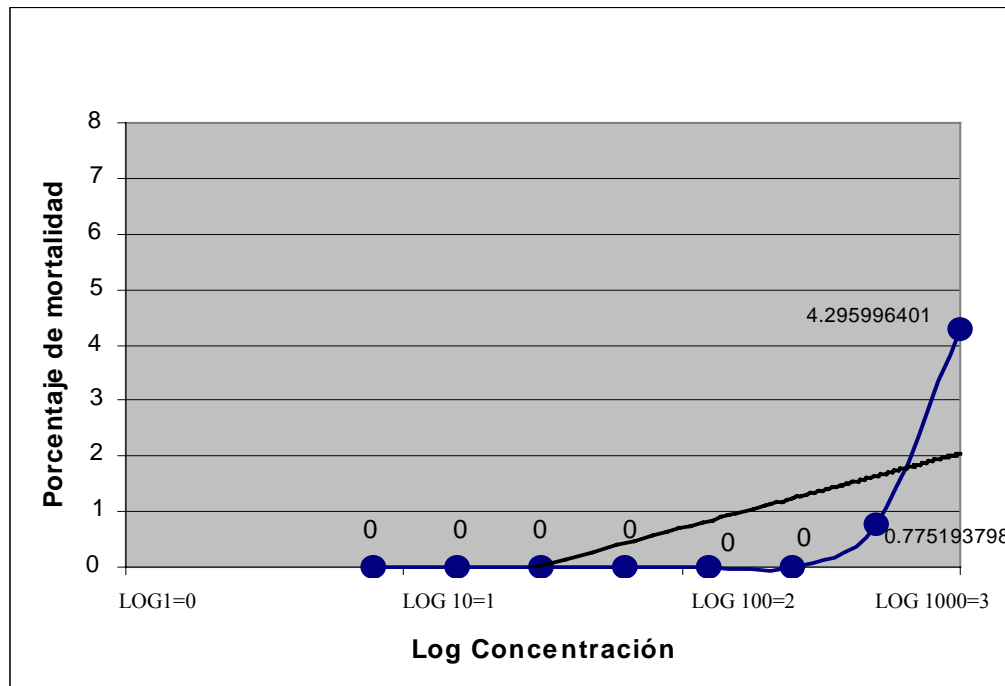




**Cálculos de LC<sub>50</sub> para Artemia salina**  
**Sesamun indicum**

Concentración Microgramo por mililitro	Logaritmo de la Concentración	Porcentaje de Mortalidad
1000.00	3.000000000	4.295996401
500.00	2.698970004	0.775193798
250.00	2.397940009	0.000000000
125.00	2.096910013	0.000000000
62.50	1.795880017	0.000000000
31.25	1.494850022	0.000000000
15.62	1.193681030	0.000000000
7.81	0.892651034	0.000000000

Valor de r	Valor logarítmico de LC <sub>50</sub>	LC <sub>50</sub> microgramo por mililitro
0.859769805	10.48512466	30557980915



## ANÁLISIS DE LA CONCENTRACIÓN LETAL 50 (LC<sub>50</sub>) DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

### Extractos Vegetales con Concentración Letal 50 menor de 100 microgramos por mililitro:

- **Matasano (Casimiroa edulis)**
- **Cordoncillo (Piper tuberculatum)**

Para los extractos vegetales de Matasano y Cordoncillo la Concentración Letal 50 encontrada indica una evidente toxicidad para los nauplios.

Las hojas de matasano son utilizadas en infusión y se administra por vía oral para tratar diarrea, cólico, insomnio y nerviosismo, procesos dolorosos e inflamatorios por lo cuál no es recomendable su uso por los resultados obtenidos. El análisis fitoquímico fue positivo para sesquiterpenlactonas y taninos a quienes posiblemente se debe esta elevada toxicidad.

Las hojas de cordoncillo se cocen en agua y se utilizan para hacer lavados en la boca contra el dolor de muelas. El análisis fitoquímico preliminar identificó la presencia de taninos.

En lo que corresponde al uso de estos extractos vegetales como alternativa medicinal se deberá evitar que se administre por vía oral ya que su poder citotóxico es muy elevado y su administración podría ocasionar un irreparable daño al organismo.

**Extractos Vegetales con Concentración Letal 50 entre 100-500 microgramos por mililitro:**

- **Verbena blanca (Hyptis verticillata)**
- **Orozos (Lippia dulcis)**

Los extractos vegetales de Verbena blanca y Orozos son considerados activos respecto a sus efectos tóxicos a los nauplios.

El análisis fitoquímico preliminar de las hojas de verbena blanca determinó la presencia de alcaloides, sesquiterpenlactonas y taninos. Según la bibliografía posee dos principios citotóxicos. Las hojas de esta planta son utilizadas en maceración para sacar el jugo y tomarla una vez al día para el dolor de estómago, congestión estomacal y diarrea, también es utilizado como antipirético.

El cocimiento, infusión o jugo de hojas frescas o secas de orozus se usan por vía oral para el tratamiento de afecciones gastrointestinales y respiratorias,

edema, fiebre, paludismo, cólico y desordenes menstruales. A las hojas se les atribuye propiedad antitusiva, aromática, balsámica, diurética, espasmolítica, febrífuga, sedante, sudorífica. El análisis fitoquímico de las hojas demuestra la presencia de sesquiterpenlactonas y taninos.

Por la toxicidad que presentan dichas especies vegetales se ve la necesidad de evitar su utilización para estas patologías ya que podría causar algún tipo de efecto tóxico en el organismo.

**Extractos Vegetales con Concentración Letal mayor a 1000 microgramos por mililitro:**

- **Mirra (Jacquinia aurantiaca)**
- **Pericón (Tagetes lucida)**
- **Mongollano (Pithecellobium dulce)**
- **Ciprés (Cupressus lusitánica)**
- **Ajonjolí (Sesamun indicum)**

Los extractos vegetales de Pericón, Mongollano, Ciprés y Ajonjolí dieron una Concentración Letal 50 mucho mayor de 1000 microgramos por mililitro, por lo que se necesitarían grandes concentraciones para causar algún tipo de efecto en el organismo.

Según la bibliografía las flores de mirra son utilizadas para aliviar el dolor de cabeza y los mareos. Se utiliza sobre todo en inflamaciones de la cavidad bucal (gargarismos y dentríficos) y afecciones respiratorias. El análisis fitoquímico determinó presencia de sesquiterpenlactonas, alcaloides y taninos.

La infusión de flores y hojas de pericón se usa por vía oral para aliviar el parto, tratar anemia, inflamación de ojos, afecciones nerviosas, gastrointestinales, respiratorias, dolores menstrual, mordedura de escorpión, hepatitis, paludismo, reumatismo, retención urinaria, afecciones nerviosas, tumores y úlceras.

El extracto alcohólico provoca en algunas personas síntomas cardiovasculares.

Según el análisis fitoquímico preliminar identificó que posee alcaloides, taninos y glicósidos saponínicos. Los usos medicinales que se le atribuyen es su utilización en enjuagues para el dolor de muela y piorrea. Hemostático en hemorragias externas e internas. Actividad antiinflamatoria y antidisentérico.

La presencia de saponinas le confieren alta toxicidad por lo que se recomienda no usar dosis elevadas ni uso prolongado.

Las semillas de ajonjolí tienen propiedades antidiarréicas. Por su aceite las semillas tienen propiedades alimenticias, dermatológicas y aumenta mucho la leche materna, cocidas en agua y consumida diariamente.

Todos los usos populares de estas especies vegetales tienen respaldo en la revisión bibliográfica. Debido a que se considera tóxicos a altas concentraciones se recomienda prudencia en su empleo.

**Extractos Vegetales que no fueron activos en el bioensayo con Artemia salina:**

- **Suelda con Suelda (Anredera vesicaria)**
- **Sangre de Toro (Bocconia arborea)**
- **Veranera ocre (Bougainvillea glabra)**
- **Nance (Byrsonima crassifolia)**
- **Talía (Blumea viscosa)**
- **Citronela (Cymbopogon nardus)**
- **Chichinguaste (Hyptis mutabilis)**
- **Laurel (Litsea glaucescens)**
- **Granadilla (Passiflora quadrangularis)**

- **Santa María (Photomorphe umbellata)**
- **Llantén (Plantago major)**
- **Romero (Rosmarinus officinalis)**
- **Huistomate (Solanum hernandesii)**
- **Chichigua (Solanum mammosum)**
- **Chichicaste (Urera baccifera)**
- **Vetiver (Vetiveria zizanioides)**

Todos los extractos de las especies vegetales anteriormente mencionadas no presentaron actividad sobre *Artemia salina*, por lo que pueden seguir siendo utilizados por vía oral para el tratamiento de las diferentes enfermedades para las cuales ha sido demostrada su actividad terapéutica.

**CAPITULO IV**  
**CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

- 1 Los extractos vegetales obtenidos de Casimiroa edulis (Matasano) y Piper tuberculatum (Cordoncillo) presentan una elevada toxicidad sobre Artemia salina, ya que el valor de la Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>) de estos extractos son 45.23 microgramos por mililitro y 88.04 microgramo por mililitro respectivamente. Esto determina que al ser administrado por vía oral están causando un daño al organismo por lo que se debe evitar el uso de éstos extractos con fines terapéuticos.
- 2 Los extractos vegetales de Hyptis verticillata (Verbena blanca) y Lippia dulcis (Orozus) presentan un valor de Concentración Letal 50 respectivamente de 289.62 microgramo por mililitro y 365.64 microgramo por mililitro por lo cual son considerados como activos sobre Artemia salina, aunque con una toxicidad menor estos extractos no deben de ser utilizados por vía oral para tratar las patologías que hasta ahora han sido destinadas.
- 3 No se encontró información bibliográfica acerca de las especies vegetales que dieron positiva la citotoxicidad con Artemia salina, que pueda indicar y

- determinar el o los componentes químicos que le dan el poder citotóxico a dichos extractos.
- 4 En cuanto a los extractos vegetales obtenidos de Jacquinia aurantiaca (Mirra), Tagetes lucida (Pericón), Pithecellobium dulce (Mongollano), Cupressus lusitánica (Ciprés) y Sesamun indicum (Ajonjolí) se obtuvieron valores de Concentración Letal 50 (LC<sub>50</sub>) mayores de 1000 microgramo por mililitro, por lo que se consideran no tóxicos sobre Artemia salina.
  - 5 La mayoría de extractos fueron inactivos en el bioensayo con Artemia salina por lo cual pueden seguirse utilizando para el tratamiento de las diversas patologías.
  - 6 El Método de Micropozos utilizado para el bioensayo con Artemia salina demostró ser fácil, sensible y de bajo costo, así como muy útil para la investigación biológica de productos naturales.
  - 7 Los resultados obtenidos en la aplicación de este tipo de bioensayos proporciona un aporte valioso para conocer si es adecuado o no el uso de las especies vegetales estudiadas.

- 8 Con este proyecto se comprueba que este método puede ser aplicado en países subdesarrollados por la obtención de resultados rápidos y eficientes para investigaciones de este tipo.

**CAPITULO V**

**RECOMENDACIONES**

## RECOMENDACIONES

- 1 La administración vía oral de extractos vegetales de Casimiroa edulis (Matasano) y Piper tuberculatum (Cordoncillo), Hyptis verticillata (Verbena blanca), Lippia dulcis (Orozus), no deben ser utilizadas con fines terapéuticos, ya que presentan bioactividad con *Artemia salina*. Pero dada la falta de información específica de estos extractos, debería de realizarse estudios más profundos acerca de los componentes que le dan a estas plantas el efecto tóxico.
- 2 El uso de los extractos vegetales de Jacquinia aurantiaca (Mirra), Tagetes lucida (Pericón), Pithecellobium dulce (Mongollano), Cupressus lusitánica (Ciprés) y Sesamun indicum (Ajonjolí), así como los que mostraron ser inactivos, pueden seguir siendo una alternativa medicinal para la población, siempre y cuando no se abuse de cada uno de ellos.
- 3 Se debe tomar en cuenta la forma de recolección y conservación de las plantas, para que los principios activos obtenidos por extracción se encuentren en buena cantidad y calidad.

- 4 Se recomienda que posteriormente se realicen bioensayos complementarios como: Interacción con ADN por Cromatografía Líquida de alta resolución, Determinación de la actividad larvicida contra el mosquito Aedes aegypti, para las 25 especies vegetales que se han estudiado, para que se tenga un análisis completo acerca de ellas.
- 5 Además se recomienda que el Ministerio de Salud Pública asuma un papel informativo y de comunicación sobre estas investigaciones ante la población en general, ya que en muchas zonas de nuestro país, se desconoce sobre los efectos tóxicos de muchas especies vegetales, promoviendo programas en los que se den a conocer los estudios que se están realizando en nuestro país y los descubrimientos obtenidos a través de bioensayos como el realizado en este trabajo, debido a que las especies vegetales como cualquier otro medicamento, para tener el efecto deseado es indispensable que se haga con una dosificación correcta.
- 6 Se debe impulsar a los futuros investigadores a continuar realizando estudios de citotoxicidad para el resto de plantas que actualmente están siendo utilizadas por la población sin tener datos científicos que respalden que dichas especies vegetales no causen toxicidad a las células humanas.

## BIBLIOGRAFÍA

## BIBLIOGRAFIA

### *LIBROS*

1. *CACERES, A.* “Plantas de Uso Medicinal en Guatemala”, 1ª. Edición, Editorial Universitaria, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala, 1996.
2. *CURRENT, DEAN; WITSBERGER, DENNIS,* “Árboles del Parque Deininger”, 1a Edición, Dirección de Publicaciones del Ministerio de Educación. San Salvador, 1982.
3. “Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas”, 10ª Edición, Salvat Editores, Barcelona España, 1968.
4. *DOMINGUEZ, JORGE ALEJANDRO.* "Métodos de Investigación Fitoquímica". 1ª. Edición, Editorial Limusa. México D.F. 1973.
5. “Farmacopea Caribeña” , Tramil (Programa), 1ª Edición, Ediciones Emile Désomeaur-Lionel germosen-Robineau, Santo Domingo, 1997.
6. *GONZALEZ AYALA, JULIO CESAR,* "Botánica Medicinal Popular Etnobotánica Medicinal de El Salvador". El Salvador. 1994.



7. *GUPTA, P. M.*, “270 Plantas Medicinales Iberoamericanas”, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo CYTED, Subprograma de Química Fina Farmacéutica, 1ª Edición, Editorial Presencia Ltda., Santa Fé de Bogota Colombia, 1995.
8. “Hacia una Farmacopea Caribeña Investigación Científica y Uso Popular de Plantas Medicinales en el Caribe”, 7ª Edición, Tramil, Ediciones Emile Désomeaur- Lionel Germosen-Robineau, Universidad de Antioquia Santo Domingo, 1995.
9. *LAGOS, JORGE A.* "Compendio de Botánica Sistemática" 2a. Edición. Ministerio de Educación, Dirección de Publicaciones. El Salvador. 1983.
10. *MARTIN, ERICK W., COOK, F. FULLERTON.* "Farmacia Práctica de Remington". 17a. Edición. Editorial Médica Panamericana". USA. 1985.
11. *MURRIA, K. R., MAYES, P.* “Bioquímica de Harper” , 12ª Edición, Editorial El Manual moderno, S.A. de C.V., México D.F., 1992.
12. *PAUL HOUSE, SONIA LAGOS*, “Manual Popular de 50 Plantas Medicinales de Honduras”, 1ª Edición, Tegucigalpa Honduras, Centro América, 1989.

13. "Plantas Medicinales Comunes de Honduras", 1ª Edición, Editorial Litográfica LOPEZ, S. de R.L., UNAH, Tegucigalpa Honduras, Centro América, 1995.
14. *PLANTER*. "Obtención y aprovechamiento de Extractos Vegetales de la Flora Salvadoreña". 1ª. Edición. Volumen 1. Universidad de El Salvador, El Salvador, Editorial Universitaria, 1989.

### **TRABAJOS DE GRADUACIÓN**

15. *ARAUJO MARENCO, BERTHA MARINA*, "Estudio Etnobotánico y Farmacognóstico de quince especies medicinales de la flora salvadoreña en la zona occidental del país". Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador, 1981.
16. *CAÑAS, ROCINA. LOPEZ, MIROSLAVA*. "Determinación de la bioactividad citotóxica de extractos de veintiséis especies vegetales mediante el bioensayo simple con *Artemia salina*". Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. Diciembre, 2001.

17. *HERRERA, ENA. ZULETA, ROSA.* “Determinación de la bioactividad de los aceites esenciales de quince especies vegetales, mediante el bioensayo en Artemia salina” Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. Septiembre, 2001.
18. *GALLEGOS GONZALEZ, CLAUDIA IVETTE Y OTRAS.* “Determinación de la Bioactividad de 26 especies de la Flora Salvadoreña mediante el Bioensayo Interacción con ADN por Cromatografía Líquida de Alta Resolución”. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. Marzo 2000.
19. *GARCIA CHAVEZ, ANTONIA LUISA.* “Estudio Etnobotánico y Farmacognóstico de quince especies medicinales de la zona central de El Salvador”. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 1980.
20. *GOMEZ ACOSTA, ELIDA LUZ.* “Estudio Etnobotánico y Farmacognóstico de diez especies medicinales de la flora salvadoreña”. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 1984.
21. *MIRANDA DURAN, ELISA NOEMI.* “Estudio Etnobotánico y Farmacognóstico de quince especies medicinales de El Salvador”. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 1980.

22. *MORALES, YOLANDA*. “Estudio Etnobotánico y Farmacognóstico de 15 plantas medicinales de El Salvador en la zona oriental”. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 1980.

23. *RENDEROS MOLINA, EMILIA*. “Estudio Etnobotánico y Farmacognóstico de de diez plantas medicinales de El Salvador”. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 1980.

24. *SALGUERO SANTOS, RENE M.; VALENCIA A.; CELINA M.; VASQUEZ A. MARIA E.* "Estudio Etnobotánico de Plantas Medicinales en el municipio de Santo Tomás". Tesis Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 1994.

## REVISTAS

25. *GUPTA, M.P.* et. Al. “Screening of Panamanian Medicinal Plants for Brine Shrimp toxicity, Crown Gall Tumor Inhibition, Citotoxicity and DNA Intercalation”, International Journal of Pharmacognosy, Vol. 34.

26. *PEZZUTO, J.M.* “DNA as affinity probe useful in the detection an isolation of biologically active natural products”, Journal of Natural Products, Vol. 54, No. 6.

**DOCUMENTOS DE INTERNET**

27. <http://www.cáncerhoy>
28. <http://www.Google.com>
29. <http://www.Drpez.com>
30. <http://www.Re.uba.ar/becarios/fa/pmangell.htm>
31. <http://www.biohidrica.cl>
32. <http://www.zona verde.net/index.htm>
33. <http://www.ecodigital.com.ar/PLANTAS.htm>
34. <http://www.eleco.com>
35. <http://www.aquatic.unizar.es/htm>
36. <http://www.cenaim.espol.edu.ec/elcenaim/bioensayos.htm>
37. <http://www.lalupa.com>
38. <http://www.ciudadfutura.net/peces/glosario.htm>
39. <http://www.directemar.cl/spmaa/Estudiantes/GLOSARIO.html>
40. <http://www.animalls.net/pezart.htm>
41. <http://www.paginamedica .com>
42. <http://www.laconcepción.com>
43. <http://www.etsea.udl.es/invitro/luz.htm>

## **PROGRAMAS Y CURSOS**

44. Apuntes de 2o. Curso Interamericano de Cultivo de Peces Marinos (Alfonso Silva A.) Universidad Católica del Norte. Facultad de Ciencias del Mar. Departamento de Acuicultura. . Agencia de Cooperación Internacional. Organización de Estados Americanos, Coquimbo Chile. 1995.

45. CYTED, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación. Sub Programa X: Química Fina Farmacéutica. Proyecto XI: Búsqueda de Principios Bioactivos en Plantas de la Región. Marzo 1995.

# **ANEXOS**

**ANEXO 1**

**G L O S A R I O**



## G L O S A R I O

Afección:	Proceso patológico que afecta a todo o parte del cuerpo humano.
Ahusada:	Presenta figura de huso.
Alcaloides:	Miembro de un amplio grupo de compuestos orgánicos producidos por las plantas, incluidas muchas sustancias con actividad farmacológica, tales como la atropina, la cocaína, la morfina, la nicotina y la quinina.
Alternas:	Las hojas o flores colocadas a cada lado del tallo, pero no enfrente unas de otras.
Anorexia:	Ausencia o disminución del apetito.
Antipirético:	Relativo a una sustancia o procedimiento que disminuye la fiebre.
Astringente:	Que estrecha o astringe.
Atonía:	Ausencia anormal de tono o tensión muscular.
Bioactividad:	Cualquier respuesta o reacción del tejido vivo.
Cápsula:	Fruto seco dehiscente.
Cardiotónicos:	Agente farmacológico que aumenta la actividad cardíaca. Los glucósidos cardiotónicos como la digital, digoxina, deslanósido, lanatósido, acetildigoxina y oubaína aumenta la fuerza de las contracciones del miocardio y disminuyen la frecuencia cardíaca y la velocidad de conducción, lo que aumenta el tiempo de llenado y de relajación ventricular.

Carnaza:	Parte de la piel que toca la piel.
Citotóxico:	Relativo a un compuesto farmacológico u otro agente que destruye o lesiona las células tisulares.
Compresa:	Lienzo con varios dobleces que se emplea para usos médicos.
Coriáceas:	Plantas angiospermas leñosas o herbáceas.
Cultivo:	Prueba de laboratorio que implica el cultivo de células o microorganismos en un medio específico de crecimiento.
Dehiscente:	Se dice del fruto cuyo pericarpio se abre naturalmente cuando llega a la madurez.
Dermatitis:	Inflamación de la piel.
Disentería:	Inflamación del intestino, sobre todo del colon, que puede estar producida por irritantes químicos, bacterias, protozoos o parásitos.
Disolvente:	Cualquier líquido en el que se puede disolver otra sustancia.
Dosificación:	Régimen que controla el tamaño, frecuencia y número de dosis de un agente terapéutico a administrar a un paciente.
Eclosión:	Ruptura de la cáscara del cisto, donde el embrión entra en contacto directo con el medio externo.
Emplasto:	Tópico extendido en un lienzo y aplicado en la parte enferma.

Envés:	Revés.
Epicarpio:	Piel fina que cubre el fruto.
Epilepsia:	Enfermedad caracterizada por convulsiones y pérdida del sentido.
Estomatitis.	Enfermedad de la mucosa de la boca.
Extracto:	Sustancia, normalmente un ingrediente activo de una planta o tejido animal, que se prepara utilizando disolventes o evaporación, para separar la sustancia del material original.
Faringitis:	Inflamación de la faringe.
Fármaco:	Cualquier sustancia que es capaz de producir un efecto en el organismo, puede administrarse en por vía oral, intravenosa, intramuscular, en forma tópica, para tratar o prevenir una enfermedad o proceso.
Febrífugo:	Antipirético.
Glicósidos:	Diversos carbohidratos que se desdoblán por hidrólisis en un azúcar y en una sustancia no azúcar.
Haz:	Cara o rostro.
Hemostático:	Relativo o perteneciente al procedimiento, dispositivo o sustancia que detiene el flujo de sangre.
Herbácea:	Que tiene la misma naturaleza que la hierba.
Hinchazón:	Sinónimo de protuberancia.

Hipotensión:	Enfermedad en la que la presión sanguínea no es la adecuada para la perfusión y oxigenación normal de los tejidos.
Intoxicación:	Estado de envenenamiento por un fármaco u otra sustancia tóxica.
Latente:	Dormido, que existe como posibilidad; por ejemplo: la tuberculosis puede estar latente durante períodos extensos de tiempo y convertirse en activa en determinadas condiciones.
Látex:	Emulsión o líquido viscoso producido por algunas células especializadas de animales o por ciertos vegetales.
Letal:	Capaz de producir la muerte.
Medio:	Sustancia a través de la que se mueve o actúa algo.
Mesocarpio:	Sustancia carnosa contenida entre la epidermis y la película interna de ciertas frutas.
Metabolito:	Sustancia producida por acción del metabolismo o que es necesaria para un proceso metabólico.
Meteorismo:	Acumulación de gas en el abdomen o en el intestino, normalmente con distensión.
Nematocida:	Pesticidas químicos que se utilizan para matar nemátodos.
Neoplasia:	Desarrollo de células nuevas y anormales, que

	pueden ser benignas o malignas.
Patología:	Estudio de las características, causas y efectos de las enfermedades, tal y como se observan en la estructura y función del cuerpo.
Pectoral:	Perteneciente al tórax o al pecho.
Pediculicida:	Para matar piojos.
Perenne:	Vivaz, algo que permanece, no se acaba nunca.
Piorrea:	Secreción de pus. Inflamación purulenta de los tejidos que rodean los dientes.
Reumatismo:	Cualquiera de un gran número de procesos inflamatorios de las bolsas, articulaciones, ligamentos o músculos, caracterizados por dolor, limitación de los movimientos y degeneración estructural de partes aisladas o múltiples del sistema músculo esquelético.
Riesgo:	Alteración o fenómeno que aumenta la probabilidad de una pérdida derivada de algún peligro que puede producir lesión o enfermedad.
Sahumerio:	Quemar aromas para perfumar.
Saponina:	Material jabonoso encontrado en algunas plantas, especialmente la jabonera y determinados lirios.
Sensible:	Capacidad para percibir o transmitir una sensación o estímulo. Anormalmente susceptible a una sustancia como a un fármaco o a una

	proteína extraña.
Sinusitis:	Inflamación de la mucosa de los senos frontales.
Taninos:	Sustancias de naturaleza polifenólicas, se encuentran ampliamente repartidas en todo el reino vegetal excepto en hongos, algas y líquenes, la acción que mejor los define es la astringencia.
Theracópodo:	Parte del organismo de la Artemia que le permite rapidez y movimiento, se desarrolla en su estado adulto y posee antenuelas sensoriales.
	Grado en el que una sustancia es tóxica.
Toxicidad:	Enfermedad que se produce como consecuencia de la exposición a una toxina o a cantidades tóxicas de una sustancia que no causa efectos adversos en cantidades menores.
Trocisco	Tableta pequeña, oval, redonda o alargada que contiene un agente medicinal incorporado a un mucílago endulzado o a una base de fruta que se disuelve en la boca y libera el fármaco.

**ANEXO 2**

**CRISTALERIA Y EQUIPO**

# CRISTALERIA

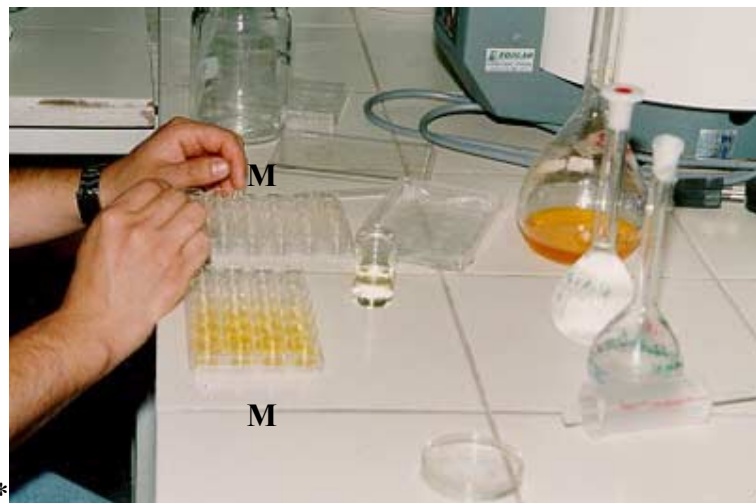


- A TUBOS DE ENSAYO
- B ERLENMEYER
- C BEAKER
- D BALON VOLUMÉTRICO
- E PROBETAS
- F AMPOLLA DE SEPARACIÓN

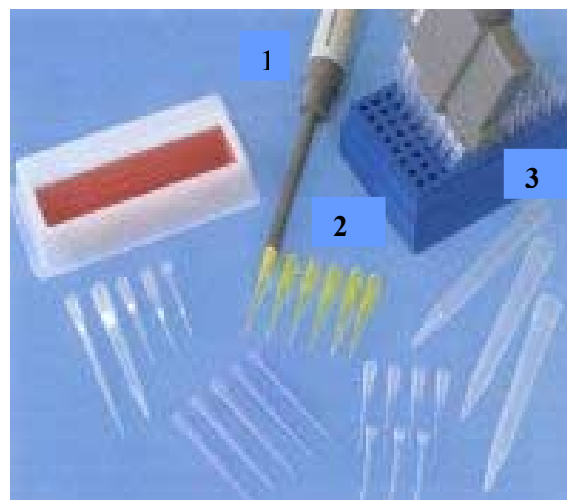


# EQUIPO

MICROPOZOS (M) UTILIZADO EN EL BIOENSAYO DE MORTALIDAD DE *Artemia salina*



MICROPIPETA DE 200  $\mu$ l (1) CON SUS RESPECTIVAS PUNTAS DESCARTABLES (2) Y MICROPOZOS (3)



## MICROPIPETA DE 8 CANALES



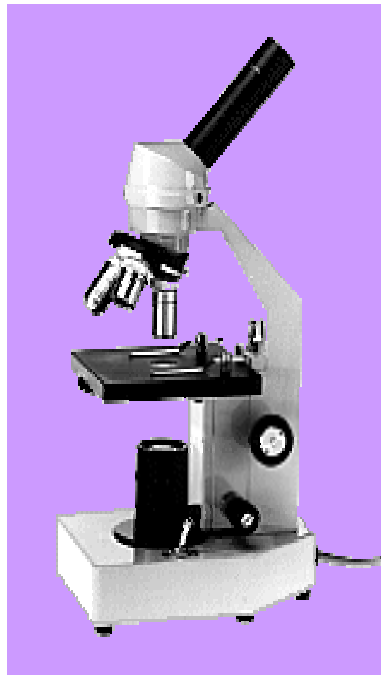
## PECERAS PEQUEÑAS, VÁLVULAS PARA MOTORES, OXIGENADORES



## HOT PLATE

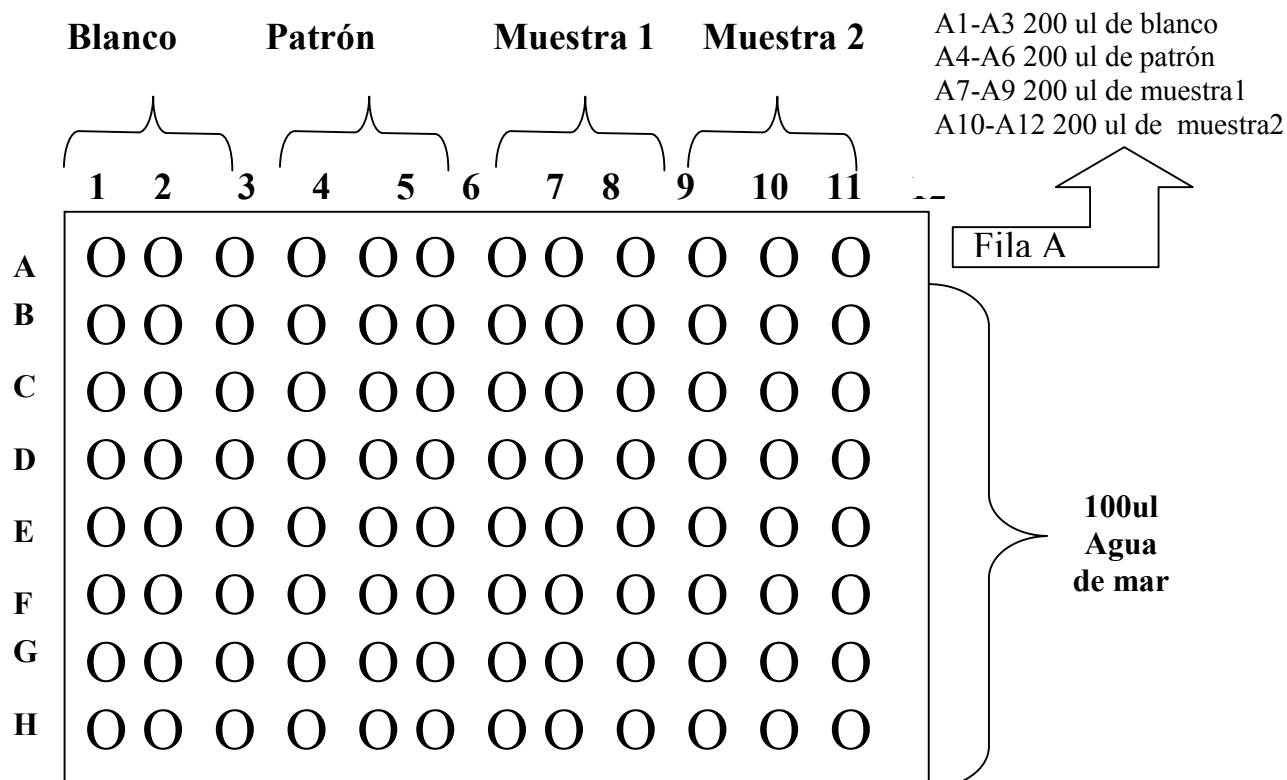


**MICROSCOPIO/ESTEREOSCOPIO UTILIZADO PARA REALIZAR EL RECuento DE ARTEMIAS SALINAS MUERTAS Y/O VIVAS EN CADA BIOENSAYO DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS VEGETALES ENSAYADOS.**



## **ANEXO 3**

# **DIAGRAMA DEL MICROPLATO UTILIZADO EN EL BIOENSAYO CON ARTEMIA SALINA**



La figura representa un plato de 96 micropozos de 300 ul, excepto en la línea A, en todos los micropozos se colocaron 100 ul de agua de mar.

En los pozos A1, A2 y A3 se colocaron 200 ul de solución blanco.

En los pozos A4, A5 y A6 se colocaron 200 ul de una solución patrón.

En los pozos A7, A8 y A9 se colocaron 200 ul de solución de muestra.

En los pozos A10, A11 y A12 se colocaron una segunda muestra.

Usando una pipeta de 8 canales a lo largo de la línea A (pozos del A1 al A8), se removieron 100 ul de la solución y se colocaron en la línea B, mezclado por succiones repetidas de la solución.

Luego se removieron 100 ul de ésta línea y se colocaron en la línea C y se mezclaron; se repitió este procedimiento hasta el final del plato.

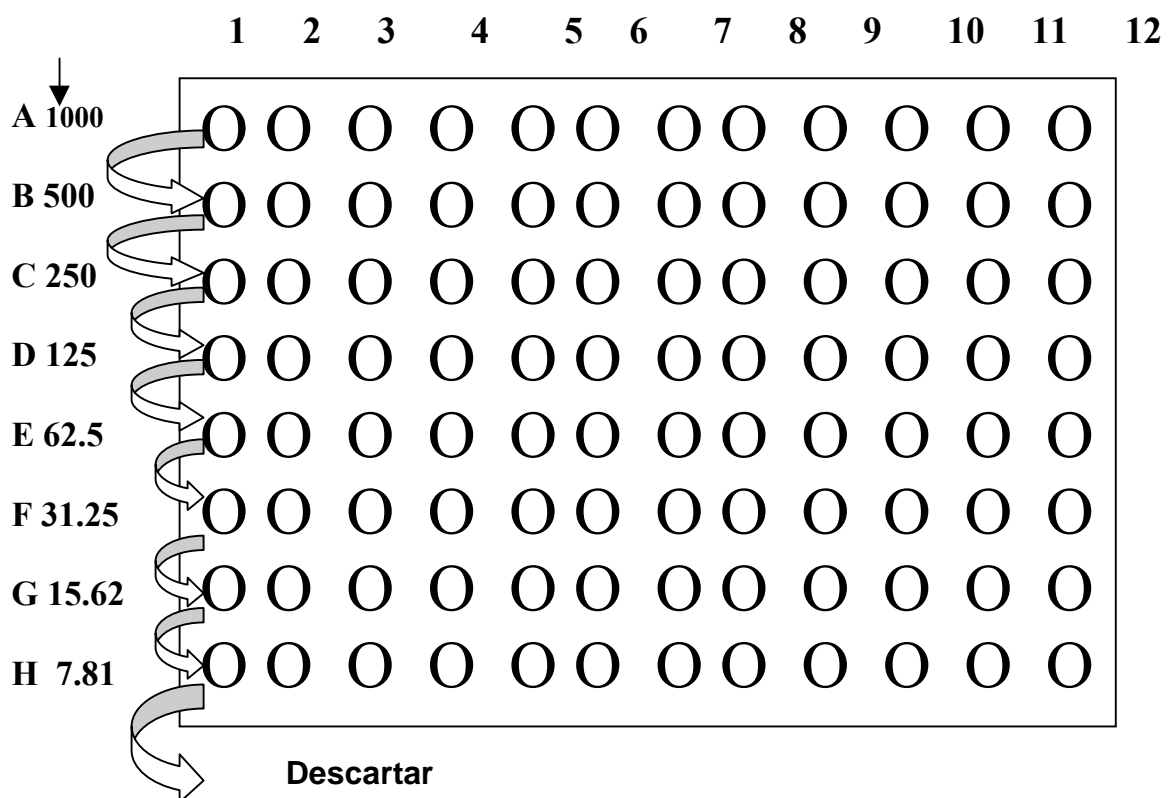
Al final se quedaron 100 ul de solución que se descartaron.

Se repitió este procedimiento para las columnas 9 a 12.

Todos los micro pozos contienen 100 ul de solución.

## DILUCIONES GEOMÉTRICAS

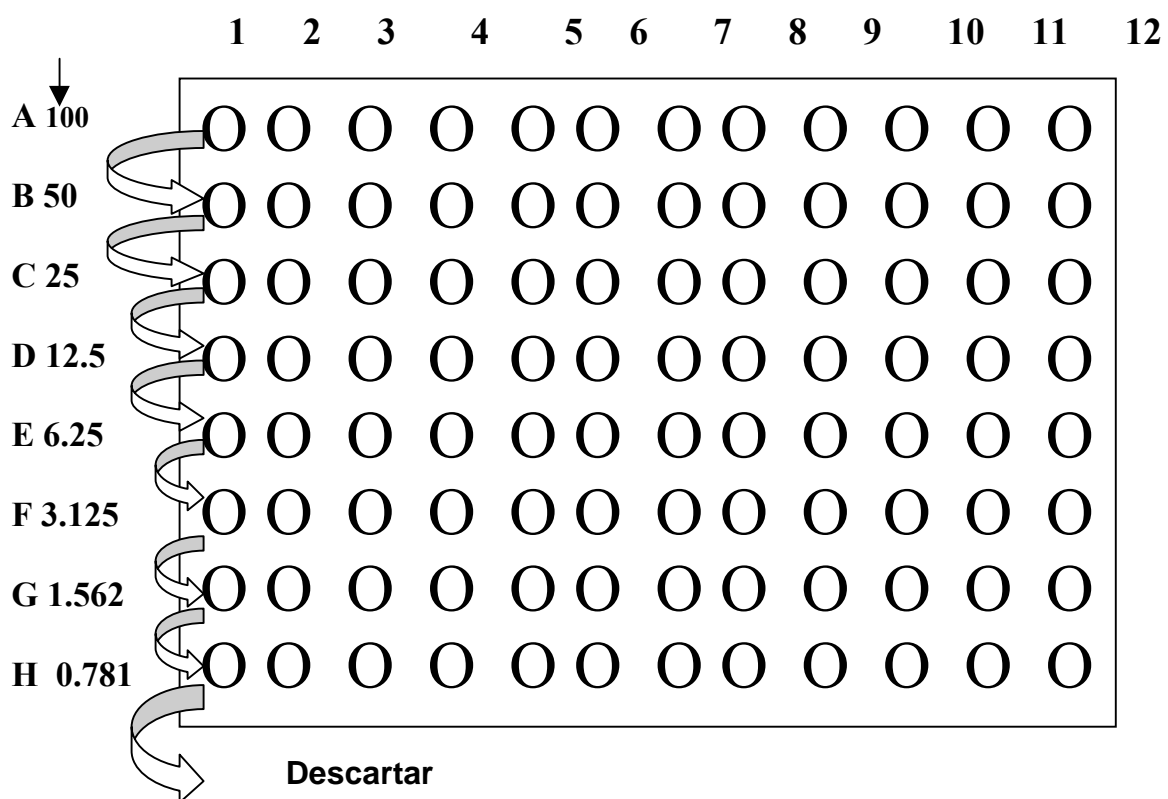
La concentración del pozo A es de 1000 microgramos por mililitro, al pasar al pozo B su concentración es de 500 microgramos por mililitro y así sucesivamente.



Adicionar 100 ul de la suspensión que contenga entre 10 y 15 nauplios a todos los pozos.  
 Tapar el plato e incubar a 22-29 grados Celsius durante 24 horas.

### DILUCIONES GEOMÉTRICAS

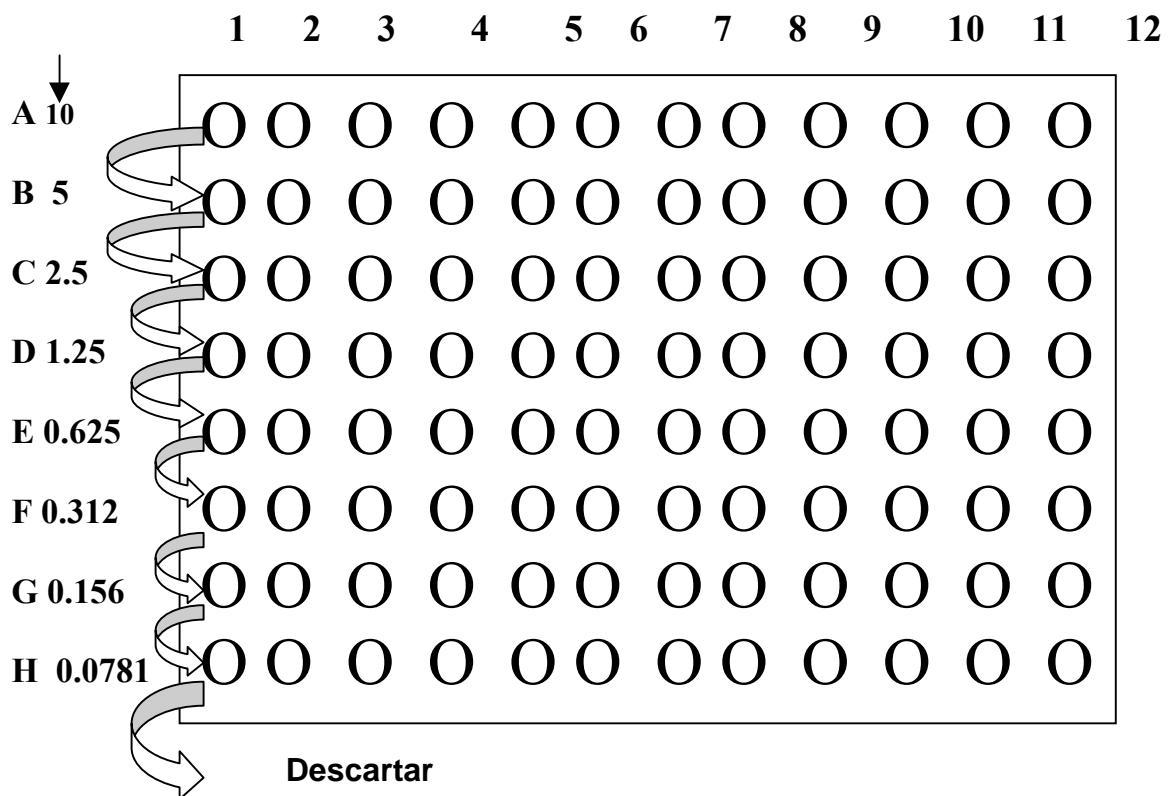
La concentración del pozo A es de 100 microgramos por mililitro, al pasar al pozo B su concentración es de 50 microgramos por mililitro y así sucesivamente.



Adicionar 100  $\mu$ l de la suspensión que contenga entre 10 y 15 nauplios a todos los pozos.  
 Tapar el plato e incubar a 22-29 grados Celsius durante 24 horas.

### DILUCIONES GEOMÉTRICAS

La concentración del pozo A es de 10 microgramos por mililitro, al pasar al pozo B su concentración es de 5 microgramos por mililitro y así sucesivamente.



Adicionar 100  $\mu$ l de la suspensión que contenga entre 10 y 15 nauplios a todos los pozos.

Tapar el plato e incubar a 22-29 grados Celsius durante 24 horas.



## **ANEXO 4**

# **CALCULOS DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA Y EL COEFICIENTE DE CORRELACION**

Cálculo de Concentración Letal Media para Artemia salina de

**Hyptis verticillata**

**EJEMPLO**

Fórmula utilizada:  $y = a + b x$

Donde:

y = Porcentaje de mortalidad

x = Logaritmo de la concentración

Se realizó una tabla de todos los datos que se necesitaba calcular:

	x	y	x y	x <sup>2</sup>	y <sup>2</sup>
	3.00000000	79.776919780	239.330759340000000000 0	9.000000000000000000	6364.356929584555248400
	2.698970004	72.565065070	195.85093396223816028 0	7.284439082491760016	5265.688668613334104900
	2.397940009	36.961421350	88.631271044671792150	5.750116286762920081	1366.146668212235822500
	2.096910013	33.280339160	69.785876420640009080	4.397031602619660169	1107.580974604629505600
	1.795880017	23.601536760	42.385528237774924920	3.225185035459920289	557.032537433631297600
	1.494850022	10.935935940	16.347584080499590680	2.234576588273400484	119.594694883783683600
	1.19368103	1.587301587	1.894731793290794610	1.424874401381860900	2.519526328092718569
	0.892651034	0.000000000	0.000000000000000000	0.796825868501269156	0.000000000000000000
Σ=	<b>15.570882129</b>	<b>258.708519647</b>	<b>654.22668487912</b>	<b>34.113048865491</b>	<b>14782.91999966</b>

$$a = \frac{(\sum y) (\sum x^2) - (\sum xy) (\sum x)}{n (\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

Donde:

n = número de puntos que se han tomado

n = 8

$$a = \frac{(258.708519647) (34.113048865491) - (654.22668487912) (15.570882129)}{8 (34.113048865491) - (15.570882129)^2}$$

$$a = \frac{-1361.550223262254699444803}{30.452020648716427359} = -44.711326022289589320564357131782$$

$$b = \frac{(n) (\sum xy) - (\sum x) (\sum y)}{n (\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

$$b = \frac{(8)(654.22668487912) - (15.570882129)(258.708519647)}{8(34.113048865491) - (15.570882129)^2}$$

$$b = \frac{1205.493613841442311537}{30.452020648716427359} = 39.586654289631011987767572230798$$

$$y = a + b x$$

y= porcentaje de mortalidad = 50

x = logaritmo de la concentración

a=-44.711326022289589320564357131782

b=39.586654289631011987767572230798

$$\% \text{ Mortalidad} = a + b (\text{Logaritmo de } C)$$

Donde:

C= Concentración Letal Media

Si el porcentaje de Mortalidad es 50, entonces:

Sustituyendo los valores tenemos:

$$50 = (-44.711326022289589320564357131782) + (39.586654289631011987767572230798) (\log C)$$

Despejamos la incógnita :

$$\frac{50 + (44.711326022289589320564357131782)}{(39.586654289631011987767572230798)} = \text{Log } C$$

$$\frac{94.71132602228958932056435713178}{39.586654289631011987767572230798} = \text{Log } C$$

$$\text{Log } C = \frac{2.3925064575891037121188199247069}{2.3925064575891037121188199247069}$$

$$C = 10$$

$$C = 246.8766288$$

Cálculo de r :

Donde:

R = Coeficiente de Correlación

$$r = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{(n \sum x^2 - (\sum x)^2)(n \sum y^2 - (\sum y)^2)}}$$

$$r = \frac{8(654.22668487912) - (15.570882129)(258.708519647)}{\sqrt{[(8(34.113048865491) - (15.570882129)^2)] [8(14782.91999966) - (258.708519647)^2]}}$$

$$r = \frac{1205.443111}{1250.231768} = 0.96417571$$

**NOTA:**

**Los datos difieren debido a que el Programa de Computadora toma los valores con mayor exactitud, lo cual no es posible al realizarlo en forma manual por fórmulas matemáticas al hacer las operaciones por medio de una calculadora con un número restringido de decimales.**