

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las
hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de
monte” en *Mus musculus* “ratón”, Ayacucho 2019.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

Presentado por la:

Bach. SIVIPAUCAR GONZALES, Sinthia

AYACUCHO – PERÚ

2020

A Dios por permitirme seguir adelante a pesar de las adversidades. A mis padres y hermanos, quienes me brindaron apoyo incondicional para forjar y afianzar los conocimientos para mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga forjador de excelentes profesionales al servicio de la sociedad y del país.

A la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a sus docentes quienes con mucha amabilidad han compartido sus conocimientos y con su sabiduría han sido los escultores de mis conocimientos.

Al Dr. Q.F. Edwin Carlos Enciso Roca, por sus consejos, asesoría y dedicación, por permitirme recurrir a su capacidad y experiencia que hizo posible realizar y completar este trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes de la investigación	3
2.2. <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl "cube de monte"	10
2.3. Toxicidad	11
2.4. Método para evaluar la toxicidad aguda	13
2.5. Definición de términos básicos	14
2.6. Programa "BASIC" para el cálculo de DL ₅₀ por el método de Probits	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	19
3.2. Definición de la población y muestra	19
3.3. Tipo de investigación	20
3.4. Metodología y recolección de datos	20
3.5. Análisis de datos	25
IV. RESULTADOS	27
V. DISCUSIÓN	35
VI. CONCLUSIONES	41
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Clasificación de toxicidad aguda definidos por SGA.	13
Tabla 2. Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.	29
Tabla 3. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.	30
Tabla 4. Registro de signos de toxicidad en ratones. Ayacucho 2019.	31

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl. “cube de monte” en su hábitat natural.	11
Figura 2. Peso promedio corporal de los ratones por efecto de la administración de las diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.	32
Figura 3. Dosis letal 50 (DL ₅₀) del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.	33

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Certificado de identificación botánica de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl. Ayacucho 2019.	51
Anexo 2. Procedimiento para la obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl. “cube de monte” y tamizaje fitoquímico. Ayacucho 2019.	52
Anexo 3. Hojas recolectadas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl. “cube de monte” Ayacucho 2019.	53
Anexo 4. Procedimiento de la obtención extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte” Ayacucho 2019.	54
Anexo 5. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte” Ayacucho 2019.	55
Anexo 6. Preparación de las concentraciones a ensayar del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl. “cube de monte” en el laboratorio de toxicología. Ayacucho 2019.	56
Anexo 7. Ensayo de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”. En el laboratorio de toxicología. Ayacucho 2019.	57
Anexo 8. Datos experimentales utilizados para el cálculo de la Dosis Letal Media del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”.	58
Anexo 9. Peso de los ratones usados como control en la evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.	59
Anexo 10. Peso de los animales administrados con extracto hidroalcohólico de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”, por vía oral en la evaluación de la toxicidad aguda. Ayacucho 2019.	60

Anexo 11. Prueba de normalidad del peso corporal de ratones al evaluar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl. “cube de monte”. Ayacucho 2019.	61
Anexo 12. Descripción estadística de la diferencia de pesos corporales (g), del grupo experimental del día 7 y día 14 de la evaluación de toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl. “cube de monte”. Ayacucho 2019.	62
Anexo 13. Análisis de varianza de la diferencia de pesos corporales (g), del grupo experimental del día 7 y día 14 de la evaluación de toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl. “cube de monte”. Ayacucho 2019.	63
Anexo 14. Análisis de comparaciones múltiples de la diferencia de pesos corporales (g), del grupo experimental del día 7 y día 14 de la evaluación de toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.	64
Anexo 15. Matriz de consistencia. Ayacucho 2019.	65

RESUMEN

Phyllanthus acuminatus Vahl “cube de monte” es una planta utilizado por los pobladores de las comunidades nativas y campesinas del VRAEM con fines de control de plagas y pesca. Se tuvo como objetivo evaluar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas de cube de monte. Se realizó en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud. Las hojas fueron recolectadas en el centro poblado de Chirumpiari, distrito Kimbiri, provincia La Convención, departamento Cusco a 672 msnm. La obtención del extracto hidroalcohólico se realizó por maceración con etanol al 80 %. Los metabolitos secundarios se identificaron según la metodología propuesta por Miranda y Cuellar, la toxicidad aguda se evaluó por el método de las clases toxicas agudas según las directrices de la OECD, a las dosis de 25, 200, y 2000 mg/kg. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico fueron fenoles y/o taninos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, glicósidos cardiotónicos, glicósidos cianogénicos, triterpenos, azúcares reductores, saponinas, rotenona y aminoácidos. La dosis letal 50 fue 1700,85 mg/kg, se observaron signos de toxicidad como actividad motora disminuida, temblores en el cuerpo, fasciculaciones, convulsiones, ataxia, taquipnea, lacrimación, cianosis en el cuerpo, erección de la cola, piloerección, diarrea, crooming, inapetencia, temor y pérdida de peso. En conclusión el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl produce toxicidad aguda.

Palabras clave: *Phyllanthus acuminatus*, extracto hidroalcohólico, toxicidad aguda.

I. INTRODUCCIÓN

La sabiduría por las plantas ha sido un objetivo para el ser humano posiblemente desde su aparición en la tierra; es por eso que la relación entre recurso vegetal y el ser humano es tan antigua como estrecha. Esta relación es apreciable por la gran diversidad de sus usos que han sido revelados a través de investigaciones etnobotánicas, como por ejemplo para la alimentación, medicina, defensa, vestido, ornamentación, colorante, etc. Pero las plantas también suelen contener sustancias nocivas y peligrosas que producen trastornos al ser humano los cuales van desde comezón, irritaciones y quemaduras en la piel, a vómitos, diarreas, hasta la muerte¹. Declarar que un recurso vegetal es nociva o tóxica es un poco complicado, porque para algunos seres vivos puede ser toxico, para otros puede manifestarse inofensivo². Por ello es necesario investigaciones toxicológicas de los diferentes extractos hidroalcohólico, acuosos, oleosos, etc del reino vegetal. Las investigaciones sobre toxicidad se desarrollan con la finalidad de identificar posibles efectos nocivos para el hombre³. Los efectos tóxicos que puede producir un recurso vegetal viene a ser desde una transformación genética, hasta producir la muerte⁴. En los estudios de investigación hechos a la especie de *Phyllanthus acuminatus* Vahl. En la medicina se reporta sus propiedades antifúngica, antioxidantes y se encuentra en estudio la actividad anticancerígena^{5,6}. Dichas propiedades se debe a la composición de metabolitos secundarios como flavonoides, esteroides, alcaloides, taninos, saponinas, triterpenos^{5,6}.

Las investigaciones de toxicidad aguda establecen principalmente la primera etapa de estudios de toxicidad y están designados a evaluar la naturaleza cualitativa y cuantitativa de los efectos nocivos de un determinado producto después de una exposición⁷.

El problema principal planteado en dicho estudio fue: ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” presentará toxicidad aguda en la especie *Mus musculus*?, a fin de evaluar la inocuidad del

extracto, para ello se empleó el método dado por la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OECD), donde la evaluación de la toxicidad aguda se desarrolló en ratones *Mus musculus* por el método de clases toxicas agudas, este ensayo nos brindara el potencial toxico que tiene un compuesto o sustancia y de qué manera es la interacción con el individuo⁷. Esta investigación tiene como uno de sus objetivos evaluar y determinar los signos de toxicidad que se manifiestan después de la inoculación de una única dosis del extracto en estudio⁸. La investigación tiene como fin evaluar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” una planta muy utilizado para fumigar y pescar, por las comunidades nativas y comunidades campesinas del VRAEM ya que al darle uso a esta planta hay una exposición por parte de los niños y adultos que se sumergen al agua contaminada con el zumo de las hojas de esta planta para poder atrapar los peces, según el uso tradicional que le dan los pobladores de las comunidades nativas y campesinas del VRAEM es una planta toxica para animales de sangre fría debido a que les causa la muerte y hasta que no se realice una investigación que pueda descartar la toxicidad aguda de esta planta en seres vivos de sangre caliente no se puede seguir exponiendo, es por eso que se desarrolla esta investigación. Los objetivos de la investigación son:

Objetivo general.

Evaluar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.

Objetivos específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presente en el extracto hidroalcohólico de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.
- Evaluar los signos de toxicidad en ratones *Mus musculus*, a causa de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.
- Determinar la dosis letal 50 (DL₅₀) del extracto hidroalcohólico de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación.

Simbad *et al*⁹, desarrollaron un estudio “Evaluación de toxicidad aguda y subaguda de *Euphorbia lateriflora* (Schum y Thonn) en ratas *Wistar Albino*”. El objetivo fue determinar la toxicidad del extracto etanólico de la planta *Euphorbia lateriflora* en ratas *Albino Wistar*. Este estudio se desarrolló con una única administración de la dosis alta de 5000 mg / kg. Los resultados mostraron que la DL50 del extracto fue superior a 5000 mg / kg. Después de 7 días de administración oral, 5000 mg / kg del extracto provocaron una disminución significativa en el volumen celular ($p < 0,05$). A 5000 mg / kg P.C., el extracto provocó un aumento significativo de ALP, proteína total y albúmina ($p < 0,05$) y una disminución de los electrolitos séricos (Na^+ , k^+ y Cl^-). El análisis histopatológico mostró que en el grupo alimentado con extracto de *Euphorbia lateriflora* a 5000 mg / kg, el espacio fibroso del hígado se expandió y la base glomerular del riñón se engrosó. En conclusión, la toxicidad selectiva para órganos dependiente de la dosis y dependiente del tiempo de este extracto puede ser relativamente insegura para el consumo en concentraciones particularmente altas.

Mazo¹⁰, desarrolló la investigación “Efecto tóxico y residual del barbasco (*Lonchocarpus utilis*) en la mosca doméstica (*Musca domestica*)”, el objetivo fue determinar el efecto tóxico del *Lonchocarpus utilis* (Barbasco) en *Musca domestica* (mosca doméstica). La variable involucrada en los efectos tóxicos fatales evaluados es la mortalidad. El efecto tóxico fue valorado a través del tiempo de pupación. El tratamiento se hizo en parcelas divididas donde estas parcelas se escogieron al azar. Los datos de mortalidad fueron de 86% para larvas y 70% de mosca doméstica adultos, además en el efecto residual los valores obtenidos en este tratamiento fueron 14% de pupación, tamaños de pupa de 4 mm y un inicio de pupación 72 horas más tarde que el inicio en el tratamiento control. En conclusión el extracto de barbasco a una dosis de 10 % administrado a larvas y a

los adultos de mosca domestica produce un efecto toxico letal, de esta manera se contribuye una alternativa viable para poder controlar las plagas.

Olubunm *et al*¹, desarrollaron un estudio "Toxicidad aguda acuosa del extracto de la hoja de *Euphorbia heterophylla* L. En ratas Sprague Dawley". El objetivo fue evaluar la toxicidad aguda del extracto acuoso de hoja de *Euphorbia heterophylla*. Se utilizó el procedimiento de las directrices 423 de la (OCDE), en los resultados se observaron una disminución significativa en el incremento porcentual del peso corporal de las ratas que recibieron 50 mg / kg, 150 mg / kg y 300 mg / kg en cualquiera de las semanas de tratamiento, sin embargo no hubo cambios significativos. El peso relativo del hígado, riñón y cerebro aumentó significativamente ($p < 0,05$) especialmente a 2000 mg / kg. También hubo un aumento significativo en el hematocrito (HCT) y la hemoglobina (HB) a 50 mg / kg ($p < 0,05$) y 150 mg / kg ($p < 0,001$). Sin embargo, los glóbulos rojos (RBC) ($p < 0,05$), las plaquetas (PLT) ($p < 0,001$) y los glóbulos blancos (WBC) ($p < 0,05$) presento una disminución significativa a 2000 mg / kg. Hubo una elevación significativa en las enzimas aspartato transaminasa (AST), alanina transaminasa (ALT) o fosfatasa alcalina (ALP) a 50 mg / kg, 300 mg / kg y 2000 mg / kg. Además, EHL (*Euphorbia heterophylla* L) causó inflamación leve o congestión portal en todos los grupos de tratamiento en conclusión la especie *Euphorbia heterophylla* L es tóxica a la dosis de 2000 mg /kg de peso.

Pereida *et al*², desarrollaron la investigación "Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos, etéreos y acuosos de las hojas de la *Trichilia hirta*" en la Universidad de Granma de Cuba, el objetivo fue evaluar la presencia de metabolitos secundarios. Se emplearon técnicas simples, rápidas y selectivas, que requieran pocos reactivos y equipamiento para la determinación de cada compuesto. En los resultados se muestra a los extractos de *Trichilia hirta* L.; destacando la presencia de los diferentes metabolitos secundarios como alcaloides, cumarinas, triterpenos, saponinas, quinonas, esteroides, antacianidinas, flavonoides y azúcares reductores. Se confirmó la presencia de alcaloides que es el metabolito secundario al cual se le atribuye la propiedad como repelente para diferentes ácaros probados en estudios realizados para evaluar dicha actividad.

Cala *et al*³, desarrollaron la investigación "Caracterización de compuestos fenólicos por electroforesis capilar de la especie *Phyllanthus acuminatus*

(Euphorbiaceae) y estudio de su actividad antioxidante”, Colombia, el objetivo principal fue evaluar la actividad antioxidante utilizando el ensayo de descoloramiento del radical DPPH. (2,2-Difenil-1-picrilhidracilo) y el contenido total de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu. De acuerdo a los valores de EC 50 (g extracto/mmol DPPH) en las tres sustancias que fueron analizadas obteniéndose los siguientes resultados (*Phyllanthus acuminatus* 0,092 ± 0,008 Vitamina E 0,117 ± 0,003 y Trolox 0,061 ± 0,001), según estos datos obtenidos se pudo observar que el extracto de la especie *Phyllanthus acuminatus* tiene una mayor capacidad en comparación de la vitamina E para capturar radicales libres, pero se encuentra por debajo del Trolox. La cantidad total de fenoles encontrados en esta especie, utilizando como referencia el equivalente de ácido gálico fue 4,30 ± 0,12 (mg fenoles/100 g de planta). A partir del espectro UV obtenido para cada una de las señales presentes en el extracto etanólico de la especie *Phyllanthus acuminatus*, esta evaluación se realizó a una absorbancia de 228 – 238 nm, particular de algunos compuestos fenólicos. En conclusión el extracto etanólico de *Phyllanthus acuminatus* contiene una cantidad representativa de fenoles y una alta capacidad para atrapar radicales libres.

Gracia *et al*⁶, desarrollaron la investigación “Actividad antimicrobiana de *Phyllanthus acuminatus* Vahl.” Colombia, con el objetivo de estudiar la actividad antimicrobiana y antifúngica del extracto etanólico de *Phyllanthus acuminatus*. Por el método de difusión en gel perforación, en agar sabouraud-destrosa. Las bacterias y los hongos para el ensayo fueron: *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus fáecalís*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, *Escherichia coli*, *Salmoneda typhy*, *Pseudomonas aeruginosa* y la levadura *Candida albicans*, *Penicillium sp*, *Penicillium steki*, *Aspergillus niger*, *Mucor sp*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxisporium*, *Absidia sp*, *Circinella sp*, *Zygorrinchus sp*, *Basidiobolus sp*, *Sandaria sp*, *alternativa sp*, *Scopulariapsis sp*. *Aspergillus flavus* y nistatina (250 µg/mL) como patrón y etanol como control de solvente; y extractos (0,1 mL). El extracto etanólico no presentó actividad contra las bacterias gram positivas, gram negativas ni contra la levadura. Frente a los hongos, se observó que el extracto C (etanol del 95 %: extracto C) presentó inhibición frente a *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporium*, *Absidia sp*, *Circinella sp*, *Zygorrinchus sp*, *Basidiobolus* y el extracto D (1:10 extracto) inhibió el crecimiento de *Aspergillus fumigatus* y *Zygorrinchus sp*.

Quispe¹³, desarrolló la investigación “Efecto antiespasmódico y toxicidad aguda del extracto acuoso de las hojas del *Solanum americanum* Muller (Ñushco)”, Lima, con el objetivo fue evaluar el efecto antiespasmódico y toxicidad aguda del extracto acuoso de las hojas. Se utilizó hojas de la especie *Solanum americanum* Muller, en conejillos de indias y ratones. Se hizo una marcha fitoquímica, para determinar los metabolitos secundarios. El método para evaluar el efecto antiespasmódico se efectuó sobre el íleon de cobayo, para el estudio de la motilidad gastrointestinal y toxicidad aguda se utilizó ratones albinos. En la marcha fitoquímica se evidencio contenido de los siguientes metabolitos secundarios como saponinas, aminoácidos, flavonoides, taninos y alcaloides. Según el método se trabajó con el íleon del cobayo (órgano aislado) en el cual se pudo observar una relajación del 40 % a la dosificación de histamina y acetilcolina, una inhibición de 60 % en motilidad gastrointestinal dosis dependiente, la dosis de 500 mg/kg, fue igual al control positivo de atropina. No se evidencio muerte en los ratones una vez administrado las dosis del extracto para el ensayo de toxicidad aguda. En conclusión el extracto de la especie *Solanum americanum* Muller tiene una actividad antiespasmódica en conejillos de indias y no produce toxicidad aguda en ratones.

Pérez *et al*¹⁴, desarrollaron la investigación “Evaluación de la toxicidad aguda, genotoxicidad y efecto teratogénico del extracto acuoso liofilizado de las semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (Tarwi, Chocho) en ratas”, Cusco, con el objetivo de determinar los efectos adversos que se podrían manifestar después de la inoculación por V.O. a través de una sonda orogástrica. Para los procedimientos se utilizaron ratas albinas (hembra) de raza Holtzman, con un peso que va de 170 ± 10 g. Los procedimientos utilizados fue descrito por Lorke para evaluar la toxicidad aguda, para evaluar la genotoxicidad y teratogenicidad se utilizó la OCDE N° 474 y 414. La evaluación de la toxicidad aguda se desarrolló con 16 ratas hembras, dichos animales se encontraron con un ayuno previo de 12 horas, las ratas fueron divididas en 4 grupos.

Según los resultados no se observó signos de toxicidad ni muerte, hasta las dosis de 2000 y 5000 mg/Kg p.c. se evaluaron a las crías y los parámetros fueron número, talla fetal, peso y malformaciones sin evidencias de teratogenicidad, en comparación con el grupo control, en conclusión el extracto no presenta genotoxicidad ni teratogenicidad, la dosis letal media fue 3808 mg/Kg clasificado como atóxica.

Silvero *et al*⁵, desarrollaron un estudio “Toxicidad aguda de hojas de *Xanthium spinosum* en ratones Balb/C. El objetivo fue analizar sobre el efecto tóxico del consumo de hojas de plantas maduras de *Xanthium spinosum* en ratones BALB/c”. Para la investigación se utilizó 35 ratones machos. Se preparó el extracto a una concentración de 6 % y 9 % (g/dL); se inoculó la concentración de 6 % a tres grupos y la concentración de 9 % también a tres grupos. Finalizado los 14 días de evaluación y observación, se extrajeron muestras de sangre para analizar en los laboratorios los valores bioquímicos de urea y transaminasas, también se extrajeron órganos para la evaluación anatómo - patológicos. Los resultados de los análisis de laboratorio presentaron diferencias significativas ($p=0,01$) entre los valores de GOT (transaminasa glutámico-oxalacética) y las diferentes dosis administradas. Las dosis evaluadas fueron valores altos al control; en las dosis administradas, se evidenció diferencia entre 200 mg y 100 mg; 500 mg y 100 mg. Además, se determinó correlación entre la GOT y la dosis de 74 %; GOT y concentración de 66 %. En conclusión el consumo del extracto de hojas maduras de *Xanthium spinosum* puede ser tóxico a nivel hepático.

Orellana *et al*⁶, realizaron un estudio “Toxicidad aguda de *Aleurites Moluccana* por vía oral en ratas Sprague-Dawley”. El objetivo fue determinar la toxicidad aguda de la especie *Aleurites moluccana* mediante una administración orogástrica a las ratas Sprague-Dawley. La evaluación de la toxicidad aguda oral según lo estipulado en el ensayo 423 de las directrices de la Organización Económica para el Comercio y Desarrollo (OECD). Como resultado no existieron diferencias significativas en los pesos, ni en las variables bioquímicas entre los grupos (Kruskal-Wallis, $p>0,05$). Los grupos A1 y A2 presentaron signos clínicos de toxicidad y la muerte de tres ratas; células hepáticas binucleadas y regenerativas en el hígado; y hemorragia glomerular en el riñón. En conclusión las variables clínicas e histopatológicas en hígado y riñón demostraron que la *Aleurites moluccana* produce toxicidad aguda.

Rojas *et al*⁷, desarrollaron la investigación “Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas”, Lima, con el objetivo de evaluar la toxicidad aguda del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), emplearon el método de dosis límite durante los 28 días de exposición, no se evidenció ningún signo tóxico, el comportamiento físico fue normal, el extracto no produjo muertes ni pérdida de

peso corporal. No se evidencio alteraciones en los valores leucocitarios, pudiéndose observar siempre las células normales de acuerdo con su desarrollo, lo que corresponde a un comportamiento normal. Los datos conseguidos en los indicadores hematológicos no mostro alteraciones significativas; las variaciones encontradas están dentro del rango establecido por el grupo control y por la literatura especializada. Concluyendo que el extracto metanólico no presenta toxicidad.

Tineo¹⁸, desarrolló la investigación “Toxicidad aguda y genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl “sacato” en *Mus musculus* “ratón”. Ayacucho 2018”, el objetivo principal fue determinar la toxicidad aguda y genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl “sacato”. Para el estudio de la toxicidad aguda se trabajó por el método de la dosis límite a 2000 mg / kg de p.c. y el efecto genotóxico se desarrolló con la prueba de micronúcleos en eritrocitos de mamíferos test N° 474 de la OECD. A las dosis de 200; 400; 800 mg/kg se utilizó NaCl al 0,9 % para el grupo control y ciclofosfamida para inducir los micronúcleos. Los metabolitos secundarios presentes fueron: flavonoides, catequinas, compuestos fenólicos, taninos y saponinas. En el ensayo de toxicidad aguda los resultados mostraron inocuidad del extracto al no observarse síntomas de manifestación toxica ni alteración en el desarrollo del peso corporal, ubicándose la (DL₅₀) por encima de 2000 mg/kg y clasificándose en el rango de la toxicidad como categoría 5, en los estudios de genotoxicidad no hubo variación estadística en comparación con el control negativo del porcentaje de micronúcleos en sangre periférica (p <0,05). Concluyéndose que el extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl “sacato” no presenta toxicidad aguda ni genotoxicidad en ratones.

Aquino¹⁹, Desarrolló la investigación “Toxicidad aguda y genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* (R. & P.). Don. “huamanpinta”, Ayacucho 2017”, con el objetivo de evaluar la genotoxicidad inducida en ratones por la administración repetida del extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa*, mediante el test de micronúcleos descrita por la OECD 474. Obteniéndose como resultado que la mediana del número de micronúcleos en los grupos con anestésicos locales expuestos durante uno o 5 días varió de 0 a 1; al grupo que se administró la ciclofosfamida fue de 10, en el grupo control

negativo y quinto día fue de 1 y 0 respectivamente ($p < 0,0001$). En conclusión no se observó ningún efecto de genotoxicidad tras la exposición repetitiva al extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa*.

Rivadeneira *et al*⁰, desarrollaron una investigación “Toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de la planta *Chuquiraga jussieui*, administrado vía oral en ratas”, Ayacucho, con el objetivo de evaluar toxicidad aguda por inoculación orogástrica a dosis única del extracto hidroalcohólico de la especie *Chuquiraga jussieui*. La investigación se desarrolló en ratas y se utilizó el método de dosis fija OECD 423. El extracto se inoculó por la vía orogástrica solo una dosis de 2000 mg/kg en un volumen de 20 mL/kg de peso corporal. No se evidenció signos de toxicidad durante los 14 días después de la administración. Las ratas obtuvieron ganancia de peso. No se manifestaron lesiones macroscópicas anatómicas ni patológicas en los animales administrados con el extracto hidroalcohólico en estudio. El extracto hidroalcohólico concentrado de la especie *Chuquiraga jussieui* se catalogó como No Clasificado según la metodología de la OMS y como Categoría 5 por la GHS, OECD, en conclusión el extracto hidroalcohólico no produce toxicidad aguda vía oral.

Ávila *et al*¹, desarrollaron la investigación “Evaluación de la toxicidad aguda a dosis fijas del extracto de *Werneria Dactylophylla* (Pupusa)”, con el objetivo de estudiar la toxicidad aguda para ello se empleó el método de dosis fijas, usando la dosis límite de 2000 mg/Kg y 5000 mg/Kg, con una evaluación constante de 14 días. Los animales escogidos fueron ratones Swiss albinos hembras con un peso dentro de los 18 y 20 g. El método y el diseño experimental se desarrollaron por la norma EPA (Agencia de Protección Ambiental) OECD 425 (Organización Económica para el Comercio y Desarrollo), para la aplicación del método de las Clases de Toxicidad Aguda (CTA). Los resultados nos muestran que la planta es totalmente inocua al no evidenciarse signos y síntomas de toxicidad y no se manifestó ninguna alteración macroscópica órganos evaluados.

2.2. *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.

2.2.1. Clasificación taxonómica según el sistema de Cronquist. A. 1988.

DIVISION	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	EUPHORBIALES
FAMILIA	:	EUPHORBIACEAE
GÉNERO	:	<i>Phyllanthus</i>
ESPECIE	:	<i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl
N.V.	:	“cube de monte”

Constancia otorgada por la **Biga. LAURA AUCASIME MEDINA** especialista en taxonomía y sistemática de plantas, por lo que me otorgó una Constancia de Acreditación. (Anexo 1)

2.2.2. Descripción botánica.

Es una planta del tipo arbustivo, alcanza 2- 8 m de alto, hojas compuestas, deciduas, nervios principales ligeramente prominentes, estípulas, flores estaminadas, anteras con dehiscencia horizontal, ovario liso, fruto tipo cápsula²².

2.2.3. Hábitat y distribución geográfica.

Nativa de Colombia, crece en Centroamérica, las Antillas y Sudamérica entre 0-1800 msnm en valles, en climas cálidos y templados, en ambientes secos y húmedos. Crece de forma aislada, hay épocas en que no se encuentran plantas. Presenta defoliación en el verano, lo que dificulta su recolección en esta época²².



Figura 1. *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” en su hábitat natural.

2.2.4. Composición química.

Los análisis fitoquímicos de identificación realizados a la especie *Phyllanthus acuminatus* Vahl indican la composición de metabolitos secundarios como: flavonoides, lactonas terpénicas, taninos, antraquinonas, esteroides y/o triterpenoides libres⁶.

2.2.5. Uso tradicional.

- Tradicionalmente utilizado para ‘barbasquear’ peces y fumigar.

2.3. Toxicidad.

La toxicidad es una medida de la dosis necesaria de una sustancia en particular para dañar un organismo vivo. Una sustancia se vuelve *tóxica* a la dosis que comienza a dañar un organismo. Contrariamente a la creencia popular, todas las sustancias tienen cierta toxicidad. Incluso el agua y el oxígeno son peligrosos para

los organismos en determinadas concentraciones. Además, diferentes especies experimentan las toxinas de diferentes maneras. La toxicidad de una determinada sustancia, como el azufre, por ejemplo, variará según la especie. Para los humanos, grandes dosis de azufre son fatales. Sin embargo, para los organismos que viven en el calor de los respiraderos volcánicos en el fondo del océano, el azufre es un nutriente necesario y bienvenido.

La toxicidad está determinada por las reacciones de un organismo a varias dosis de una sustancia química. La dosis letal se determina mediante una prueba en la que se dosifica a los organismos con la sustancia química en cuestión. La dosis que mata a la mitad de la población se considera la dosis letal. Esto se conoce como DL50 prueba, y solía ser una medida estándar de toxicidad²³.

2.3.1. Toxicidad aguda.

La toxicidad aguda describe los efectos adversos de una sustancia que resultan de una sola exposición o de múltiples exposiciones en un período corto de tiempo (generalmente menos de 24 horas). Las pruebas de toxicidad aguda en animales (es decir, ratas) utilizan la mortalidad como el criterio de valoración principal de observación para obtener una DL₅₀ o CL₅₀.

Los estudios de toxicidad aguda suelen incluir 3 vías: oral, dérmica e inhalatoria. Un descriptor de dosis-respuesta común para la toxicidad aguda es el LD₅₀ (dosis letal 50%). Esta es una dosis derivada estadísticamente a la que se espera que muera el 50% de los individuos. Para la toxicidad por inhalación, las concentraciones de aire se utilizan para los valores de exposición. Por tanto, se utiliza la CL50 (concentración letal 50%).

Las unidades de LD50 y LC50 se enumeran a continuación:

- DL50: mg / kg / pc. mg / kg pc representa mg de sustancia por kg de peso corporal administrados por día.
- LC50: mg / L es la concentración en aire estimada de una sustancia administrada por vía inhalatoria.

Cabe señalar que la DL50 / CL50 de los estudios de toxicidad aguda se utilizan principalmente para la clasificación de toxicidad aguda del SGA, la evaluación cualitativa del riesgo y la elección de las dosis para las investigaciones de toxicidad por dosis repetidas. No se pueden utilizar para derivar el nivel de efecto adverso no observado²⁴.

2.3.2. Toxicidad crónica.

La toxicidad crónica es la capacidad que tiene un compuesto o una sustancia o mezcla de sustancias para causar efectos nocivos durante un período prolongado, generalmente tras una exposición repetida o continua, que a veces dura toda la vida del organismo expuesto²⁵.

2.3.3. Toxicología experimental.

“Es una rama de la Toxicología que se encarga de la investigación o experimentación con modelos biológicos, es decir, tienden a utilizar un modelo científico de ensayo y error, aplicando las sustancias sobre los seres vivos o tejidos procedentes de”ellos²⁴.

Tabla 1. Clasificación de toxicidad aguda definidos por SGA⁷.

Categoría de clasificación	Rango de toxicidad aguda DL50 (mg/Kg de peso corporal)	Indicación de peligro – Oral
Categoría 1	0 - 5	Mortal en caso de ingestión
Categoría 2	5 - 50	Mortal en caso de ingestión
Categoría 3	50 - 300	Tóxico en caso de ingestión
Categoría 4	300 - 2000	Nocivo en caso de ingestión
Categoría 5	2000 - 5000	No clasificado

2.4. Método para evaluar la toxicidad aguda.

2.4.1. Clases tóxicas agudas (CTA)²⁶.

Es un método “alternativo” en terreno de la toxicología experimental, es nueva y coincide con la prohibición de uso indiscriminado de animales de prueba o experimentación, esta ciencia tenía la necesidad de corregir la valoración toxicológica, dado que en oportunidades solo quedaba en la descripción del perjuicio, que proporcionan los métodos tradicionales. Estos procedimientos alternos tienen como objetivo eludir la repetición innecesaria de ensayos; este método tiene la finalidad de agrandar su efectividad y disminuir a lo más mínimo el suplicio y el número de animales empleados. El resultado será sin dudas un avance hacia procedimientos más humanos y contrastados científicamente que los actuales. Una de las opciones aparecidas es el método de las CTA; en este método tan solo se utiliza 3 animales del mismo sexo por dosis, es un método que se aplica por etapas y permite seleccionar los compuestos dentro del rango de toxicidad y verificar los valores de DI_{50} , obtenidos por el procedimiento convencional²⁶.

Principios básicos de las tres erres:

- Reemplazar
- Refinar
- Reducir

2.5 Definición de términos básicos.

2.5.1 Dosis mortal media o dosis letal media (DL₅₀).

Dosis de sustancia que produce letalidad al 50 % de animales experimentados. Una población mínima de 10 ejemplares permite evaluar su potencial tóxico. En la (DL₅₀) se consideran los efectos observados (signos, síntomas de toxicidad, efectos tóxicos y hallazgos patológicos). Después de la administración los animales son evaluados por un periodo de 14 días, son sacrificados y autopsiados una vez culminada la investigación, para evaluar efectos adversos en los órganos, por examen macroscópico y microscópico. La dosis letal media se expresa en (mg/kg)²⁵.

2.5.2 Efectos adversos.

Disminución de los valores normales de las funciones vitales y anatómicas de un individuo. Es un resultado dañino o anormal, a causa de una administración de un medicamento o por la exposición a una sustancia química²⁵.

2.5.3 Efectos tóxicos.

Es la alteración del equilibrio fisiológico, "exageración de los efectos terapéuticos" (los cardiotónicos digitales pueden provocar un paro cardíaco) o "efectos no terapéuticos" (los antibióticos aminoglucósidos tienen efectos neurotóxicos y nefrotóxicos a través de mecanismos distintos de su actividad). Los efectos tóxicos solo deben ocurrir en el entorno experimental y no deben ocurrir en el uso clínico normal. Pueden ser de los siguientes tipos:

- **Reversible.** El efecto tóxico tiende a desaparecer después de un corto periodo de tiempo.
- **Irreversible.** El efecto no se ausenta con el pasar del tiempo. El efecto se mantiene incluso cuando el tóxico se elimine²⁷.

2.5.4 Tamizaje fitoquímico.

El tamizaje o screening fitoquímico es la etapa inicial del estudio fitoquímico, el cual nos permite determinar cualitativamente los principales metabolitos secundarios presentes en el recurso vegetal y desde de allí, conducir a la extracción de los extractos para la separación de los grupos de mayor interés²⁸.

2.5.5 Metabolitos secundarios.

Son compuestos relativamente complejos. Por lo general, no interfieren con las funciones fisiológicas de las plantas. Y generalmente se consideran un lujo entre ellos. La función metabólica con la que interfieren aún no se ha descubierto²⁸.

El estudio de los componentes químicos se llama fitoquímica. Debe realizar pruebas cualitativas para comprender los metabolitos activos de una droga. También se deben realizar pruebas para caracterizar y evaluar los principios actuales²⁹.

2.5.6 Extracto.

Es un compuesto obtenido a través de una extracción de una parte de un recurso vegetal, usando disolventes como alcohol etílico, agua u otros. Los extractos pueden mercantilizarse en forma de polvo o como tinturas²⁸.

2.5.7 Extracción con solventes.

Es un método que consiste en colocar la muestra con uno o varios solventes capaces de solubilizar los metabolitos secundarios. Los metabolitos secundarios presentes en la muestra deben pasar al solvente y concentrarse para obtener un extracto líquido. Luego este extracto líquido tiende a concentrarse gracias a la eliminación del disolvente. Este tipo de extracción con solventes es el método utilizado con más frecuencia para obtener los diferentes principios activos y metabolitos secundarios²⁹.

2.5.8 Rotenona.

Rotenona es considerado un pesticida e insecticida natural, que es extraído a través de una maceración con solventes orgánicos e inorgánicos a partir de las raíces de la especie *Lonchocarpus nicou*. La Rotenona, es un insecticida natural selectivo por contacto, no sistémico con actividades acaricidas y parasiticidas³⁰.

Sus propiedades insecticidas fueron descubiertas desde el siglo XIX. Desde entonces fue comercializada, se usa la resina para la preparación de concentrados líquidos o formulaciones tipo polvos u otros vehículos. También, las raíces del barbasco, se pulverizan y mezclan con un vehículo para elaborar una fórmula en polvo³¹.

2.5.9 Toxicidad.

Capacidad que tiene un sustancia o agente químico para producir efecto dañino a un individuo, esto depende de la dosis o cantidad de sustancia administrada y absorbida, la vía de administración y su distribución en el tiempo ya sea a causa de una única dosis o varias, severidad y tipo del daño, tiempo necesario para

producir el daño, la naturaleza del organismo afectado y otras condiciones intervinientes²⁹.

2.5.10 Toxicidad aguda.

Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos dentro de un corto plazo de tiempo (usualmente hasta 14 días) después de la administración de una dosis única (o una exposición dada) o tras dosis (o exposiciones múltiples) en 24 h²³.

2.5.11 Tóxico.

Sustancia química que es capaz de producir un efecto nocivo en la salud de un individuo. Todas las sustancias químicas son tóxicas, debido a que el efecto de la sustancia depende de la dosis y de las condiciones individuales²³.

2.5.12 Dosis.

Dosis es una palabra que es utilizada para explicar que cantidad de una sustancia será administrado o inyectado en un individuo durante un tiempo determinado, puede indicarse de múltiples formas, los más comunes son cantidad del agente químico por peso del individuo dado por única vez (g/kg) o repetida diariamente (g/kg/día). Un total de dosis diaria puede ser dividida en varias dosis administradas en intervalos específicos (g/Kg/6hr)²³.

2.5.13 Efecto.

Cualquier cambio producido o adquirido a causa de una sustancia química sobre un sistema biológico concreto²³.

2.5.14 Xenobióticos.

Son aquellos compuestos químicos que componen la estructura de un organismo vivo, pero tienen la capacidad de acoplarse a las diferentes rutas metabólicas generando algún efecto sobre los seres vivos. Entre estos compuestos encontramos (compuestos industriales, químicos, fármacos, pesticidas, metales pesados, cosméticos, contaminantes, aditivos, micotoxinas, alcaloides etc.)²⁹.

2.5.15 Control.

Grupo o individuo seleccionado para utilizarlo como referencia para un determinado estudio por sus características específicas, como edad, sexo, raza, estatus económico, etc. Dicho término está relacionado con patrón o estándar²³.

2.6. Programa "BASIC" para el cálculo de DL₅₀ por el método de Probits

El programa BASIC, está diseñado para determinar el valor de la DL₅₀ de sustancias tóxicas empleando el método de conversión en Probits. Para realizar dicho cálculo en el programa, el operador proporciona las dosis de las sustancias tóxicas utilizado en la investigación toxicológica, la cantidad de animales utilizados en cada dosis, y la cantidad de animales que murieron con dicha dosis³².

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

Esta investigación se desarrolló en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Definición de la población y muestra

3.2.1 Población vegetal

Hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. La recolección de la muestra vegetal se dio por conveniencia, a las horas de la mañana (6 am).

3.2.2. Muestra vegetal

750 g de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” pulverizado.

• Criterios de inclusión:

- Hojas fueron recolectadas en buen estado sin presencia de hongos.
- Hojas deben tener una longitud mayor a 1 cm de largo.

• Criterios de exclusión:

- Hojas contaminadas y con presencia de hongos.
- Hojas pequeñas con un tamaño menor a 1 cm.

3.2.3. Población animal

Para este estudio se utilizaron ratones, ambos sexos, con pesos entre 25 a 35 g.

3.2.4. Muestra animal

Se usaron 50 ratones *Mus musculus*, machos y hembras.

• Criterios de inclusión:

- Ratones *Mus musculus* jóvenes, adultos y sanos.
- Ratones *Mus musculus* ambos sexos con peso ≥ 25 g p.c.

• Criterios de exclusión:

- Ratones *Mus musculus* con signos evidentes de enfermedad.
- Ratones *Mus musculus* ya utilizados en anteriores investigaciones.
- Ratones *Mus musculus* ambos sexos con pesos menores a 25 g.

3.3. Tipo de investigación

- Básico - Experimental

3.3.1. Diseño de investigación³³.

Es un diseño con postprueba únicamente y grupo control³⁴.

El diseño incluye cuatro grupos de los cuales tres recibieron las diferentes dosis de la investigación y un grupo fue el control al cual no se le administró ninguna dosis. Una vez concluida la manipulación, a los grupos tanto experimental como control se realizó la medición en la variable dependiente. Para esta investigación se utilizaron tres dosis del extracto de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” para evaluar la toxicidad aguda.

Ge	X	O
Gc	-	O

Dónde:

Ge: Grupo experimental

Gc: Grupo control

X: Tratamientos

Hi: El extracto hidroalcohólico de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” presenta toxicidad aguda.

Ho: El extracto hidroalcohólico de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” no presenta toxicidad aguda.

3.4. Metodología y recolección de datos

3.4.1. Recolección de la muestra

Se recolectó las hojas en el centro poblado Chirumpiari, distrito Kimbiri provincia La Convención, departamento Cusco, en horas de la mañana. Se eligieron las hojas en buen estado, se transportó en bolsas de papel para evitar que se descompongan y luego pasaron a un secado en una sombra bien ventilada durante 10 días con buena limpieza y siempre extiéndalas para evitar que se descompongan. Una parte de la muestra vegetal fue llevada para la clasificación taxonómica a la **Blga. LAURA AUCASIME MEDINA** especialista en taxonomía y sistemática de plantas, por lo que me otorgó una Constancia de Acreditación.

3.4.2. Obtención de extracto hidroalcohólico de hojas *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”

Se pesaron 750 g de hojas secas trituradas, se colocaron en un frasco de vidrio ámbar para la maceración con 3 L de alcohol al 80 %, se dejó 1 semana en maceración con agitación constante. Pasados los 7 días de maceración se pasó a filtrar y obtener la solución hidroalcohólica el cual fue concentrado en baño María a 45 °C, secado en la estufa a 45 °C y guardados en frasco para su posterior análisis.

3.4.3. Rendimiento de los procesos de extracción del extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.

El cálculo del porcentaje de rendimiento se realizó con la siguiente formula.

$$n = M_{EXT} / M^{\circ} \times 100 \%$$

n : % Rendimiento del extracto

M_{EXT} : Peso del extracto seco

M° : Peso inicial

100 %: Factor matemático para los cálculos.

3.4.4. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.

Se realizó una identificación fitoquímica cualitativa al extracto adquirido de la planta en estudio, para identificar la presencia de los metabolitos secundarios. Las reacciones de identificación se desarrollaron siguiendo la metodología propuesta por Miranda y Cuellar³⁵.

- Ensayo de cloruro férrico: permite identificar cualitativamente si el extracto contiene fenoles y/o taninos en un extracto vegetal. A la alícuota del extracto hidroalcohólico se le adicionó 3 gotas de solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica.
- Ensayo de Shinoda: permite reconocer la presencia de flavonoides, para ello la alícuota se agregó 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y cinta de magnesio metálico.
- Reacción de hidróxido de sodio al 10 %: permite identificar la presencia de flavonoides, para ello se adicionó a la alícuota 3 gotas de hidróxido de sodio, si hay una formación de una coloración amarillo a rojo indica la presencia de xantonas.

- Ensayo de Baljet: permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular cumarinas. Para ello se adicionó 1 mL del reactivo de Baljet.
- Ensayo de Dragendorff: permite identificar cualitativamente si el extracto contiene alcaloides, para el cual, se le añadió 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado, se calentó suavemente y se dejó enfriar hasta acidez, posteriormente se añadió 4 gotas del reactivo Dragendorff.
- Ensayo de Mayer: permite identificar cualitativamente si el extracto contiene alcaloides, para ello, se le añadió 2 gotas de $\text{HCl}_{(c)}$, se calentó ligeramente y se dejó enfriar, posteriormente se agregó 3 gotas del reactivo Mayer.
- Ensayo de Wagner: permite identificar cualitativamente si el extracto contiene alcaloides, para ello, se le añadió 2 gotas de $\text{HCl}_{(c)}$, se calentó ligeramente y se dejó enfriar, posteriormente se agregó 4 gotas del reactivo Wagner.
- Ensayo de Kedde: permite identificar cualitativamente si el extracto contiene glicósidos cardiotónicos, a la alícuota del extracto hidroalcohólico se le añadió 1 mL de reactivo Kedde.
- Ensayo de Grignard: permite identificar cualitativamente si el extracto contiene glicósidos cianogénicos. Para ello se preparó un papel de filtro de picrato de sodio sumergido. Se preparó una muestra del extracto al 5 % aproximadamente al cual se le añadió 1 mL de cloroformo al cual se le inserto el papel de filtro sumergido en picrato sódico el cual se calentó a 35 °C por 3 horas.
- Ensayo de Lieberman - Burchard: permite identificar cualitativamente si el extracto contiene triterpenos y/o esteroides. Para el cual se evaporó una alícuota del extracto en baño maría y el resto se disolvió en 1 mL de cloroformo, se agregó 1 mL de anhídrido acético, se homogenizó y finalmente se añadió 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado por las paredes del tubo de ensayo.
- Ensayo de Fehling: permite identificar cualitativamente si el extracto contiene azúcares reductores para ello, se utilizó una alícuota de 2 mL del extracto disuelto en agua al cual se le agregó 2 mL del reactivo y se pasó a calentó en baño María 5 a 10 minutos la mezcla.
- Ensayo de Benedict: permite identificar cualitativamente si el extracto contiene azúcares reductores para ello se pipeteo en un tubo de ensayo 5 mL

de reactivo de Benedict, se pasó a calentar a ebullición luego se añadió 1 mL de la solución de azúcar, se disolvió bien y se volvió a calentar a ebullición.

- Ensayo de espuma: permite identificar cualitativamente si el extracto contiene saponinas, para el cual se diluyó la alícuota con 5 veces su volumen en agua y se agitó la mezcla fuertemente durante 8 minutos.
- Prueba del α naftol: permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, para ello se colocó una pequeña cantidad de extracto alcohólico seco y se añadió 2 mL de etanol y 2 gotas de solución 0,1 % de α - naftol adicionándose por la pared del tubo de ensayo 2 mL de ácido sulfúrico (c). La reacción es positiva cuando en la interfase se forme un anillo de color violeta³⁶.
- Ensayo de rotenona: permite identificar cualitativamente la presencia de rotenona en un extracto. Para ello se mezcló el extracto seco en una disolución acetónica se le agregó nitrito sódico y después ácido sulfúrico³⁷.
- Ensayo de la ninhidrina: permite identificar cualitativamente si el extracto hidroalcohólico presenta aminoácidos libres o aminas. Para ello se mezcló alícuota del extracto en alcohol, se mezcló con 2 mL de solución de ninhidrina. La mezcla se calentó 5 – 10 min en baño de agua.

3.4.5. Determinación de la toxicidad aguda oral por el método de clases tóxicas.

3.4.5.1. Toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.

Para poder determinar la toxicidad aguda se trabajó con el método de las clases tóxicas agudas, descrito por la normativa N° 423 de la OECD (OECD Guideline For Testing of Chemical «Acute Oral Toxicity Acute Toxic Class Method» N° 423 Adaptada, 20 de diciembre, 2001), con algunas modificaciones.

- Se empleó 24 ratones los cuales fueron y alojados con libre acceso a agua y alimento con temperatura ambiental entre 18 - 22 °C y 50 - 60 % de humedad con 12 horas de luz/oscuridad. Posteriormente, los animales fueron sometidos a ayuno con libre acceso a agua ocho horas antes del ensayo.
- Luego los ratones fueron agrupados aleatoriamente. Después se procedió a administrar al grupo experimental el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”, utilizando una sonda

intragástrica. Al grupo control se le inoculó 0,5 mL de NaCl 0,9 %, el estudio se dio por fases:

- **Primera fase:** Se realizó con ratones *Mus musculus*, sexo macho, con 25 g p.c. aproximadamente a la dosis de 2000 mg/Kg p.c., 200 mg/Kg p.c., 25 mg/Kg p.c y el grupo control.
- **Segunda fase:** Se realizó con ratones *Mus musculus*, sexo hembra, con 25 g p.c. aproximadamente a la dosis de 2000 mg/Kg p.c., 200 mg/Kg p.c., 25 mg/Kg p.c y el grupo control.

Los ratones utilizados en la investigación fueron sometidos a ayuno de 8 horas antes de la administración del extracto hidroalcohólico y una vez culminada la administración se volvió a alimentarlos pasados las 2 horas. El volumen a administrar fue 2 mL/100 g de peso corporal³⁸.

3.4.5.2. Observaciones generales

Se hizo la evaluación de los signos de toxicidad con mucha cautela por lo menos dos veces al día, o con mayor frecuencia dependiendo de la respuesta que dieron los animales sometidos al estudio, posteriormente al menos una vez al día. Los animales que mostraron mucho dolor, moribundos y con signos de sufrimiento fueron sacrificados de manera compasiva estos animales sacrificados fueron considerados muertos durante la prueba.

Estos animales fueron estudiados, observados y analizados durante 14 días.

Dentro de los análisis se incluyó cambios de la piel y del pelaje, ojos y mucosas, y también de los sistemas respiratorios y nervioso (autónomo y central), actividad somato motriz y comportamiento. Prestándose una observación cautelosa y especial a los signos como convulsiones, temblores, letargo, salivación, sueño, diarrea y coma³⁸.

SNC³⁹

- Actividad motora aumentada (excitación, manía), indica una actividad adrenérgica.
- Actividad motora disminuida (somnolencia, coma), indica una actividad depresora del Sistema nervioso central.
- Pérdida reflejo enderezamiento, indica una actividad depresora del Sistema nervioso central.
- Temblores en el cuerpo, indica una actividad colinérgica.
- Convulsiones, indica una actividad excitatoria extrema en SNC.

Ojos³⁹

- Lacrimación, indica una actividad parasimpática.

Orejas³⁹

- Hiperemia, indica una actividad vasodilatadora por posible actividad simpaticolítica.

Efectos generales³⁹

- Cianosis, indica falta de oxígeno en la sangre
- Erección de la cola, efecto analgésico.
- Piloerección puede ser por compensación a bajas temperaturas o actividad simpaticomimética.
- Diarrea. indicativo de actividad muscarínica y efecto laxante

Efectos subjetivos³⁹

- Agresividad
- Temor

3.4.5.3. Peso corporal.

Los animales fueron pesados antes de la inoculación de extracto, a los 7 días y 14 días. Se calcularon y registraron la variación de peso corporal. Al finalizar el ensayo, los animales sobrevivientes se pesaron antes de sacrificarse de manera compasiva³⁸.

3.4.6. Determinación de la dosis letal media (DL₅₀).

Para calcular la DL₅₀ del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl "cube de monte", se utilizó el programa BASIC, el cual nos exige tres dosis que produzcan muerte en los ratones *mus musculus* como mínimo.

- Se conformó 3 grupos con 6 ratones cada uno (3 ratones macho y 3 ratones hembra)
- Se administró las dosis de 500 mg/kg, 1000 mg/kg y 1500 mg/kg de peso corporal
- Observar que se produzca muerte en estos 3 grupos.

3.5. ANÁLISIS DE DATOS

Los análisis de datos se realizaron con el programa estadístico SPSS, asimismo, los programas Word y Excel.

Los datos fueron agrupados y presentados en tablas, expresados en registros fotográficos y figuras que explican mejor los hallazgos. La toxicidad aguda se

analizó a través del paquete estadístico SPSS versión 22, utilizando la prueba estadística de ANOVA para ver la variabilidad de peso en el tiempo y la prueba de Dunnett para realizar las comparaciones múltiples. Se trabajó con un nivel de significancia de 95 % y un margen de error de 5 %, siendo $\alpha = 0,05$. la dosis letal media se calculó con el programa BASIC.

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.

Nombre Científico	Parte Utilizada	Cantidad de muestra seca (g)	Peso extracto (g)	Rendimiento (%)
<i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl.	Hojas	750	90,3	12,04

En la tabla 1 se muestra el porcentaje de rendimiento del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”, obteniéndose 12,04 %.

Tabla 3. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.

Metabolitos secundarios	Ensayo	Resultado	Observaciones
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Formación de una coloración verde oscuro
	Shinoda	+++	Formación de una coloración rojo ladrillo
Flavonoides	Hidróxido de sodio al 10 %	+++	Formación de una coloración amarillo-rojo oscuro
Cumarinas	Baljet	+++	Formación de precipitado rojo – marrón
	Dragendorff	+	Formación de una turbidez definida
Alcaloides	Mayer	+	Formación de una turbidez definida
	Wagner	+	Formación de precipitado coposo
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	+	Formación de una coloración rojo – carmín
Glicósidos cianogénéticos	Grignard	+++	Formación de una coloración marrón - negro
Triterpenos y Esteroides	Lieberman-Burchard	+++	Formación de una coloración verde azul
Azúcares reductores	Fehling	+++	Formación de una coloración rojiza
	Benedict	++	Formación de precipitado rojizo
Saponinas	Espuma	++	Formación de espuma
	Alfa naftol	+	Formación de un anillo violáceo
Rotenona	Nitrito de sodio	+++	Formación de una coloración roja
Aminoácidos	Ninhidrina	+++	Formación de una coloración azul violácea

LEYENDA:

+++ : Abundante/ intenso

++ : Regular/moderado

+ : Escaso/ leve

Tabla 4. Registro de signos de toxicidad en ratones. Ayacucho 2019.

Signos de toxicidad	Grupo control	Extracto hidroalcohólico		
	SSF	25 mg/kg	200 mg/kg	2000 mg/kg
Disminución actividad motora	0/6	0/6	0/6	6/6
Aumento de actividad motora	0/6	0/6	0/6	0/6
Perdida de reflejos de enderezamiento	0/6	0/6	0/6	4/6
Temblores	0/6	0/6	0/6	4/6
Fasciculaciones	0/6	0/6	0/6	4/6
Convulsiones	0/6	0/6	0/6	4/6
Ataxia	0/6	0/6	0/6	4/6
Taquipnea	0/6	0/6	0/6	4/6
Lacrimación	0/6	0/6	0/6	4/6
Cianosis	0/6	0/6	0/6	4/6
Erección de la cola	0/6	0/6	1/6	2/6
Piloerección	0/6	0/6	0/6	3/6
Diarrea	0/6	2/6	2/6	6/6
Crooming	2/6	2/6	2/6	3/6
Inapetencia	0/6	1/6	2/6	6/6
Agresividad	0/6	0/6	0/6	0/6
Temor	3/6	3/6	3/6	6/6
Muerte	0/6	0/6	0/6	4/6

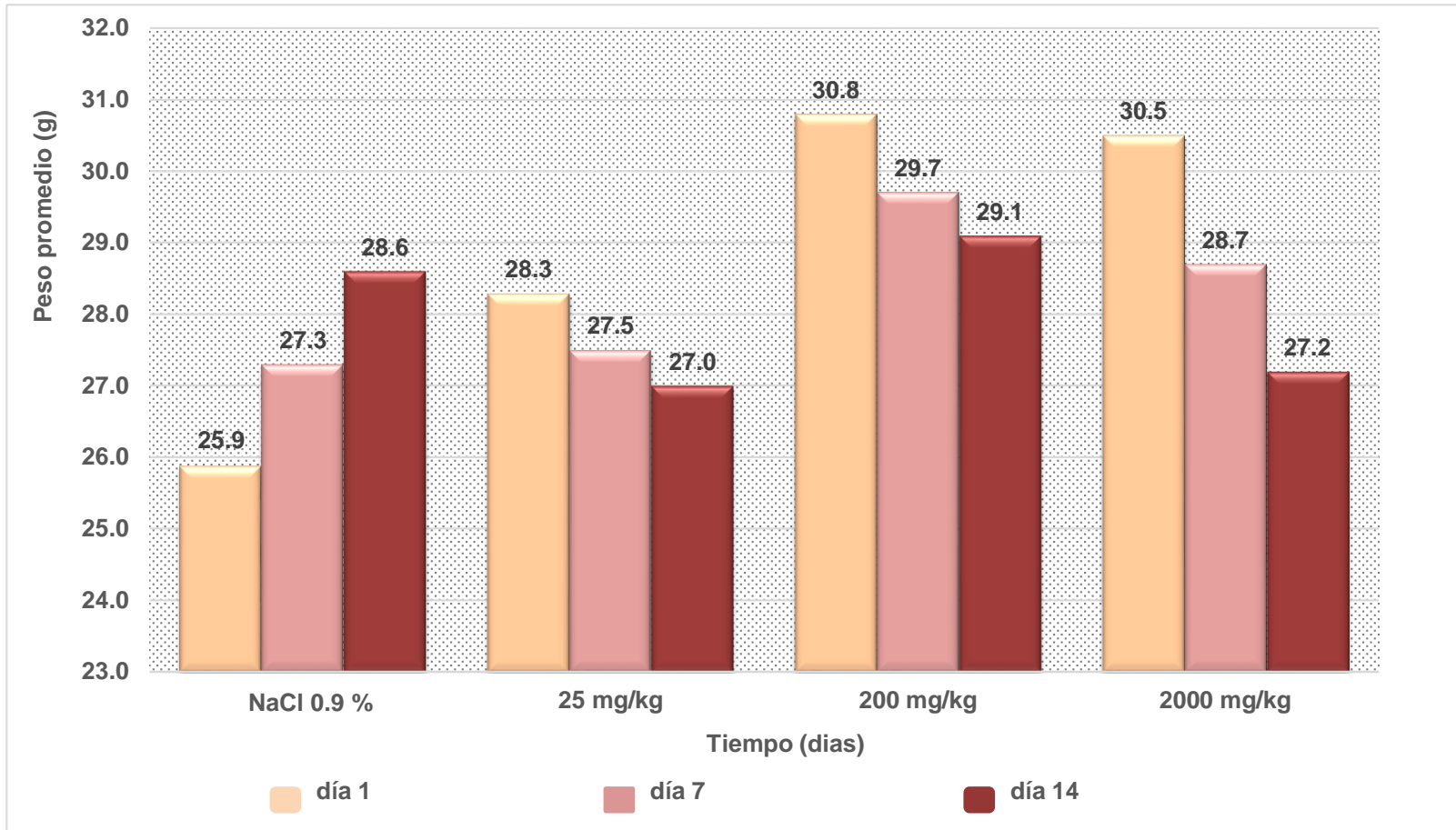
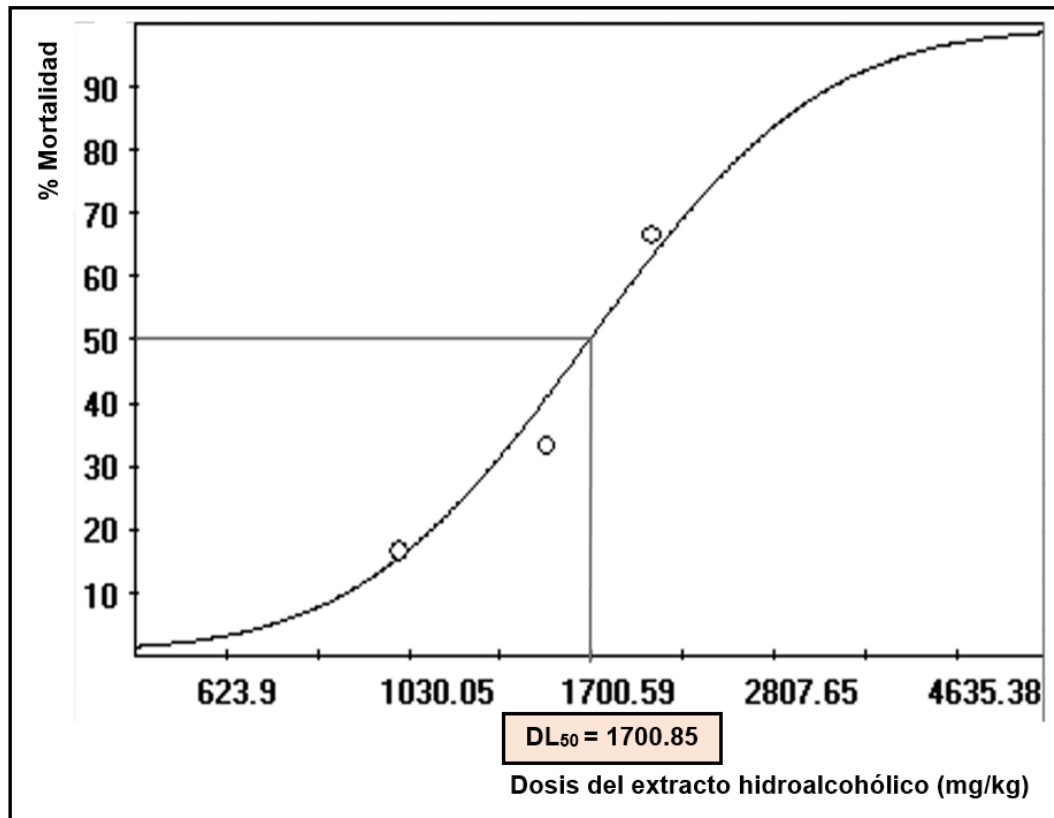


Figura 2. Peso promedio corporal de los ratones por efecto de la administración de las diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.



$$\text{Log(DOSIS)} = (\text{PROBIT} + 9.8958) / 4.6107$$

Figura 3. Dosis letal 50 (DL₅₀) del extracto hidroalcohólico de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tuvo la finalidad de determinar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. En nuestro país la mayoría de la población, urbana como rural, no tiene conocimiento de los posibles efectos tóxicos de las variedades de plantas, sin embargo la relación con estas es estrecha y permanente. Los niños son principalmente los más vulnerables sufrir consecuencias muy serias al ingerir partes de la planta principalmente el zumo; los adultos también pueden sufrir una intoxicación por no tener conocimiento sobre dicha planta.

Los problemas más frecuentes que aqueja la población con el uso de plantas silvestres son las escasas evidencias toxicológicas, clínicas y farmacológicas. Existen plantas con una elevada propiedad terapéutica el cual es utilizado como una alternativa farmacéutica para el tratamiento de diferentes enfermedades o patologías, es por eso que surge realizar investigaciones con el objetivo de identificar posibles efectos tóxicos posadministración⁴⁰.

Este estudio realizado permite interpretar los resultados, basándose en el objetivo de identificar los metabolitos secundarios y la toxicidad aguda de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.

Se desarrolló la investigación sobre toxicidad aguda con el método de clases tóxicas agudas, imprescindibles en la aproximación del potencial tóxico de una compuesto, referidos como estudios cualitativos y cuantitativos de los fenómenos tóxicos y de su aparición en función del tiempo tras la administración de una dosis única de la sustancia o de varias dosis fraccionadas en el transcurso de 24 horas⁷. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” fue obtenido a partir de 750 gramos de hojas secas, con un rendimiento de 12,04 %.

La marcha fitoquímica se desarrolló siguiendo la metodología propuesta por Miranda y Cuellar³⁵. En la tabla 3, se observa los resultados de la identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas

de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”, reportando la presencia de fenoles y/o taninos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, glicósidos cardiotónicos, glicósidos cianogenéticos, triterpenos, azúcares reductores, saponinas, rotenona y aminoácidos (Tabla 3).

Al efectuar la reacción de Lieberman-Burchard, inicialmente se observó, formación de una coloración verde azul (+++). El color es debido a que el grupo hidroxilo (-OH) del esteroide sufre una oxidación gradual al reaccionar con los ácidos fuertes, constituido por ácido sulfúrico y anhídrido acético. Lo que sugiere la presencia moderada de esteroides y terpenos, y concuerda con la literatura reportada donde confirma la presencia de limoneno (terpeno)⁶.

El ensayo de Shinoda presentó resultado positivo (+++), formando una coloración rojo ladrillo. El magnesio es oxidado por el ácido clorhídrico, liberando hidrógeno en forma de gas quedando cloruro de magnesio formando así la coloración, que indica la presencia de flavonoides en el cube de monte y concuerda con lo reportado por Espínola y Francis⁴¹.

El ensayo de espuma presentó resultado positivo (++) , donde se observa la formación de espuma en la superficie del extracto de más de 2 mm y persistente por más de 5 minutos. Según Brunenton⁴² desde el punto de vista químico, las saponinas al ser hidrolizadas rinden de 2 a 6 residuos de monosacáridos y una porción carbonada policíclica que es la aglicona del glicósido, a la cual se le denomina sapogenina (contiene esteroides y otros triterpenos). Las saponinas presentan diversas actividades biológicas y farmacológicas: como la actividad hemolítica, antifúngica, antibacteriana, y desinfectantes de las vías urinarias.

Al efectuar la reacción de Baljet, se observó la formación de precipitado rojo – marrón (+++) porque el núcleo esteroidal del ciclo lactónico reaccionó con el ácido pícrico, evidenciando que el extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl presenta abundantes cumarinas. Según Villegas⁴³, las cumarinas están relacionados con los efectos atribuidos como rodenticidas y repelentes de ectoparásitos.

Al efectuar la reacción de Grignard, se observó el cambio de coloración de amarillo a marrón y posterior negro (+++), evidenciando que el extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl, presenta abundantes compuestos del ácido cianhídrico. La presencia de ácido cianhídrico en el cube de monte, explica por qué esta planta presenta dificultad respiratoria, temblores musculares, convulsiones y muerte por asfixia⁴⁴. Según Ramírez⁴⁵, los

cianuros aún a dosis bajas son compuestos letales en tiempo mínimo de exposición. El sistema nervioso es su órgano blanco primario. Luego de ingestión, inhalación o contacto se presentan efectos neurotóxicos graves y mortales en humanos y animales. La exposición ocupacional produce alteraciones vértigo, vómito, náuseas; a corto tiempo, terminan en paro respiratorio y muerte.

Según Gómez⁴⁶, los individuos expuestos a la rotenona podrían tener un número menor de neuronas dopaminérgicas desde etapas tempranas de la vida, lo que los haría más vulnerables a otros factores nocivos, aumentando el riesgo de desarrollar en edades tempranas trastornos relacionados con disfunciones del sistema dopaminérgico como el TDAH, o alteraciones tardías como la enfermedad de Parkinson, sin descartar otros tipos de trastornos funcionales o psiquiátricos. Estos metabolitos secundarios identificados en el cube de monte también fueron reportados por:

Gracia *et al*⁶ Identificaron la presencia de flavonoides, lactonas terpénicas, taninos, antraquinonas, esteroides y/o triterpenoides libres. Confirmándose la presencia de dichos metabolitos secundarios en la especie *Phyllanthus acuminatus* Vahl. "cube de monte"

En el estudio de toxicidad aguda se desarrolló por el método de clases tóxicas agudas (anexo 7) establecido por el OECD (Organization for Economic Cooperation and Development)⁴⁷, donde la inoculación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl "cube de monte" confirmó la hipótesis nula, al manifestarse signos que indican la toxicidad en los grupos de ratones a las cuales se les administró la dosis de 25; 200 y 2000 mg/kg. En el grupo control se observó crooming en 2 ratones de 6 y se encontraron atemorizados 3 ratones de 6, en el grupo tratado con la dosis de 25 mg/kg se observó diarrea en 2 ratones de 6, crooming en 2 ratones de 6, inapetencia en un ratón de 6 y se encontraron atemorizados 3 ratones de 6, en el grupo tratado con la dosis de 200 mg/kg se observó erección de la cola en un ratón de 6, diarrea en 2 ratones de 6, crooming en 2 ratones de 6, inapetencia en 2 ratones de 6 y se encontraron atemorizados 3 ratones de 6, en grupo tratado con la dosis de 2000 mg/kg se observó disminución de la actividad motora en los 6 ratones, pérdida de reflejos de enderezamiento en 4 ratones de 6, temblores en 4 ratones de 6, fasciculaciones en 4 ratones de 6, ataxia en 4 ratones de 6, taquipnea en 4 ratones de 6, lacrimación en 4 ratones de 6, cianosis en 4 ratones de 6, erección de la cola en 2 ratones de 6, piloerección en 3 ratones de 6, diarrea en los 6 ratones,

crooming en 3 ratones de 6, inapetencia en los 6 ratones, se encontraron atemorizados los 6 ratones y muertes de 4 ratones de los cuales 3 machos y 1 hembra (Tabla 4), en los 14 días de observación no presentaron muertes ni otros signos de toxicidad a excepción de la diarrea, en los animales en estudio, estos signos de toxicidad se manifestó con una respuesta exaltada en el grupo tratado con la última dosis (2000 mg/kg), según Repetto⁴⁸, los animales no comunican sus síntomas, es por eso que el análisis y las observaciones son signos perceptibles por el observador; sin embargo, según Arencibia⁴⁹ los síntomas más comunes de toxicidad aguda para roedores, según el método clases toxicas agudas, son náuseas, salivación, distensión abdominal, pérdida de equilibrio, dificultades respiratorias, convulsiones, postración y anorexia. Asimismo, en dicha revista se visualizan imágenes de signos y síntomas de un estudio experimental de toxicidad aguda, tales como cianosis de patas, postración, hematuria, problemas en la marcha, ataxia, hemiplejia y piloerección⁴⁹. En el presente trabajo de investigación, los animales mostraron signos perceptibles correspondientes a efectos de toxicidad aguda ya mencionados.

Una vez culminada la administración de las diferentes dosis y a los diferentes grupos, no se observó ningún efecto toxico o anormalidad en el grupo control, a comparación del grupo tratado con las diferentes dosis del extracto, durante los 14 días de evaluación (Anexo 9 y 10), se manifestó una pérdida de peso en los ratones del grupo experimental. En la figura 2, se puede observar la ganancia de peso del grupo control, y la pérdida de peso en el grupo experimentado, según el análisis estadístico realizado en el programa SPSS, comparaciones múltiples post hoc T de Dunnett, las variaciones de peso se encuentran dentro de la zona de probabilidad de rechazo (0,05), lo que se afirma que existe diferencia estadísticamente significativa (Anexo 14).

La toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”, se debe a la presencia de metabolitos secundarios como los glicósidos cianogénéticos, triterpenos, cumarinas y rotenona.

Según Castro⁴⁴, las plantas que contengan presencia significativa de ácido cianhídrico, explica por qué esta planta presenta signos de toxicidad como dificultad respiratoria, temblores musculares, convulsiones y muerte por asfixia⁴⁴. De acuerdo con lo reportado en la literatura y a las pruebas realizadas en este estudio se puede confirmar la presencia dichos signos de toxicidad ya mencionados por el autor Castro⁴⁴.

Según Ramírez⁴⁷, los cianuros aún a dosis bajas son compuestos letales en tiempo mínimo de exposición. Esta afirmación también estaría confirmando por que la muerte y la presencia de signos de toxicidad se dieron en un lapso de 40 min a 1 hora después de la administración del extracto hidroalcohólico de hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.

Según Villegas⁴⁶, las cumarinas están relacionados con los efectos atribuidos como rodenticidas y repelentes de ectoparásitos. De acuerdo con lo reportado en la literatura y a las pruebas realizadas en este estudio se puede confirmar que las cumarinas presentes en dicha plata también sería uno de los metabolitos secundarios para que cause dicha toxicidad aguda.

Según Kilbourn⁵⁰, la rotenona es un inhibidor de una de las enzimas del Complejo I de la cadena de transporte de electrones. En presencia de éste insecticida, los electrones procedentes del NADH no pueden entrar en la cadena de transporte de electrones, teniendo como consecuencia la imposibilidad de obtener ATP a partir de la oxidación del NADH. La enzima inhibida por la rotenona es la NADH deshidrogenasa. La rotenona afecta a la respiración celular y también la coordinación muscular.

Según Silva⁵¹, los síntomas que presentan los insectos intoxicados con rotenona son: disminución del consumo de oxígeno, depresión en la respiración y ataxia que provocan convulsiones y conducen finalmente a la parálisis y muerte del insecto por paro respiratorio.

El método de las clases toxicas agudas utilizado para realizar el estudio de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico, en donde se trabajó con las dosis de 25, 200 y 2000 mg/kg de p.c. nos da un valor de DL₅₀ de 1500-2000 mg/kg. Con las dosis trabajadas no se pudo calcular la DL₅₀ exacto, porque las muertes solo se dieron con la máxima dosis. Según el método PROBIT se requiere mínimo 3 dosis que produzcan muertes para el cual se administró 3 dosis extras (500, 1000 y 1500 mg/kg) produciéndose 1 muerte de 6 ratones a 1000 mg/kg y 2 muertes de 6 ratones a 1500 mg/kg para el cálculo de la Dosis Letal Media (DL₅₀=1700,85 mg/kg peso), se trabajó con las 3 dosis que provocaron muerte en los ratones *Mus musculus* (Anexo 8), clasificándose en la categoría 4 según el Sistema Globalmente Armonizado (SGA), calificándose como “Nocivo” (tabla 1). Por lo que se considera tóxica por vía oral.

Los ratones fueron acogidos bajo ciclos de luz y oscuridad controlados, con libre acceso al agua y alimento con temperatura ambiental entre 18 - 22 °C y 50 y 60

% de humedad, lo cual se puede deducir que estos ratones utilizados en el estudio se encontraron libre de estrés. También se pudo descartar factores externos que puedan alterar o interferir con los resultados observados.

Los datos obtenidos muestran presencia de toxicidad de la planta *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” basándose a los datos de peso y efectos tóxicos observados. Dichos resultados nos ponen en conocimiento que la planta *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte a altas dosis presenta toxicidad aguda en ratones según las condiciones experimentales del estudio.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”, presenta toxicidad aguda en ratones *Mus musculus*, según el modelo de clases tóxicas agudas.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico son: fenoles y/o taninos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, glicósidos cardiotónicos, glicósidos cianogenéticos, triterpenos, azúcares reductores, saponinas, rotenona y aminoácidos.
3. Los principales signos de toxicidad observados en los animales de experimentación son: actividad motora disminuida, temblores en el cuerpo, fasciculaciones, convulsiones, ataxia, taquipnea, lacrimación, cianosis, erección de la cola, piloerección, diarrea, crooming, inapetencia y temor.
4. La dosis letal 50 (DL₅₀) del extracto hidroalcohólico es de 1700,85 mg/kg de peso corporal, clasificándose como nocivo.

VII. RECOMENDACIONES

1. Desarrollar estudios histopatológicos en órganos diana tratados con hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.
2. Realizar estudios de cuantificación de rotenona presentes en las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” y realizar la comparación con la especie *Lonchocarpus nicou* ya que esta última especie es exportada por el alto contenido de rotenona en las zonas de VRAEM.
3. Realizar un estudio de toxicidad crónica a fin de determinar la seguridad de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” administrado durante largos periodos ya que en otros países lo consumen en infusión para tratar el cáncer de mama.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Flores J. Plantas de flora yucatanense que provocan alguna toxicidad en el humano. Biomed. 2001
2. Nájera M. Aportes al conocimiento de las plantas toxicas. Paraguay. 1993.
3. Carballo M, Cortada C, Galano A. Riesgos y beneficios en el consumo de plantas medicinales. Revista teoría, historia y fundamentos de la Ciencia. 2005
4. Vizoso A, Ramos A, Villaescusa A, Décalo M, Betancourt J. Evaluación del efecto genotóxico en extractos fluidos de *Plantago lanceolata* "llantén menor" y *Matricaria recutita* "manzanilla". Rev Cubana Plant Med. 2000; 5(2): 59-63.
5. Cala M, Vásquez C, Martínez M, Stashenko E. Caracterización de compuestos fenólicos por electroforesis capilar de la especie *Phyllanthus acuminatus* (Euphorbiaceae) y estudio de su actividad antioxidante. Universidad Industrial de Santander, Colombia.2007.
6. Gracia G, Sánchez Y, Gómez E. Actividad antimicrobiana de *Phyllanthus acuminatus* Vahl., Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 2005.
7. UNITAR. Comprendiendo el Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA). Suiza. 2010
8. Rivadeneira A, Cortés R, Marrero O, Pérez J, Olazábal E. Toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de la planta *Chuquiraga jussieui*, administrado vía oral en ratas. Rev. La Técnica. 2013.
9. Simbad O., Adetutu A., Olusoji A., Ayodeji F. y Adegbola P. Evaluación de toxicidad aguda y subaguda de *Euphorbia lateriflora* (Schum y Thonn) en ratas *Wistar Albino*. Revista Europea de Plantas Medicinales. 2019.
10. Mazo o. "Efecto tóxico y residual del barbasco (*Lonchocarpus utilis*) en la mosca doméstica (*Musca domestica*)" universidad técnica de Ambato. Cevallos–Tungurahua-Ecuador. 2018
11. Olubunmi E, Ibrahim O, Akinwunmi A y Viola N. Toxicidad aguda acuosa del extracto de la hoja de *Euphorbia heterophylla* L. En ratas Sprague Dawley., Universidad de Mostaganem, Argelia. 2016
12. Pereida S., Vega D., Almeida M. y Morales G. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos, etéreos y acuosos de las hojas de la *Trichilia hirta* L. Universidad de Grana Bayanos, Cuba 2009.
13. Quispe N. Efecto antiespasmódico y toxicidad aguda del extracto acuoso de las hojas del *Solanum americanum* Muller (Ñushco). Universidad Nacional

- Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado. Lima, Perú 2017.
14. Pérez R, Quispe M. Evaluación de la toxicidad aguda, genotoxicidad y efecto teratogénico del extracto acuoso liofilizado de las semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (Tarwi, Chocho), en ratas.[Tesis] Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Cusco. 2016
 15. Silvero A, Morinigo S, Meza A, Mongelós M, Gonzales A, Figueredo S. Toxicidad aguda de las hojas de *Xanthium spinosum* en ratones BALB/C. Perú. Lima. 2016.
 16. Orellana L, Montañez M, Morón I, Orellana A, Casildo L, Aguilar E, Barrutia J, Granda B, Sánchez W, Villanueva A. Toxicidad Aguda de *Aleurites moluccana* por vía oral en ratas Sprague-Dawley. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú-Lima. 2014.
 17. Rojas J, Díaz D. Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2009.
 18. Tineo C. Toxicidad aguda y genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de los pseudobulbos de *Odontoglossum bicolor* Lindl “sacato” en *Mus musculus* “ratón”. Ayacucho 2018. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Perú .2019.
 19. Aquino E. Toxicidad aguda y genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de *Chuquiraga spinosa* (R. & P.) D. Don. “humanpinta”. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; Perú. 2017.
 20. Rivadeneira A. Toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de la planta *Chuquiraga jussieui*, administrado vía oral en ratas. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Perú .2013.
 21. Ávila G. Evaluación de la toxicidad aguda a dosis fijas del extracto de *Werneria dactylophylla* (pupusa). Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Perú .2011.
 22. CONABIO Malezas de México. *Petiveria alliaceae*. México. 2009.
 23. Brunton LL., Lazo J S., Parker K L. “Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica”. Undécima Edición. Edit. McGraw Hill. Interamericana. 2006.
 24. Bello J., Lopez A. Fundamentos de ciencia Toxicológica. Ediciones Días de Santo. Madrid – España. 2001.

25. Mendoza N. Farmacología médica. México D. F.: Médica Panamericana. 2008. pp. 102, 139-144.
26. Álvarez M. Barreras para la aceptación de métodos alternativos en toxicología. CECMED. Cuba. 1996.
27. Josephy P. Toxicología Molecular, 2ª ed. Editorial Oxford, Estados Unidos. 2006.
28. Palacios M. Texto de farmacognosia y fitoquímica. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Lima. 2013. Pp. 7- 48.
29. Wallace A. Principios y métodos de toxicología. 4ª ed. Editorial Taylor y Francis. Estados Unidos. 2001.
30. DeWilde AR. Un caso de envenenamiento fatal por rotenona en un niño. Argentina. 1492.
31. Carballo M. Control biológico de plagas agrícolas. Editores Técnicos CATIE. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanzas. Managua 2004.
32. Castro R. y Zavaleta M. Programa en "BASIC" para el cálculo de DL₅₀ por el método de Probits. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Perú-Lima. 1998
33. Hernández R, Fernández C. Baptista P. Metodología de la investigación. 4a Ed. Editorial McGraw Gill Interamericana. México 2008.
34. Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos. "Toxicidad oral aguda: métodos de clase tóxica aguda", Directrices de la OCDE para las pruebas de sustancias químicas y efectos en la salud, Serie sobre pruebas y evaluación, No. 423, OECD. París.
35. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio: farmacognosia y productos naturales. Ciudad de la Habana: Editorial Félix Varela. 2000.
36. Enríquez F, Prieto V, De los Ríos M, Ruiz R. Estudio farmacognóstico y fitoquímico del rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe "Jenjibre" de la ciudad de Chanchamayo-Región Junín. Perú. Revista Médica Vallejana. 2008.
37. Fernández O, Pérez M. Acerca de la existencia de la rotenona en el *Verbascum thapsus*, Madrid. 1990.
38. Bello J, López A. Fundamentos de ciencia toxicológica. 1ª Edición. Edit. Díaz de Santos S.A. Madrid. 2001.
39. Giráldez A. Curso de Técnicas Farmacológicas. Posgrado de Farmacología. Departamento de Farmacia. Universidad Nacional de Colombia. 1993.

40. Akhbari M., Kord R., Nodooshan S. y Hamedí S. Análisis y evaluación de las actividades antimicrobianas y anticancerígenas del aceite esencial aislado de *Foeniculum vulgare* de Hamedan. Irán. 2018.
41. Espínola Q. y Francis A. Efecto de la infusión de las hojas de *Foeniculum vulgare* "hinojo" *Ocimum basilicum* "albahaca" sobre íleon aislado de *Cavia porcellus*. Bachiller en Farmacia. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2016.
42. Bruneton J. Farmacognosia, fitoquímica de plantas medicinales. Segunda edición. Madrid. España. Editorial Acirbia S.A. 2017
43. Villegas R., Araya F. y Castro C. "Identificación de cumarinas en hojas y raíz de *Gliricidia sepium* con potencial para repeler pulgas en perros y matar roedores" Universidad de Iberoamérica.
44. Castro A, Rodríguez G. Reacción de Grignard para detectar compuestos del ácido cianhídrico en sorgo. Argentina. 2012
45. Ramírez V. "Toxicidad del cianuro. Investigación bibliográfica de sus efectos en animales y en el hombre" Dirección Salud Ocupacional. Clínica Los Fresnos. Cajamarca, Perú. 2010
46. Gómez C., Díaz P., Morales E., Fernández R., Roldán R, Torner C. Efecto de la exposición al pesticida rotenona sobre el desarrollo del sistema dopaminérgico nigro-estriatal en ratas" Universidad Nacional Autónoma de México, México. 2013
47. Cursi O. Toxicología S.R.L. editor Lopez. Buenos Aires, Argentina. 1994.
48. Repetto M, Repetto G. Toxicología fundamental. 4^{ta} ed. Madrid. 2009.
49. Arencibia D. Toxicología experimental, toxicidad aguda. Rev. Retel. Editorial: Rosario. Argentina. 2009
50. Kilbourn M., Charalambous A., Frey K. y Sherman P. Las inyecciones intraestriatales de neurotóxina reducen la unión in vitro e in vivo de rotenoides radio marcados al complejo mitocondrial. USA. 1997
51. Silva G., Lagunes J. y Rodríguez R. Insecticidas vegetales. 2002.

ANEXOS

**Anexo 1. Certificado de identificación botánica de *Phyllanthus acuminatus* Vahl.
Ayacucho 2019.**

C O N S T A N C I A

**LA BIOLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN
TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:**


Que, la Bachiller en Farmacia y Bioquímica, Srta. Sinthia, SIVIPAUCAR GONZALES, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía el siguiente:

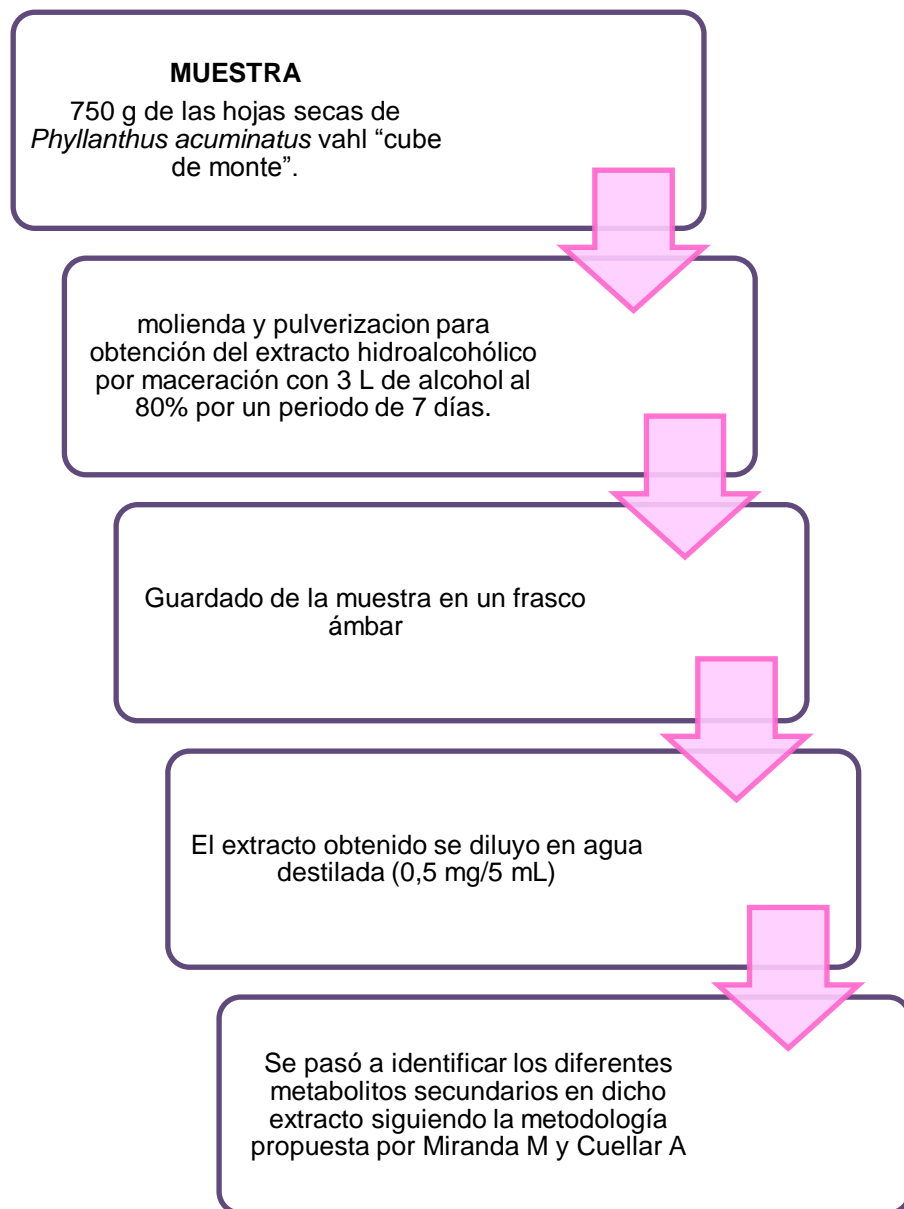
DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	EUPHORBIALES
FAMILIA	:	EUPHORBIACEAE
GÉNERO	:	Phyllanthus
ESPECIE	:	<i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl.
N. V..	:	"cube de monte."

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

Ayacucho, 17 de Julio del 2019


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 2. Procedimiento para la obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” y tamizaje fitoquímico. Ayacucho 2019.



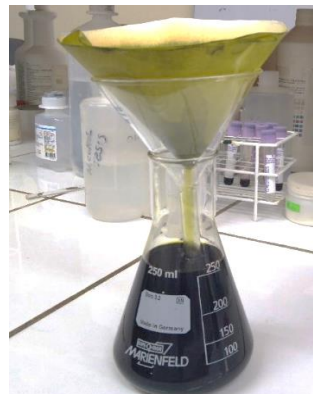
Anexo 3. Hojas recolectadas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.
Ayacucho 2019.



Anexo 4. Procedimiento de la obtención extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” Ayacucho 2019.



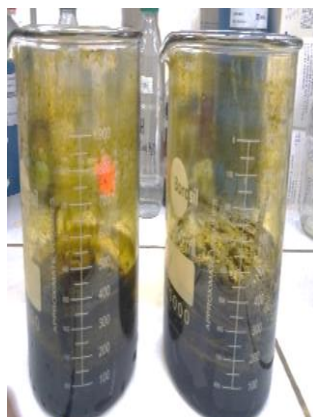
1 Pesado de la muestra



2 Filtración del extracto



3 Concentrar el extracto hidroalcohólico en baño maría a 37 °C.



4 Extracto concentrado






5 Secar y concentrar el extracto hidroalcohólico en la estufa a una temperatura de 37 °C.



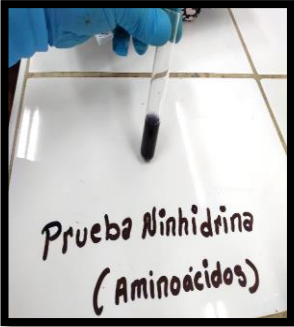
6 Extracto hidroalcohólico concentrado de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl. “cube de monte”

Anexo 5. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” Ayacucho 2019.


1 A partir del extracto hidroalcohólico obtenido se realizó las pruebas pertinentes para la identificación cualitativa de los principales grupos de metabolitos secundarios.




Rx. Alfa naftol



Prueba Ninhidrina
(Aminoácidos)

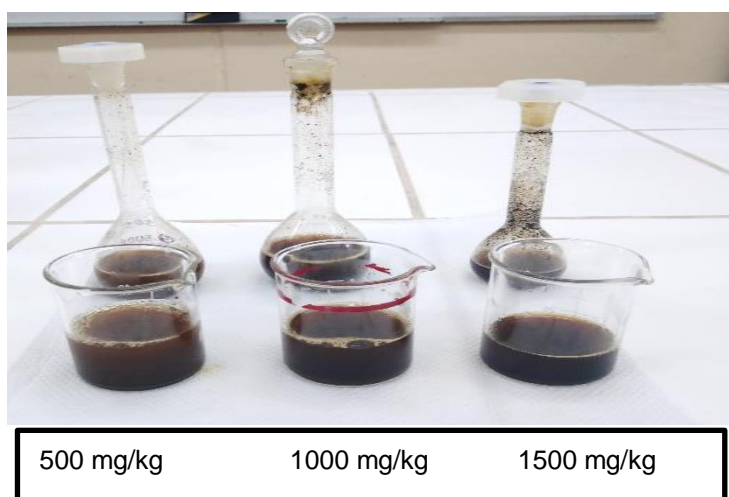
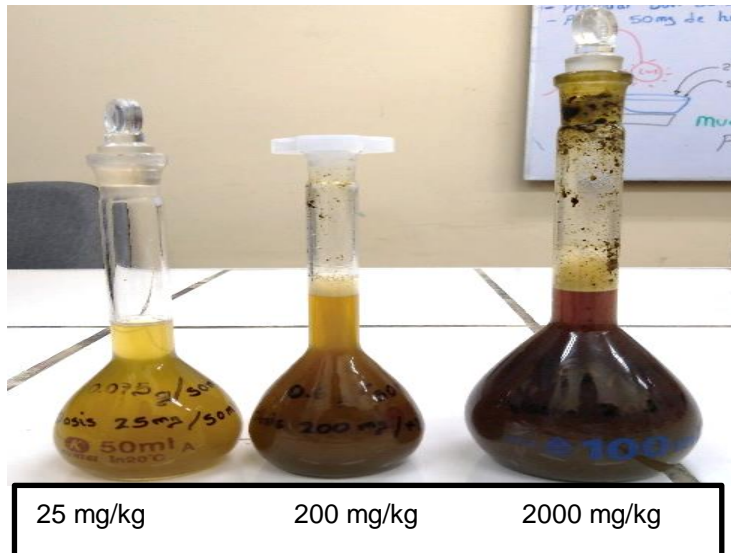


Rotenona

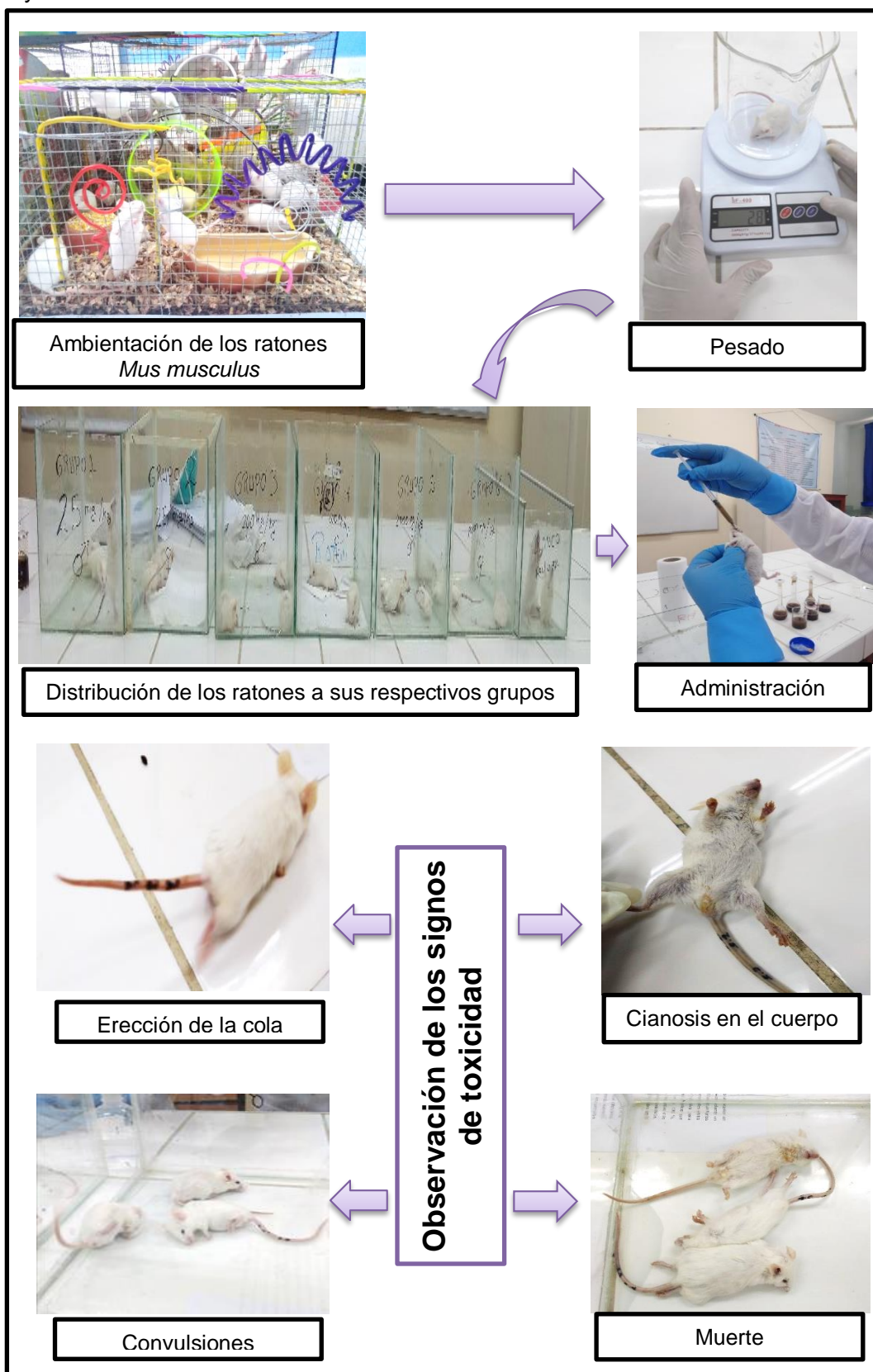


Glicósidos
Cianogenéticos

Anexo 6. Preparación de las concentraciones a ensayar del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte” en el laboratorio de toxicología. Ayacucho 2019.



Anexo 7. Ensayo de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. En el laboratorio de toxicología. Ayacucho 2019.



Anexo 8. Datos experimentales y teóricos utilizados para el cálculo de la Dosis Letal Media del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”.

Dosis administradas	N° de Ratones	Muertes
500 mg/kg	6	0
1000 mg/kg	6	1
1500 mg/kg	6	2
2000 mg/kg	6	4

Transformación de porcentajes a unidades probit.										
%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

Anexo 9. Peso de los ratones usados como control en la evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.

DOSIS	ANIMAL	Peso (g)				
		día 1	día 7	Δ peso	día 14	Δ peso
NaCl 0.9 %	ratón 1	26,2	27,6	1,4	28,8	1,2
	ratón 2	25,2	26,5	1,3	27,7	1,2
	ratón 3	26,3	27,9	1,6	29	1,1
	ratón 4	26,2	27,5	1,3	28,9	1,4
	ratón 5	25,2	26,7	1,5	28	1,3
	ratón 6	26,3	27,6	1,3	29	1,4

Anexo 10. Peso de los animales administrados con extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”, por vía oral en la evaluación de la toxicidad aguda. Ayacucho 2019.

DOSIS	ANIMAL	Peso (g)				
		día 1	día 7	Δ peso día 7	día 14	Δ peso día 14
25 mg/kg	ratón 7	28	27,5	-0,5	27	-0,5
	ratón 8	28,6	27,6	-1	27,2	-0,4
	ratón 9	29	28,2	-0,8	27,5	-0,7
	ratón 10	27,6	26,7	-0,9	26,2	-0,5
	ratón 11	28,3	27,5	-0,8	27	-0,5
	ratón 12	28,5	27,6	-0,9	27	-0,6
200 mg/kg	ratón 13	32,9	31,2	-1,7	30,7	-0,5
	ratón 14	32,2	31	-1,2	29,9	-1,1
	ratón 15	29,6	28,5	-1,1	27,9	-0,6
	ratón 16	28,3	27,6	-0,7	26,8	-0,8
	ratón 17	30,3	29,7	-0,6	29,2	-0,5
	ratón 18	31,4	30,3	-1,1	29,8	-0,5
2000 mg/kg	ratón 19	30,2	M		M	
	ratón 20	30,6	M		M	
	ratón 21	30,8	M		M	
	ratón 22	30,2	M		M	
	ratón 23	31,5	29,6	-1,9	28,3	-1,3
	ratón 24	29,6	27,7	-1,9	26	-1,7

Anexo 11. Prueba de normalidad del peso corporal de ratones al evaluar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.

Pruebas de normalidad							
	DOSIS	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
día 1	NaCl 0.9%	,376	6	,008	,698	6	,056
	25 mg/kg	,139	6	,200*	,989	6	,986
	200 mg/kg	,141	6	,200*	,976	6	,933
	2000 mg/kg	,260	2	.			
día 7	NaCl 0.9%	,306	6	,083	,854	6	,170
	25 mg/kg	,319	6	,055	,873	6	,239
	200 mg/kg	,162	6	,200*	,928	6	,568
	2000 mg/kg	,260	2	.			
día 14	NaCl 0.9%	,326	6	,045	,785	6	,053
	25 mg/kg	,349	6	,022	,857	6	,179
	200 mg/kg	,208	6	,200*	,936	6	,626
	2000 mg/kg	,260	2	.			

Anexo 12. Descripción estadística de la diferencia de pesos corporales (g), del grupo experimental del día 7 y día 14 de la evaluación de toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.

Descriptivos									
		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95 % del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Diferencia de pesos día 7	NaCl 0,9%	6	1.4000	.12649	.05164	1.2673	1.5327	1.30	1.60
	25 mg/kg	6	-.8167	.17224	.07032	-.9974	-.6359	-1.00	-.50
	200 mg/kg	6	-1.0667	.39328	.16055	-1.4794	-.6539	-1.70	-.60
	2000 mg/kg	2	-1.9000	.00000	.00000	-1.9000	-1.9000	-1.90	-1.90
	Total	20	-.3350	1.22615	.27418	-.9089	.2389	-1.90	1.60
Diferencia de pesos día 14	NaCl 0,9%	6	1.2667	.12111	.04944	1.1396	1.3938	1.10	1.40
	25 mg/kg	6	-.5333	.10328	.04216	-.6417	-.4249	-.70	-.40
	200 mg/kg	6	-.6667	.24221	.09888	-.9209	-.4125	-1.10	-.50
	2000 mg/kg	2	-1.5000	.28284	.20000	-4.0412	1.0412	-1.70	-1.30
	Total	20	-.1300	.99107	.22161	-.5938	.3338	-1.70	1.40

Anexo 13. Análisis de varianza de la diferencia de pesos corporales (g), del grupo experimental del día 7 y día 14 de la evaluación de toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Diferencia de pesos día 7	Entre grupos	27.564	3	9.188	146.763	.000
	Dentro de grupos	1.002	16	.063		
	Total	28.566	19			
Diferencia de pesos día 14	Entre grupos	18.162	3	6.054	193.728	.000
	Dentro de grupos	.500	16	.031		
	Total	18.662	19			

Anexo 14. Análisis de comparaciones múltiples de la diferencia de pesos corporales (g), del grupo experimental del día 7 y día 14 de la evaluación de toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus acuminatus* Vahl “cube de monte”. Ayacucho 2019.

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Diferencia de pesos día 7 y día 14						
T de Dunnett (>control) ^a						
	(I) Dosis	(J) Dosis	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza
						Límite inferior
Diferencia de pesos día 7	25 mg/kg	NaCl 0.9%	-2.21667	.14446	1.000	-2.5418
	200 mg/kg	NaCl 0.9%	-2.46667	.14446	1.000	-2.7918
	2000 mg/kg	NaCl 0.9%	-3.30000	.20429	1.000	-3.7598
Diferencia de pesos día 14	25 mg/kg	NaCl 0.9%	-1.80000	.10206	1.000	-2.0297
	200 mg/kg	NaCl 0.9%	-1.93333	.10206	1.000	-2.1631
	2000 mg/kg	NaCl 0.9%	-2.76667	.14434	1.000	-3.0915

Anexo 15. Matriz de consistencia. Ayacucho 2019.

Título	Problema	Marco teórico	Hipótesis	Objetivos	Variables	Metodología
<p>Toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte” en <i>Mus musculus</i> “ratón”, Ayacucho-2019.</p>	<p>¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte” presentará toxicidad aguda en la especie <i>Mus musculus</i>?</p>	<p>Antecedentes del estudio <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”.</p> <p>Toxicidad aguda. Toxicidad crónica. Toxicología experimental. Dosis Letal Media (DL50) Efectos Adversos Efectos Tóxicos Tamizaje Fitoquímico: Metabolitos secundarios Extracto</p>	<p>Hi: El extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte” presenta toxicidad aguda. Ho: El extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte” no presenta toxicidad aguda.</p>	<p>Objetivos Generales Evaluar la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”</p> <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Identificar los metabolitos secundarios presente en el extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”. • Evaluar los signos toxicológicos en ratones <i>Mus musculus</i>, a causa de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte” • Determinar la dosis letal 50 DL₅₀ del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”. 	<p>Variable independiente Extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”</p> <p>Indicadores Dosis de 2000 mg/kg peso corporal (p.c.), 200 mg/kg peso corporal (pc) y 25 mg/kg peso corporal (p.c.).</p> <p>Variable dependiente Toxicidad aguda.</p> <p>Indicadores Signos clínicos de toxicidad, pérdida de peso y muerte.</p>	<p>Tipo de investigación Básico - Experimental</p> <p>Población: Hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte”.</p> <p>Muestra: 750 g de hojas de <i>Phyllanthus acuminatus</i> Vahl “cube de monte” pulverizado.</p> <p>Tipo de muestreo: Por conveniencia</p> <p>Unidad experimental: <i>Mus Musculus</i> “ratón”</p> <p>Determinación de la toxicidad aguda. Se usara el método de la clase tóxica aguda descrito en la normativa N° 423 de la OECD.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Observaciones generales • Peso corporal. <p>Análisis de datos Los datos serán analizados utilizando el software SPSS versión 22, y expresados en forma de medias y desviación estándar.</p>