



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**TOXICIDAD AGUDA BASADA EN LA DOSIS LETAL
MEDIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS
INFLORESCENCIAS DE *Iaccopetalum giganteum Ulbrich*
(*pacra-pacra*) EN RATAS DE LA ESPECIE *rattus rattus*.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUIMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES:

Bach. HERNANDEZ GUEVARA, ANGELICA MARIA

Bach. LACHE CARHUATANTA, LILIANA

ASESOR:

Mg. QF LA SERNA LA ROSA, PABLO

LIMA-PERÚ

2021

DEDICATORIA

A Dios por haberme guiado por el camino hasta ahora; por la oportunidad y la dicha de la vida, al brindarme los medios necesarios para culminar mi formación profesional, siendo un gran apoyo incondicional para alcanzar mis objetivos logrados hasta el día de hoy.

A mi madre flor Guevara, por siempre estar ahí para mí, por apoyarme en todo momento y enseñarme tantas cosas entre ellas a luchar y no caer en el intento.

A mis hermanos Anthony y Jeremyck, a mis abuelos Mera y Julio y cada uno de los que son parte de mi familia por siempre haberme dado su fuerza y apoyo incondicional que me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora.

Angelica M. Hernández Guevara

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos.

A mi madre por el apoyo en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada por su amor.

Mis hermanos Yamir y Maritza por estar conmigo y apoyarme siempre, los quiero mucho y gracias por todo.

Liliana Lache Carhuatanta

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Privada María Auxiliadora, que brindó las facilidades para concluir los estudios superiores, por su buena plana docente y por hacer de nosotros buenos profesionales, llenos de valores, virtudes con capacidad intelectual que permitirán ejercer la profesión en su totalidad.

Al Mg. QF. Pablo La Serna La Rosa como asesor de esta tesis, nos ha guiado, orientado, apoyado y corregido el trabajo que estamos realizando y por la paciencia para que todo lo realicemos bien.

A los Mg. Víctor Chero P. y Dr. Qf. Edwin Rodríguez L. como nuestro revisores de esta tesis, quienes nos han apoyado y corregido.

RESUMEN

- **Objetivo:** Determinar la dosis letal media del extracto etanólico de las Inflorescencias de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) causante de efecto toxico agudo en ratas de la especie *Rattus rattus*. **Metodología:** la especie vegetal fue recolectada en el distrito de distrito de Conchucos, provincia de Pallasca, departamento de Ancash a 4500 m.s.n.m. Posteriormente se realizó el proceso de la maceración de las inflorescencias del *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) para así obtener finalmente el extracto etanólico, a partir de ello se preparó las dosis de 300mg/kg, 5000mg/kg y 15000mg/Kg del extracto de pacra- pacra. Se realizó un estudio tipo experimental, con cuatro grupos en total de 20 ratas de la especie *Rattus rattus*. Se aplicó el método OECD, el análisis de toxicidad se realizó mediante instrumentos de recolección de datos y finalmente se utilizó el programa estadístico SPSS versión 21. **Resultados:** Se determinó toxicidad aguda por administración vía oral del extracto etanólico del *laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra), en dosis de 300 mg/kg en *Rattus rattus* es moderadamente toxico; en dosis de 5000mg/kg y 15000mg/kg es relativamente inocuo. **Conclusión:** En el análisis fitoquímico del extracto etanólico del *laccopetalum giganteum* Ulbrich., identifico abundante cantidad de alcaloides, glicósidos y carbohidratos; Regular cantidad: compuestos fenólicos, taninos y flavonoides; Poca cantidad: saponinas y quinonas. El extracto etanólico del *laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) no tiene efecto nocivo en los animales de experimentación.

Palabras clave: análisis fitoquímico, extracto etanólico, maceración, toxicidad.

ABSTRACT

• **Objective:** To determine the mean lethal dose of the ethanolic extract of the inflorescences of *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) causing an acute toxic effect in rats of the species *Rattus rattus*. **Methodology:** the plant species was collected in the district of Conchucos, province of Pallasca, department of Ancash at 4500 m.s.n.m. Subsequently, the maceration process of the inflorescences of the *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) was carried out in order to finally obtain the ethanolic extract, from which the doses of 300mg / kg, 5000mg / kg and 15000mg / Kg of the extract were prepared of pacra-pacra. An experimental type study was carried out, with four groups in total of 20 rats of the species *Rattus rattus*. The OECD method was applied, the toxicity analysis was carried out using data collection instruments and finally the statistical program SPSS version 21 was used. **Results:** Acute toxicity was determined by oral administration of the ethanolic extract of the *laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra), in doses of 300 mg / kg in *Rattus rattus* it is moderately toxic; in doses of 5000mg / kg and 15000mg / kg it is relatively safe. **Conclusion:** In the phytochemical analysis of the ethanolic extract of the *laccopetalum giganteum* Ulbrich. I identify abundant quantity of alkaloids, glycosides and carbohydrates; Regular amount: phenolic compounds, tannins and flavonoids; Low quantity: saponins and quinones. The ethanolic extract of the *laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) has no harmful effect on experimental animals.

Key words: phytochemical analysis, ethanolic extract, maceration, toxicity.

INDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT.....	v
INDICE.....	vi
LISTA DE FIGURAS Y TABLAS	8
INTRODUCCIÓN	10
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	11
1.1. Planteamiento del problema.....	11
1.2. Formulación del problema.....	12
1.3. Objetivos.....	12
1.4. Justificación.....	13
2. MARCO TEÓRICO	14
2.1. Antecedentes	14
2.1.1. Antecedentes Internacionales.....	14
2.1.2. Antecedentes Nacionales	16
2.2. Base teórica	19
2.3. Definición de términos básicos.....	27
2.4. Hipótesis	28
3. METODOLOGÍA	29
3.1. Tipo de investigación.....	29
3.2. Nivel de investigación.....	29
3.3. Diseño de investigación.....	29
3.4. Área de estudio	29
3.5. Población y muestra	29
3.6. Variables y operacionalización de variable.....	30
3.7. Instrumentos de recolección de datos Encuesta.....	31
3.8. Validación de los instrumentos de recolección de datos	31
3.9. Procedimientos de recolección de datos	31
3.10. Componente ético de la investigación	39

3.11. Procesamiento y análisis de datos	39
4. RESULTADOS	40
5. DISCUSIÓN	47
6. CONCLUSIONES	48
7. RECOMENDACIONES	49
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
9. ANEXOS.....	54
9.1. Matriz de consistencia.....	54
9.2. Instrumentos de recolección de datos	55

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS

- Figura 1. Rango de prevalencia por grupo
- Figura 2. Rango de reacciones en dosis 300 mg/kg del extracto etanólico de *laccopetalum giganteum* Ulbrich.
- Figura 3. Rango de reacciones en dosis 5000 mg/kg del extracto etanólico de *laccopetalum giganteum* Ulbrich.
- Figura 4. Rango de reacciones en dosis 15000 mg/kg del extracto etanólico de *laccopetalum giganteum* Ulbrich.
- Figura 5. Recolección de muestra vegetal *laccopentaleum giganteum* (pacra-pacra) en su habitat.
- Figura 6. Preparacion del extracto etanolico *laccopentaleum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra).
- Figura 7. Prueba de solubilidad del extracto etanolico del *laccopentaleum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra).
- Figura 8. Analisis fitoquimico del extracto etanolico del *laccopentaleum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra).
- Figura 9. Administracion oral por grupos del extracto etanolico del *laccopentaleum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) en *Rattus rattus*.

TABLAS

Tabla 1. Solvente utilizados para la solubilidad.

Tabla 2. Clasificación del grado de toxicidad.

Tabla 3. Diseño experimental de toxicidad en *Rattus rattus*.

Tabla 4. Rango de la humedad

Tabla 5. Rango de la solubilidad.

Tabla 6. Rango de la marcha fitoquímica.

Tabla 7. Rango de dosificación.

Tabla 8. Rango de prevalencia.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años el uso de medicina naturista o tradicional complementaria ha experimentado un crecimiento a nivel mundial, ganando popularidad entre las personas; no obstante, son muy pocos los estudios realizados sobre las diversas especies de plantas o productos derivados de ellas con aplicación a la medicina, y menos aún estudios respecto de su calidad y eficacia en el tratamiento de enfermedades. ⁽¹⁾

El Perú cuenta con una gran variedad y riqueza natural, con plantas medicinales de origen nativo que son ampliamente utilizadas en grandes sectores de la población y específicamente en las zonas rurales, se viene utilizando como tradición heredable a través de generaciones a las plantas medicinales; debido a que sus hojas, flores, semillas, cortezas, raíces, frutos poseen propiedad terapéuticas sustentadas empíricamente y que son aprovechadas por los pobladores haciendo uso en forma de infusiones, baños, emplastos y otros. ⁽²⁾

En la zona Altoandino (distrito de Conchucos, provincia de Pallasca, departamento de Ancash), la inflorescencia de *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra) son consumidas (te afrodisiaco) y usadas (emplastos para la artritis) por los pobladores y falsos chamanes la cual constituye una valiosa terapéutica y a su vez produciendo ampollas y quemaduras al tener contacto con la piel por lo que tiene numerosos metabolitos capaces de producir efectos tóxicos. ⁽²⁾

Por este motivo la presente investigación tiene como objetivo determinar la actividad toxica aguda por vía oral del extracto seco etanólico de las Inflorescencias de *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra) en animales de experimentación y sobre todo para que los conocimientos ancestrales permanezcan en la actualidad.

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

La población mundial da mayor énfasis al consumo de productos naturales, la población peruana no es ajena a ello ya que goza de una reconocida biodiversidad por sus climas y pisos ecológicos; a ello se agrega la flora, donde se encuentra gran variedad de plantas con uso medicinal, por la variedad de plantas que posee, el Perú se convierte en una fuente de investigación de interés permanente. A pesar de contar con elevada biodiversidad de plantas medicinales y complementadas con muchos saberes ancestrales relacionados con propiedades farmacológicas, con el tiempo se ha ido atribuyendo virtudes mágicas, cuyo origen debemos buscar en el campo de la brujería, el curanderismo o las creencias populares, donde emplean estas dichas especies tóxicas o venenosas como sedantes nerviosos, abortivas, purgantes fuertes, etc. Desde el empleo de sustancias tóxicas para distintos fines ha sido general en todas las comunidades humanas. Y dentro de los venenos, aquellos de origen vegetal ocupan un lugar destacado, tanto por su elevado número como por su facilidad de adquisición, de un modo empírico donde se desconoce la acción perjudicial de muchas de estas plantas. ⁽³⁾

Si bien es cierto en la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina tradicional, pero la ciencia va analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, no con el fin de disminuir esta confianza en la naturaleza, sino para agrupar a las plantas de efectos similares, para conocer los principios activos responsables de aliviar, o curar enfermedades, separarlos de las plantas que los contienen, determinar sus estructuras químicas procurar su síntesis proponer modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad, y finalmente dar a conocer a la humanidad los resultados de estos estudios. ⁽⁴⁾

Frente a esta situación y aprovechando que nuestro país tiene una biodiversidad de flora, surge la necesidad de enfocar en nuestros recursos naturales, no descartando la posibilidad que pueden ser tóxicas o presentar reacciones adversas; tal como es el caso de la planta conocida vulgarmente como pacrapacra, al cual no se le han realizado ningún tipo de investigación en toxicidad, por ello la realización de esta investigación. ⁽³⁾

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la dosis letal media del extracto etanólico de las Inflorescencias de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) causante del efecto toxico agudo en ratas de la especie *Rattus rattus*?

1.2.2. Problemas específicos

¿Qué metabolitos activos se encuentran presentes en el extracto etanólico de las Inflorescencias de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra)?

¿Cuál será el porcentaje de mortalidad en ratas de la especie *Rattus rattus* dosificados con 300mg/kg, 5000mg/kg y 15000mg/Kg de extracto etanólico de las Inflorescencias de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra), basada en la dosis letal media?

1.3. Objetivos

1.3.1 Objetivo Principal

- Determinar la dosis letal media del extracto etanólico de las Inflorescencias de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) causante de efecto toxico agudo en ratas de la especie *Rattus rattus*.

1.3.2 Objetivo Específicos

- Identificar los metabolitos activos que se encuentran presentes en el extracto etanólico de las inflorescencias de *laccopetalum giganteum ulbrich* (pacra_pacra)
- Determinar el porcentaje de mortalidad en ratas de la especie *Rattus rattus*. dosificados con 300mg/kg, 5000mg/kg y 15000mg/Kg de extracto etanólico de las Inflorescencias de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) basada en la dosis letal media.

1.4. Justificación

En nuestro país hay una biodiversidad de flora, surge la necesidad de enfocar en nuestros recursos naturales, utilizando como agentes terapéuticos, no descartando la posibilidad que pueden ser tóxicas o presentar reacciones adversas. ⁽⁵⁾

En la zona Altoandino (distrito de Conchucos, provincia de Pallasca, departamento de Ancash), las flores de *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra), son consumidas (te afrodisiaco) y usadas (emplastos para la artritis) por los pobladores y falsos chamanes conllevando así a un reporte de toxicidad produciendo ampollas y quemaduras al tener contacto con la piel.

Al indagar las referencias bibliográficas, estas consideran el efecto de fertilización para el ganado y tóxicas para el ser humano. Por ello, se plantea determinar la actividad toxica a diferentes dosis determinadas e identificar metabolitos activos en animales de experimentación. Debido a que no se ha realizado ningún tipo de investigación sobre su toxicidad, se justifica plenamente la realización de esta investigación para demostrar toxicidad en el extracto etanólico de las inflorescencias de *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra). ⁽⁶⁾

El presente trabajo se justifica además porque los resultados obtenidos en esta investigación pueden ser usados como punto de partida para la implementación de diversas medidas de intervención y estrategias promocionales preventivas orientadas a promover la importancia de la medicina complementaria y alternativa en el tratamiento preventivo y curativo de las enfermedades. ⁽⁷⁾

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Bussmann y *col*, realizaron investigaciones y entrevistas semiestructuradas de curanderos, colectores y vendedores de plantas medicinales. Ejecutaron bioensayos para evaluar la eficacia y toxicidad de las plantas encontradas. La mayoría (83%) de las 510 especies usadas nativas del norte del Perú entre ellas *Laccopetalum giganteum* Ulbrich. El 24% de extracto acuoso y 76% de extracto etanólico mostraron toxicidad. Los métodos usados tradicionales de preparación toman en cuenta al elegir el disolvente apropiado para la preparación de un remedio. La mayoría representa plantas recolectadas en la naturaleza, causando dudas sobre la sostenibilidad del comercio. ⁽⁸⁾

Erst y *col*, describieron una nueva especie endémica de la familia *Ranunculaceae* sp. nov., en la República de Buriatia y la provincia de Irkutsk, Rusia. Perteneciente a la sección *Shibateranthis* de *Eranthis* y es morfológicamente similar a *E. sibirica* y *E. stellata*. Delimitaron esta nueva especie que utilizó un enfoque taxonómico integrador, basado en análisis citogenéticos, moleculares y bioquímicos, junto con datos morfológicos. ⁽⁹⁾

Páez y *col*, realizaron reencuentros cromosómicos de la familia *Ranunculaceae* (*Halerpestes*) un género pequeño el cual contiene 13 especies. Tres de ellas son típicas de la región del Noroeste Argentino: *H. cymbalaria*, *H. exilis* y *H. uniflora*. Recientemente se separó a *H. exilis* como una especie diferente de *H. cymbalaria*, ya que era considerada una forma de esta última. Los resultados fueron concluyentes en que ambos taxones son diploides y presentan $2n = 16$ cromosomas, cariotipos asimétricos y unimodales; sin embargo, existen diferencias en el tamaño cromosómico y la organización de la cromatina, teniendo *H. exilis* un par cromosómico con satélite no observado en el otro taxón. ⁽¹⁰⁾

Da-cheng y *col*, realizaron investigaciones de la familia Ranunculaceae, que comprenden más de 2.200 especies en al menos 62 géneros, en su mayoría hierbas. Encontraron varios fitometabolitos medicinales en plantas de Ranunculaceae, como alcaloides, terpenoides, saponinas y polisacáridos, demostrando actividades anticancerígenas in vitro e in vivo. Al menos 17 géneros se han enriquecido con fitometabolitos anticancerígenos. Algunos fitometabolitos de Ranunculaceae inducen la detención del ciclo celular y la apoptosis de las células cancerosas o mejoran las actividades inmunes, mientras que otros inhiben la proliferación, invasión, angiogénesis y metástasis. Revelando las propiedades de absorción, distribución, metabolismo y excreción / toxicidad y las relaciones estructura / actividad de algunos fitometabolitos que ayudan en el descubrimiento y desarrollo de fármacos tempranos. ⁽¹¹⁾

Almerekova y *col*, describieron a nivel mundial, el género *Ranunculus* (*Ranunculaceae*) 600 especies. Informes taxonómicos recientes sugieren que el género tiene un origen monofilético, se divide en dos subgéneros y consta de 17 secciones. El país de Asia central de Kazajstán tiene 62 especies del género *Ranunculaceae*. Evaluaron las posiciones taxonómicas moleculares de *R. talassicus* y otras dos especies endémicas de la región de Asia Central *R. karkaralensis* Schegol. y *R. pskemensis* V.N. Pavlov en relación con otras especies del género, utilizando marcadores genéticos moleculares del espaciador transcrito interno (ITS). Indicando que las evaluaciones del árbol filogenético basado en ITS y la red Neighbour-Net proporcionaron nuevos conocimientos sobre las posiciones taxonómicas de tres especies endémicas de Asia Central. ⁽¹²⁾

Malik J y *col.*, estudiaron un potencial antiinflamatorio y antioxidante in vitro de extracto de raíces de especies de Ranunculaceae, donde el extracto de *T.minus* mostró un efecto antioxidante significativo (DPPH = 0.074 g TE / gy ORAC = 0.518 g TE / g), relativamente rico en compuestos fenólicos (TPC = 0.352 g GAE / g).Dándose que los

compuestos fenólicos podrían ser responsables del potencial antioxidante por esta planta. ⁽¹³⁾

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Arroyo y *col*, determinaron la administración por vía oral del extracto etanólico de flores de *Laccopetalum giganteum* (Pacra-pacra) en ratas normales aumenta la fertilidad. Los animales fueron divididos aleatoriamente en 2 grandes grupos, de 24 cada uno. El primero fue control, con solución salina fisiológica (SSF) 5mL/kg y el segundo con extracto vía oral, 300 mg/kg, durante 15 días. Cada grupo consideró 6 hembras y 6 machos juntos, y 6 hembras y 6 machos separados. Los flavonoides, compuestos fenólicos y taninos estuvieron en mayor cantidad en el extracto etanólico. El 100% de ratas que recibió el extracto etanólico de la planta y estuvo junto a los machos resultaron grávida; y, las separadas que recibieron el mismo extracto presentaron incremento de FSH en las hembras y testosterona en los machos, comparativamente a los controles respectivos. Los niveles de GOT, GPT, urea y creatinina se encontraron dentro de los límites aceptados. El extracto etanólico de las flores de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) incrementó la fertilidad en ratas normales. ⁽⁷⁾

Ruiz y *col*, realizaron una revisión con resultados encontrados en literatura especializada de plantas medicinales de uso terapéutico para la prevención y tratamiento de afecciones respiratorias virales como uno de ellos es *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (Ranunculaceae) .Obteniendo una lista de 122 plantas medicinales con nombre científico, nombre común, hábito, uso tradicional, parte de la planta utilizada; 96 de las cuales presentan información sobre metabolitos secundarios y 26 especies que se utilizan sin verificación de su contenido fitoquímico. En 59 especies encontraron flavonoides, terpenos en 29, taninos en 30, fenoles en 32 y alcaloides en 26. ⁽¹⁴⁾

Castillo y *col*, realizaron un estudio de conocimiento y el uso de las plantas comercializadas en el mercado de Cajabamba, así como el ambiente donde se desarrollan y el estado de conservación que presentan. Entrevistaron 60 herbolarios, registrando 123 especies que en su mayoría son extraídas de su hábitat natural. Las familias más representativas fueron *Lamiaceae* y *Asteraceae* con 18 y 17 especies respectivamente. La mayoría de especies fueron medicinales, indicadas principalmente contra afecciones digestivas. Nueve especies como *Laccopetalum giganteum* Ulbr., *Myrcianthes discolor* (Kunth) McVaugh están incluidas en alguna categoría de conservación de la legislación peruana y ocho especies entre ellos *Iresine weberbaueri* Suess, *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts son endémicas. Concluyendo que el conocimiento tradicional se conserva y es transmitido especialmente por la mujer.⁽¹⁵⁾

Huarcaya y *col*, determinaron las características de comercialización de las principales plantas medicinales, los datos etnobotánicos fueron recolectados por medio de entrevistas a comerciantes del mercado mayorista “La Parada (Lima). Identificaron 53 especies utilizadas para diversos fines medicinales. Las familias mejor representadas fueron *Asteraceae* (18%), *Geraniaceae* (14%), seguida de *Ranulaceae* (6%), *Mirtaceae* y *Verbenaceae* (4%), *ranunculácea* y *urticaceae* (1%), el uso de las plantas medicinales sirven para aliviar, prevenir y curar más 18 afecciones por tener la propiedad de ser; analgésicos, antialérgico, adelgazante, anticancerígeno, antidiabético, antihelmético, antihemorrágico, antiinflamatorio, antirreumático, cicatrizante, digestivo, diurético, estimulante, malaria, nervios, regulador, respiratorio y traumatismo.⁽¹⁶⁾

Rodríguez E, realizaron aportes científicos al conocimiento de la flora de la región La Libertad, presentando elevados niveles de diversidad florística, el 47% del total de registros de especies con flores para el país se encuentra en esta parte (Sagástegui *et al.*, 1999), se debe a varios factores, entre ellos, la múltiple tipificación de climas, corrientes marinas y vientos alisios; constituyendo en un mosaico de micro- hábitats, cuyo resultado es una elevada riqueza endémica (Sagástegui *et al.*, 1994,1999). Presentan alrededor de 3000 especies de flora, de ellas unas 600 son endémicas. Se destaca el género *Chucoa* Cabrera (Asteraceae) como endémico y monoespecífico para la región. Igualmente registra algunos géneros endémicos compartidos con otras regiones peruanas tales como: *Ferreyrella* S.F. Blake (Asteraceae), *Laccopetalum* Ulbr. (Ranunculaceae) y *Tetrasida* Ulbr. (Malvaceae) ,durante los últimos 25 años, especialmente al norte del Perú, se han encontrado taxones nuevos para la ciencia, los mismos que han sido descritos según los códigos internacionales .Dándose a conocer aportes científicos a la *Scientia Amabilis* referido a diez especies nuevas y cuatro subespecies nuevas, procedentes de la región La Libertad.⁽¹⁷⁾

Rodríguez y *col*, realizaron un estudio en una de las especies más vistosas, raras y endémicas de la flora Altoandina del norte del Perú como lo es *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (Ranunculaceae). En el presente trabajo se considera que la conservación de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich debe ser integral e involucrar diferentes niveles de decisión, contribuyéndose aquí a difundir aspectos de su taxonomía, afinidades sistemáticas, al mismo tiempo informar de su toxicidad y el daño que ocasiona al usar y abusar en el ser humano.⁽¹⁸⁾

2.2. Base teórica

2.2.1. Aspectos generales de la especie *Laccopetalum giganteum* Ulbrich

2.2.1.1. Descripción Botánica

- Hierba perenne, suculenta, hasta 0,80 m de altura, raíces múltiples y largas, fasciculadas, 10-15 por planta.
- Hojas: arrestadas, basales y sub-basales (caulinares), suculentas (coriáceas en estado seco), angostamente ovado-acuminadas, bordes dentado-mucronulados, las basales tan largas como la planta, las sub-basales de tamaño variable, ambas 1-3 cm en su porción angosta y 6-8 en su porción ancha, verdeazuladas.
- Flores: hemisféricas I (-2), 10-15 cm diámetro, verdosas, sobre un escapo grueso, erguido, con pocas hojas caulinares rodeando la flor, sésiles, sublineares, bordes ciliados, 12 x 2 cm, sépalos imbricados, usualmente 5, suborbiculares, cóncavos, bordes ciliados, 5(-6) 8-10 cm de largo, 6-8 de ancho; pétalos 5 o 6, imbricado-fimbriados, suborbiculares, cóncavos, 7-8 cm de largo, 6-7 cm de ancho, carnosos, con nectarios notorios a modo de grandes cavidades o poros dispersos en la lámina, 2-4 ancho; estambres y pistilos sobre un eje floral carnoso, 3 cm de largo, 2 cm de ancho; estambres numerosos, filamentos hasta 2 largo, anteras con inserción basal, 0,5 cm largo, amarillos, carpelos glabros, numerosos, uno de cada uno, capitados cuando reunidos en el ápice del eje floral, 2,5-3,5(-4) cm diámetro, verdosos.
- Fruto: aquenio, sin venas ni caras, pericarpio con tejido escleroso, ápices definidos. ⁽¹⁹⁾

2.2.1.2 Clasificación Taxonómica

La muestra vegetal (planta completa) fue estudiada y clasificada como *Laccopetalum giganteum* Ulbrich y tiene la siguiente

posición taxonómica, según el sistema de Clasificación de Cronquist ⁽²⁰⁾:

División: *magnoliophyta*

Clase: *magnoliopsida*

Orden: *ranunculales*

Familia: *ranunculácea*

Género: *laccopetalum*

Especie: *Laccopetalum giganteum*

Nombre vulgar: Pacra-pacra

Laccopetalum Ulbrich (Ranunculaceae), es un género monoespecífico y endémico de la flora peruana. La única especie, *laccopetalum giganteum* Ulbrich., se encuentra restringida a unas pocas localidades en el norte andino del país, por lo general arriba de los 4.000 m de altitud. Presenta hojas espinosas, suculentas, grandes, glaucas, además tiene unas flores muy grandes y verdosas. Por consiguiente, es una de las plantas más espectaculares de la flora Andina, más aún en las alturas donde crece comparada con la mayoría de las plantas que son pequeñas y poco vistosas. Ha sido conocida desde los antiguos peruanos y empleada aún en la medicina folclórica humana y veterinaria.

- Nombres vulgares: pacra, pacra-pacra, huamanripa, rima-rima, pagra
- Distribución y ecología: Es una planta endémica que crece en las regiones ecológicas del páramo, de la puna húmeda y seca y de la Altoandina, entre los 3900 y 5300 m.

Hasta mediados del siglo XX la mayoría de los especímenes conocidos provenían de localidades en el norte del Dpto. Ancash, Prov. Pallasca y del Dpto. Cajamarca, Prov. Hualgayoc. Sin embargo, excursiones botánicas modernas demuestran que algunas de estas poblaciones persisten en algunas de estas localidades, como Pelagatos y Conchucos en

la zona de Pallasca, como también otras poblaciones están presentes en localidades nuevas en el Dpto. La Libertad (Prov. Huamachuco y Bolívar) y una zona contigua en el Dpto. San Martín con protección estatal. El *Laccopetalum giganteum* Ulbrich habita en zonas pedregosas y rocosas. Por su hábitat en alturas muy elevadas se supone un crecimiento y una regeneración muy lentos. Sin embargo, aún se desconoce el tamaño de las poblaciones naturales a través de su rango, información sobre su historia natural que incluya por ejemplo desarrollo foliar, biología floral y tasa de germinación, así como su dinámica poblacional (establecimiento y crecimiento de las plantas individuales en el tiempo).⁽¹⁸⁾

- Usos: Varias partes de la flor de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich son empleadas en medicina folclórica para usos tanto en seres humanos como para empleo veterinario.

El uso de las flores en medicina folclórica humana tiene mucha fama, especialmente como remedio contra la tos (antitusígeno), para combatir afecciones de la garganta y pulmones. Inclusive fue empleada de esta forma por los antiguos peruanos del incanato.⁽¹⁸⁾

Las flores mezcladas con sal se dan al ganado un remedio eficaz para aumentar la fecundidad. En la Jalca de Cajamarquilla, Prov. Bolívar, Dpto. la Libertad, según los criadores de ganado.

También le dan uso como purgante (diarreico) en el ganado ovino y caprino.

También es utilizada en el pueblo de Bambamarca (Prov. Bolívar, Dpto. La Libertad) para dar baños de florecimiento, mezclándola con *Alchonilla nivalis* Kunth.⁽¹⁸⁾

- Abusos: Reportaron toxicidad por uso de las flores entre usuarios en la zona de Conchucos, al probar el néctar con el cual presentan fuertes dolores de cabeza y alucinaciones.

Tiene una acción vesicante, produciendo ampollas y quemaduras al poner en contacto con la piel humana.

Así mismo los «chamanes» o «falsos curanderos» o «charlatanes» maceran la flor en depósitos mezclándola con cañazo «algarrobina», «chuchuhuasi» como una bebida afrodisiaca. ⁽¹⁸⁾

- P.A. y A.F.: Saponinas, etc. Al exterior, vesicante y revulsivo. Ingeridos, provocan alteraciones renales, digestivas, cardíacas y convulsiones, En resumen, son plantas peligrosas que pueden llegar a matar. ⁽²¹⁾

2.2.2. Principios Generales de la Toxicidad

La toxicología es el estudio de los venenos o, en una definición más precisa, la identificación y cuantificación de los efectos adversos asociados a la exposición a agentes físicos, sustancias químicas y otras situaciones. En ese sentido, la toxicología es tributaria, en materia de información, diseños de la investigación y métodos, de la mayoría de las ciencias biológicas básicas y disciplinas médicas, de la epidemiología y de determinadas esferas de la química y la física. La toxicología abarca desde estudios de investigación básica sobre el mecanismo de acción de los agentes tóxicos hasta la elaboración e interpretación de pruebas normalizadas para determinar las propiedades tóxicas de los agentes. Aporta una importante información tanto a la medicina como a la epidemiología de cara a comprender la etiología de las enfermedades, así como sobre la plausibilidad de las asociaciones que se observan entre éstas y las exposiciones, incluidas las exposiciones profesionales. ⁽²²⁾

La toxicología estudia las relaciones entre la cantidad de sustancia introducida en el organismo y el efecto biológico obtenido, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo. Esta ocurre toda vez que una sustancia entra en contacto con una superficie corporal como la piel, los ojos o la mucosa del sistema digestivo o respiratorio. En la sociedad moderna, la toxicología es ya un elemento importante de la salud ambiental y de la salud en el trabajo. Ello es así porque muchas organizaciones, tanto

gubernamentales como no gubernamentales, utilizan la información toxicológica para evaluar y regular los peligros -presentes tanto en el lugar de trabajo como en el medio ambiente general. ⁽²³⁾

2.2.2.1 Toxicidad

La toxicidad es la capacidad de una sustancia de causar algún efecto nocivo sobre organismos vivos. Depende de la cantidad administrada o absorbida, Vía de ingreso al organismo, Distribución a lo largo del tiempo después de su administración. Naturaleza y severidad del daño producido. Tiempo necesario para producir el efecto. ⁽²³⁾

2.2.2.2. Categorías y Clasificación de la toxicidad

Las categorías de toxicidad se refieren a una calificación arbitraria de las dosis o niveles de exposición que causan efectos tóxicos. Se habla así de “sumamente tóxico”, “muy tóxico” y “moderadamente tóxico”. Lo más frecuente es que estas expresiones se apliquen a la toxicidad aguda. La clasificación de la toxicidad se refiere a la agrupación de las sustancias químicas en categorías generales conforme a su efecto tóxico principal. Se habla así de sustancias alergénicas, neurotóxicas y carcinógenas. ⁽²²⁾

2.2.2.3. Toxicidad aguda

Consiste en administrar una sola dosis o varias dosis en un solo día. Actualmente, para evitar el sufrimiento innecesario de los animales, la determinación exacta de la dosis mediana letal (DL50) con su intervalo de confianza no se considera precisa. No obstante, los experimentos de toxicidad aguda junto con los de farmacología de seguridad deben permitir la extrapolación aproximada de la dosis letal en las especies estudiadas. Los animales deben ser observados durante dos semanas y los

órganos se someten a exámenes histopatológicos exhaustivos. ⁽¹⁵⁾ La toxicidad aguda tiene por objeto determinar los efectos de una dosis única y muy elevada de una sustancia. Usualmente, el punto final del estudio es la muerte del animal y la toxicidad aguda se expresa por la dosis letal 50, que viene a representar más o menos la dosis de la sustancia que produce la muerte en el 50% de los animales. La observación de los animales se lleva a cabo después de la administración de la sustancia y dura hasta 14 días, después de los cuales los animales son sacrificados y autopsiados. ⁽²⁾

2.2.2.4. Toxicidad subaguda

Significa un menor grado de afección de la intoxicación, produciendo algunos trastornos a nivel biológico, pero sin manifestarse de forma aparente y clara. Generalmente como consecuencia de un tiempo de exposición no demasiado grande al agente. ⁽²²⁾

2.2.2.5. Toxicidad crónica

Se produce como consecuencia de la repetida absorción de un tóxico, siendo el tiempo de exposición especialmente alto (>90 días). A veces esta intoxicación se produce por la absorción de cantidades pequeñas de agente tóxico, pero, ante las sucesivas exposiciones, se produce acumulación en algún órgano o tejido. No suele manifestarse (estado subclínico) hasta que llega el momento en que, por un estado fisiológico más bajo o un posible movimiento del agente tóxico, se manifiesta a largo plazo. Generalmente, esto suele ocurrir en nuestros días con el uso de plaguicidas, ciertos compuestos químicos y por efecto de la Contaminación Ambiental. ⁽²²⁾

2.2.2.6. Toxicidad recidivante

Conducen al individuo a un estado de carencia biológica cada vez mayor que va mermando su capacidad de recuperación de manera que su restitución es cada vez más deficiente. ⁽²³⁾

2.2.2.7. Bases para la determinación de la toxicidad

El objetivo de los estudios de toxicidad es evaluar el riesgo o peligro potencial que un agente químico o físico puede ocasionar sobre la salud humana cuando es objeto de exposiciones agudas o crónicas. Podría definirse la evaluación de la toxicidad como el estudio cualitativo y cuantitativo de los efectos deletéreos ocasionados por agentes químicos o físicos sobre la estructura y función de los sistemas vivos y la aplicación de estos estudios para la evaluación de la seguridad y la prevención de daños al hombre. Uno de los requisitos que se exige en la investigación de productos naturales, es comprobar el grado de toxicidad que el producto pudiera producir. ⁽²³⁾

2.2.2.8. Pruebas toxicológicas vía de administración

Las sustancias químicas pueden ser introducidas en el complejo organismo biológico por varias vías, las propiedades químicas y físicas de cada compuesto determinan sustancialmente la vía por la que tiene lugar la exposición intencional o accidental, un agente sólido, en contraste con un agente muy volátil, requerirá especiales procedimientos para ser administrado a un animal por vía distinta a la oral. Particularmente las vías orales y/o respiratorias, son las vías más adecuadas y comunes para la exposición no intencional a sustancias químicas, mientras que el uso de técnicas de inyección puede ser la vía más conveniente para la administración intencional de compuestos a animales “que no cooperan”. ⁽²³⁾

La vía oral es una de las vías más importantes por las que ingresan las sustancias químicas en el organismo. En el tracto

gastrointestinal de los animales las sustancias químicas solo pueden producir un efecto en la superficie de las células mucosas que revisten dicho tracto a menos que tenga lugar la absorción desde el mismo. ⁽⁴⁾

La toxicidad de las sustancias químicas administradas por vía oral puede variar según la frecuencia con que lo son y según en qué condiciones se hace, es decir, si son mezclas con alimentos a administradas a un estómago vacío. Existen experimentos los cuales reportan que la toxicidad de un medicamento administrado por sonda oral puede ser considerablemente diferente del mismo medicamento administrado mezclado con la ración, así como que la toxicidad aguda es mayor en las ratas en ayunas que en las que no la estaban. La administración oral de sustancias químicas que son rápidamente adsorbidas en el tracto gastrointestinal deberá teóricamente exponer el hígado a concentraciones del agente que no puedan obtenerse por otras vías de administración. Además, si un compuesto entra en el ciclo entero hepático, por lo menos una parte de este deberá localizarse en los órganos implicados en este ciclo. ⁽⁴⁾

2.3. Definición de términos básicos

- Fitofármaco: Productos obtenidos por procesos tecnológicamente, empleando exclusivamente materias primas vegetales, para fines curativas, paliativa o para fines de diagnóstico.⁽³⁾
- Maceración: es un método de extracción de los principios activos de una planta en un líquido consiste en dejar reposar en alcohol, agua fría u otro solvente, Se deja reposar en un lugar fresco y oscuro, el tiempo requerido.⁽¹⁵⁾
- Planta medicinal: Es cualquier planta que en una o más de sus partes (hojas, flores, corteza, raíz, etc.) contiene sustancias que la hacen útil para mejorar la salud de las personas o los animales. ⁽²⁴⁾
- Toxicidad: actividad de evaluar los riesgos o el peligro potencial que un agente químico o físico puede causar sobre la salud humana, el evento empieza con la exposición, procesos de distribución y metabolismo y termina con las interacciones con macromoléculas celulares y con la expresión de un punto final tóxico.⁽³⁾

2.4. Hipótesis

2.4.1. Hipótesis Principal

- El extracto etanólico de las Inflorescencias de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) causa toxicidad aguda en ratas de la especie *Rattus rattus*.

2.4.2 Hipótesis Específicos

- Los metabolitos activos se encuentran presentes en el extracto etanólico de las Inflorescencias de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra).
- El porcentaje de mortalidad en ratas de la especie *Rattus rattus*, dosificados con 300mg/kg, 5000mg/kg y 15000mg/Kg de extracto etanólico de las Inflorescencias de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) tienen toxicidad basada en la dosis letal media.

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación

Es una investigación experimental, ya que se va manipular una de las variables para observar y evaluar el efecto sobre la otra. ⁽²⁵⁾

3.2. Nivel de investigación

Explicativo, debido a que se evaluara la influencia de la variable independiente sobre la variable dependiente.

3.3. Diseño de investigación

La investigación es de diseño experimental, por la manipulación de las variables para obtener resultados específicos. ⁽²⁵⁾

3.4. Área de estudio

El estudio se realizará en ambiente controlado, es decir en el laboratorio de la Universidad María Auxiliadora en condiciones óptimas para su desarrollo.

3.5. Población y muestra

Población

Vegetal: conformada por la especie vegetal de familia *Ranunculaceae*, especie *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra).

Animal: *Rattus rattus*.

Muestra

Vegetal: se utilizara inflorescencia de *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra), en la zona Altoandino (distrito de Conchucos, provincia de Pallasca, departamento de Ancash).

Animal: 20 ratas *Rattus rattus*, variedad Albina de 2 meses de edad, de peso entre 200gr.

3.6. Variables y operacionalización de variable

Variables	Definición Conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición
Extracto etanólico del <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra)	Es la cantidad de extracto en mg/kg de peso obtenido que posee una composición química que le proporciona una acción farmacológica.	La dosis del extracto etanólico.	Concentración del extracto	300 mg/kg, 5000 mg/kg y 15000 mg/kg.	Numérica
Toxicidad	Es la capacidad de una sustancia de ser directamente mortal cuando se administra una sola vez en 24 horas a seres vivos produciéndoles la muerte. La toxicidad aguda se manifiesta con la concentración letal media (DL50).	La toxicidad se midió, mediante la observación y conteo de animales vivos y muertos luego de la administración del extracto etanólico del <i>Laccopetalum giganteum</i> (pacra-pacra) en dosis de 300 mg/kg, 5000 mg/kg y 15000 mg/kg.	Dosis Letal Media	El 50% de <i>Rattus rattus</i> muertos según estudios de probabilidad.	Numérica

3.7. Instrumentos de recolección de datos Encuesta

Se elaboró una ficha de registro de datos donde se anotará la reacción por tiempo y las observaciones que se registre en la muestra en estudio, estas fueron elaboradas de acuerdo con los ensayos y los datos que se requiere para los objetivos de las investigaciones, el instrumento es viable porque es sencillo, económico y simple.

3.8. Validación de los instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos han sido evaluados por docentes especializados en el área respectiva quienes bajo su criterio han evaluado la idoneidad de los mismos.

3.9. Procedimientos de recolección de datos

3.9.1. Identificación de la zona

Para identificar el lugar en el cual se encuentra la planta a experimentar, se tuvo que viajar al distrito de Conchucos, provincia de Pallasca, departamento de Ancash a fin de recabar información; todo ello con el fin de establecer mejores datos.

3.9.2. Selección de la muestra

Se procederá a seleccionar las inflorescencias de *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra), separándolas cuidadosamente de raíces, tallos y hojas; las flores deben estar en buen estado, intactas y sin hongos, se limpió utilizando un pincel para eliminar los residuos de tierra, insectos u otras partículas que puedan contaminar la muestra, se obtuvo 2 kilogramos de muestra.

3.9.3. Secado de la muestra

A temperatura ambiente, por un periodo de 5 días y bajo sombra en un lugar limpio y ventilado se procedió a secar las flores seleccionadas, utilizando como base papel kraft, cambiando a diario para evitar que la humedad afecte a la muestra vegetal.

3.9.4. Molienda de la muestra

Utilizando un mortero se procedió a moler las inflorescencias secas hasta su pulverización moderada y uniforme, con la finalidad de incrementar la extracción de los metabolitos durante su contacto con los solventes.

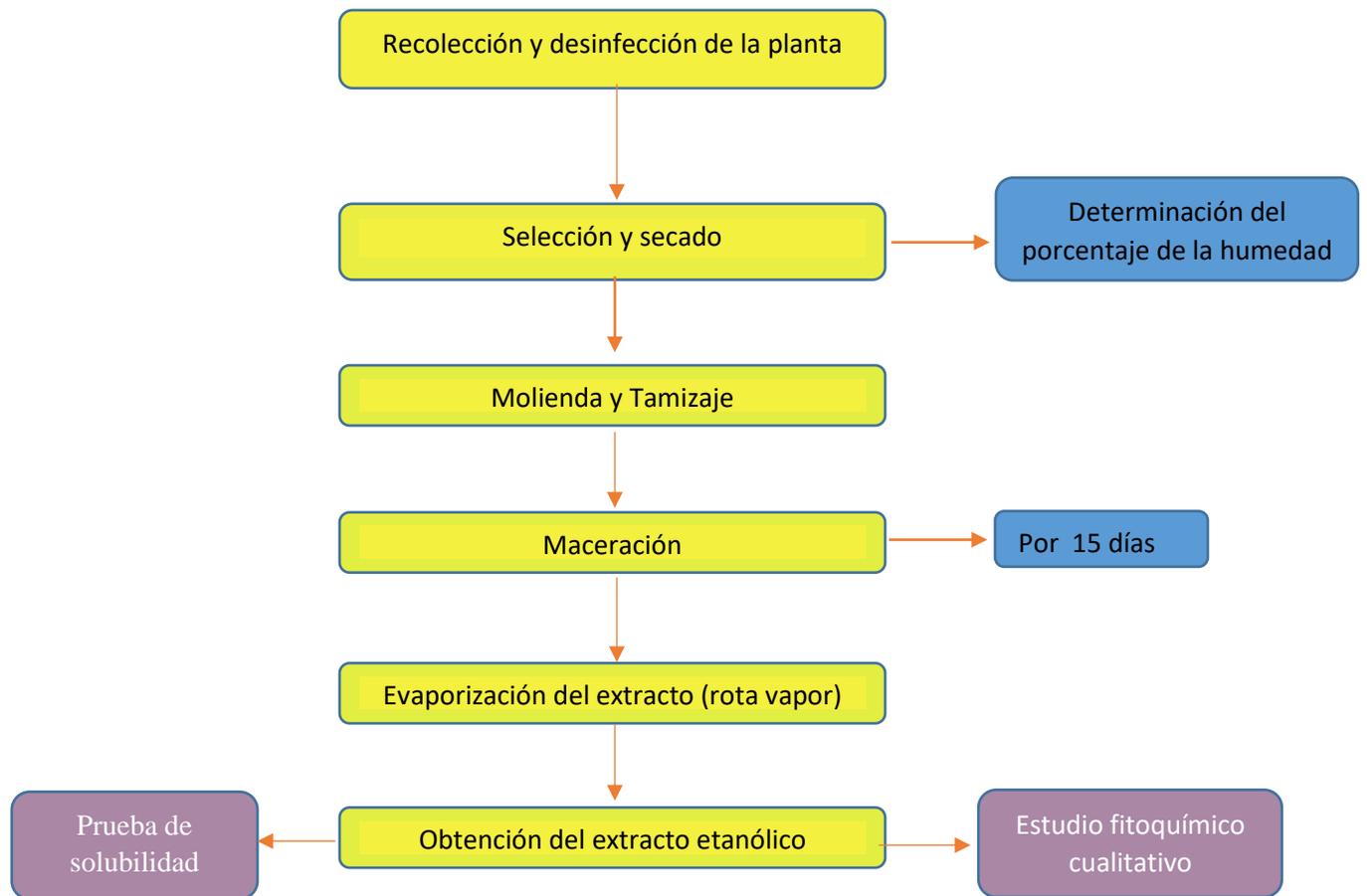
3.9.5. Maceración de la muestra

Para el proceso de maceración de las inflorescencias secas molidas, se obtuvo 250 g de peso de la muestra seca, luego se introdujo en una botella color ámbar de boca ancha de capacidad para 4 litros, seguidamente se le agregó 2 litros de alcohol etílico de 96° hasta que quedo por encima 5 cm de la muestra, se maceró durante 15 días a permanente agitación y se aisló de la luz diaria para una mejor extracción de los principios activos. ⁽¹⁾

3.9.6. Filtración del extracto

Luego de cumplir el tiempo de maceración, utilizando un embudo de vidrio y papel filtro se procedió a filtrar la muestra, obteniendo el extracto etanólico, el volumen obtenido de la filtración se depositó en un envase color ámbar.

Flujograma del estudio de la obtención del extracto etanolico de las inflorescias del *laccopentalum giganteum* Ulbrich (*pacra-pacra*).



3.9.7. Prueba de solubilidad

La prueba de solubilidad del extracto seco de la muestra se hizo con la finalidad de determinar la polaridad, para lo cual en un tubo de ensayo se colocó una pequeña porción del extracto seco y se le adicionó la cantidad suficiente de los siguientes solventes y se observó los resultados. ⁽²⁶⁾

Tabla 1. Solventes utilizados para la solubilidad

SOLVENTES
Agua destilada
Metanol
Etanol 70 %
Etanol 96 %
Acetona
Cloroformo
Hexano
Éter etílico

Fuente: Bruneton ⁽²⁶⁾

3.9.8. Marcha fitoquímica

El extracto obtenido se sometió a pruebas fitoquímicas cualitativas para la identificación de los grupos de metabolitos secundarios. Para ello se utilizaron pruebas de coloración y precipitación, para la identificación de dichos metabolitos en el extracto etanólico de las inflorescencias de *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra) como se muestra a continuación ⁽²⁷⁾:

Flavonoides

Reacción de Shinoda: En tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se adiciona 2 granallas de magnesio, se añade 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. La coloración rojo ladrillo, nos indica la presencia de flavonoides. Reacción de Rosenheim: En tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se adiciona 3 gotas del reactivo de Rosenheim y se agita. Precipitado rojo parduzco nos indica presencia de antocianinas y flavonoides catéquicos ⁽²⁷⁾.

Carbohidratos

Reacción de Molisch: En un tubo de ensayo se agrega 1ml del extracto, luego 4 gotas del reactivo de Molisch, agitar y agregar por la pared del tubo 10 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La formación de un anillo color violeta y coloración rojo nos indica presencia de carbohidratos (azúcares).

(27)

Glicósidos

Reacción de Benedict: En un tubo de ensayo se agrega 200mg de extracto agregar 2ml de ácido clorhídrico 1%, luego tratar con carbón activado si es necesario y filtrar, agregar 0.2 ml del reactivo Benedict, someter a ebullición por 5 minutos y dejar enfriar. Es positiva la formación de un precipitado rojo ladrillo.

Saponina

Prueba de Espuma: En tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se agrega 2 ml. de agua destilada y se agita por más de 1 minuto. Aparición de espuma de 1 cm y por más de 15 minutos indica presencia de saponinas.

Reacción Lieberman – Burchard: En tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se adiciona 5 gotas de cloroformo y 5 gotas del reactivo de Lieberman burchard, por las paredes del tubo de ensayo se agrega 10 gotas de ácido y se agita. La aparición de una fase color azul verdoso, indica presencia de esteroides ⁽²⁷⁾.

Alcaloides

Reacción de Mayer: En un tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se adiciona 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado y 3 gotas del reactivo de Mayer y se agita. Precipitado blanco lechoso revela presencia de alcaloides.

Reacción de Dragendorff: En un tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se adiciona 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado y 3 gotas del reactivo de dragendorff y se agita. Precipitado anaranjado revela la presencia de alcaloides.

Reacción de Bertrand: En un tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se adiciona 2 gotas de ácido

sulfúrico concentrado y 3 gotas del reactivo de Bertrand y se agita. Precipitado blanco revela presencia de alcaloides. Reacción de Sonnenschein: En un tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se adiciona 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado y 3 gotas del reactivo de Sonnenschein y se agita. Precipitado azul verdoso revela presencia de alcaloides ⁽²⁷⁾

Taninos

Reacción de gelatina: En un tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se añade 3 gotas del reactivo de gelatina y se agito. Precipitado blanco lechoso revela presencia de taninos ⁽¹⁸⁾

Compuestos fenólicos

Reacción de tricloruro férrico: En un tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se añade 1 gota del reactivo de tricloruro férrico, se agita. La coloración verde azulado revela presencia de compuestos fenólicos ⁽²⁷⁾.

Quinonas

Reacción de Bortranger: En un tubo de ensayo se agrega 3 gotas del extracto, luego se añade 3 gotas del reactivo de Bortranger, se agita. Presencia de una fase rojo cereza revela presencia de quinonas ⁽²⁷⁾.

3.9.10. Estudio de toxicidad

Para el ensayo preclínico de toxicidad se empleó el modelo descrito en la OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method ⁽²⁸⁾ ⁽²⁹⁾.

Tabla 2: Clasificación del grado de toxicidad

Clasificación de la sustancia	DL 50 (en ratones vía oral) mg/kg
Extremadamente tóxico	≤ 1
Altamente tóxico	≤ 50
Moderadamente tóxico	≤ 500
Ligeramente tóxico	≤ 5000
Prácticamente no tóxico	≤ 15000
Relativamente inocuo	≥ 15000

Fuente: criterio de Williams (29)

Preparación de los animales

Se preparó los animales para realizar el ensayo preclínico de toxicidad, para administrar por vía oral diferentes dosis de extracto etanólico, disponiendo de 20 ratas macho Holtzman, especie *Rattus rattus*, variedad Albina de 2 meses de edad, de peso entre 200 g.

Las ratas se separarán en 5 grupos acuerdo a la dosis a administrar, para su identificación se procedió a pintar en la cola de diferentes colores para diferenciarlos y observar sus reacciones, previo al ensayo 24 horas antes fueron sometidos en ayuno.

Preparación de Volumen para administrar

Se preparó la concentración del extracto seco etanólico de 150 mg/kg, las dosis que se emplearon para el presente ensayo preclínico fueron de 300 mg/kg, 5000 mg/kg y 15000 mg/kg de peso corporal, para calcular el volumen a administrar a los animales se procedió a pesar, obteniendo un

promedio de peso de 200 g; de acuerdo con el peso de cada rata se calculó el volumen que se le va a administrar por vial oral. ⁽³⁰⁾

Diseño experimental

Para determinar la toxicidad y Dosis Letal Media (DL50) en ratas machos Holtzman, especie *Rattus rattus*, variedad Albina del extracto etanólico de las inflorescencias de *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra) para cual se utilizaron 20 ratas, los cuales fueron distribuidos en 4 grupos, cada grupo está conformado por 5 ratas, 1 grupo de control y 3 grupos de experimentación, a los cuales se les administro dosis de 300mg/kg, 5000mg/kg y 15000mg/kg administrándoles el volumen calculado de acuerdo con el modelo experimental diseñado, fue administrado con un ayuno previo de 24 horas, por vía oral, a dosis de 300mg/kg, 5000mg/kg y 15000mg/kg de peso corporal, se dosificaron de acuerdo al peso de cada rata.

Los animales de experimentación fueron observados individualmente durante los primeros 30 minutos con especial atención durante las primeras 4 horas, teniendo en cuenta la presencia de signos o síntomas de toxicidad que se presente e incluye cambios en la piel y pelaje, ojos y membrana mucosa, sistema respiratorio, sistema nervioso autónomo y sistema nervioso central. Se tuvo mayor atención si presenta temblores, convulsiones, salivaciones, diarrea, sueño, coma, muerte ⁽³⁰⁾.

Tabla 3: Diseño experimental de toxicidad *Rattus rattus*

Grupo	Sustancia	Dosis	Nº de animales
Blanco	S.F. 0.9%	-	5
Control 1	Extracto	300 mg/kg	5
Control 2	Extracto	5000 mg/kg	5
Control 3	Extracto	15000 mg/kg	5

Fuente: Elaboración propia

3.10. Componente ético de la investigación

No hay conflicto de intereses por parte de las autoras y en todo momento se han considerado aspectos de autenticidad y respeto hacia la autoría de las fuentes de información.

3.11. Procesamiento y análisis de datos

Los datos recolectados posibilitaran la elaboración de una matriz a partir de la cual se analizara la información por medio del programa de software estadístico SPSS versión 21 de la compañía IBM con el cual se determinara la concentración letal en el 50% de la muestra de estudio (DL50) con los respectivos intervalos de confianza al 95%.

4. RESULTADOS

4.1. Del extracto etanólico del *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra)

4.1.1. Obtención de la humedad del extracto etanólico del *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra).

Se observa un 90% a un 95% de humedad de las inflorescencias del extracto etanólico del *Laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra).

Tabla 4. Rango del porcentaje de humedad

	PT	PF	P FINAL	PFSIN TARA	%H
1	32,7592	5,0000	33,2437	0,4845	90,31
2	44,9995	5,0000	45,4799	0,4804	90,39
3	34,8992	5,0000	35,3992	0,5000	90,00

Fuente: Elaboración propia

4.1.2. Prueba de solubilidad

Se muestra en el rango de solubilidad del extracto etanólico, observándose muy soluble en etanol 96%; soluble etanol 70%; poco soluble en metanol, hexano y son insolubles en agua destilada, acetona, cloroformo y benceno.

Tabla 5. Rango de la solubilidad

SOLVENTES	RESULTADOS
Agua destilada	-
Metanol	+
Etanol 70 %	++
Etanol 96 %	+++
Acetona	-
Benceno	-
Cloroformo	-
Hexano	+

Fuente: Elaboración propia

(+++Muy soluble ; (++) soluble; (+)poco soluble; (-)insoluble

4.1.2. Marcha fitoquímico

Se observa en el análisis fitoquímica cualitativa la identificación de metabolitos siendo en Abundante cantidad: alcaloides, glicósidos y carbohidratos, Regular cantidad: compuestos fenólicos, taninos y flavonoides; Poca cantidad: quinonas y saponinas.

Tabla 6. Rango de la marcha fitoquímica

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO	RESULTADO
Flavonoides	Shinoda	++
	Rosenheim	+
Carbohidratos	Molisch	+++
Glicósidos	Benedict	+++
Saponina	Espuma	+
	Lieberman	-
Alcaloides	Mayer	-
	Dragendorff	+++
	Sonnenschein	+++
Taninos	gelatina	+
Compuestos fenólicos	tricloruro férrico	++
Quinonas	Bortranger	+

Fuente: Elaboración propia

(+++)Abundante calidad; (++) regular cantidad; (+)poca cantidad; (-)escaso

4.2. Toxicidad del extracto etanólico del *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra)

4.2.1. Dosificación por grupo

Se dosificó por grupo de control de acuerdo al mg/kg y se registró para grupo1 (0.4ml), grupo 2 (7ml) y grupo3 (20ml).

Tabla 7. Rango de dosificación

Grupo	Sustancia	Dosis	Nº de animales	Concentración de dosis
Blanco	S.F. 0.9%	-	5	
Grupo 1	Extracto	300 mg/kg	5	0.4 ml
Grupo 2	Extracto	5000 mg/kg	5	7 ml
Grupo 3	Extracto	15000 mg/kg	5	20 ml

Fuente: Elaboración propia

Se muestra en la prevalencia por grupo de concentración del extracto, observándose que un 90% son vivos y el 10% son muertos.

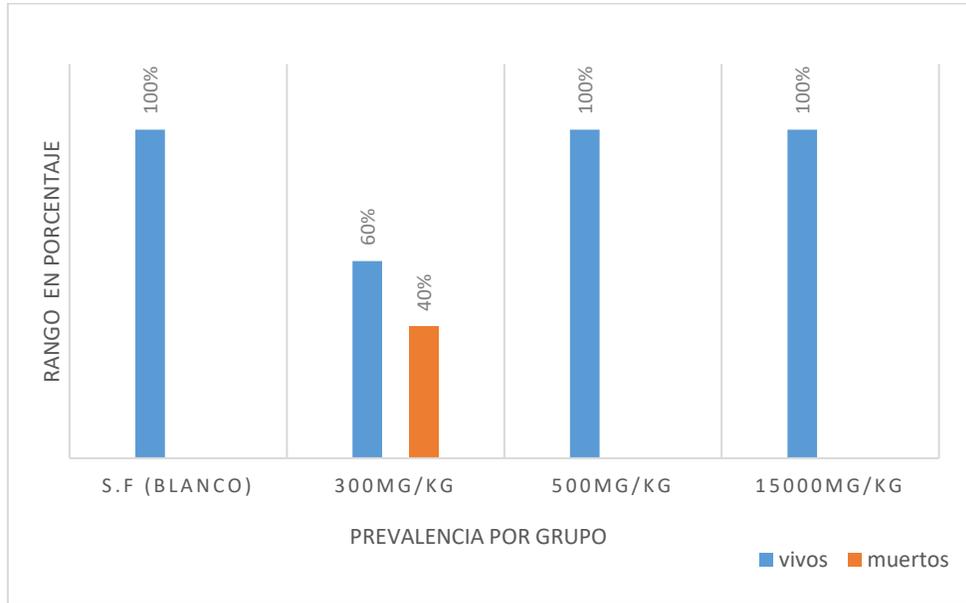
Tabla 8. Rango de prevalencia

Prevalencia	Frecuencia	Porcentaje
vivos	18	90%
muertos	2	10%

Fuente: Elaboración propia

4.2.2. Prevalencia por grupo

En este grafico se observa la prevalencia por grupo de concentración de dosis para determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las inflorescencias del *Laccopetalum giganteum* Ulbrich donde se registró un 100% en grupo de control, 100% en grupo2, 100% en grupo3 y 60% en el grupo 2 están vivos y en menor porcentaje un 40% en grupo 3.

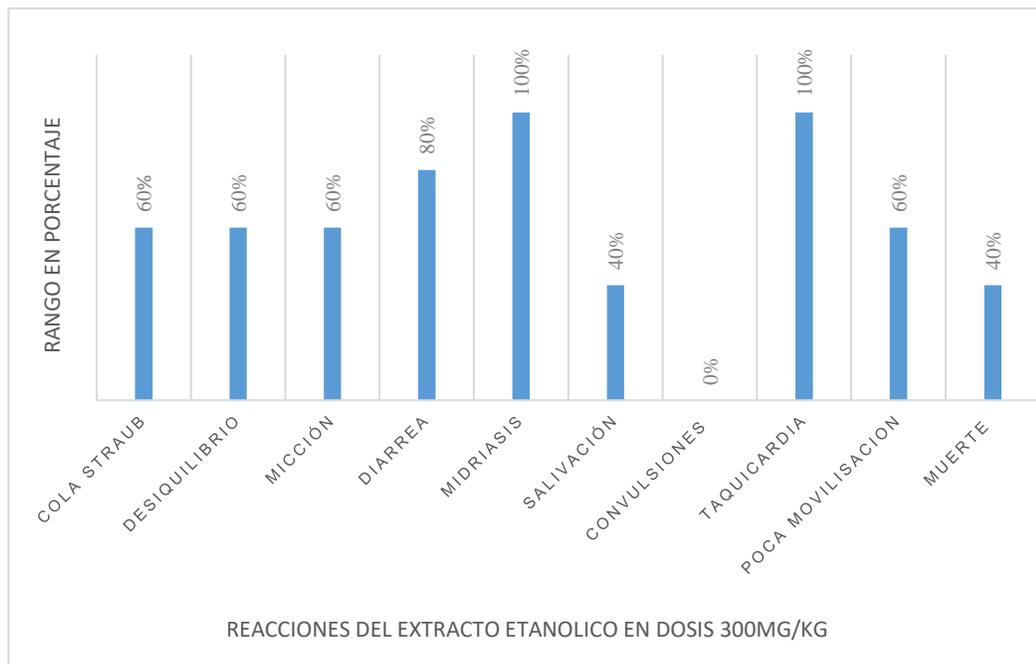


Fuente: Elaboración propia

Fig.1. Rango de prevalencia por grupo

4.2.3. Reacciones por dosis en tiempo

Se muestra las formas de reacciones determinadas dentro de los parámetros de toxicidad del extracto etanólico de las inflorescencias del *Laccopetalum giganteum Ulbrich* en el grupo1 (300 mg/kg), siendo taquicardia en un 100%, siguiendo con midriasis 100%, en un 80% diarrea, con un 60% en cola Straub, desequilibrio, micción y poca movilización; en un menor porcentaje es para salivación con 40% cada. Se registró con un 40% en muerte. Ver en la figura 2.

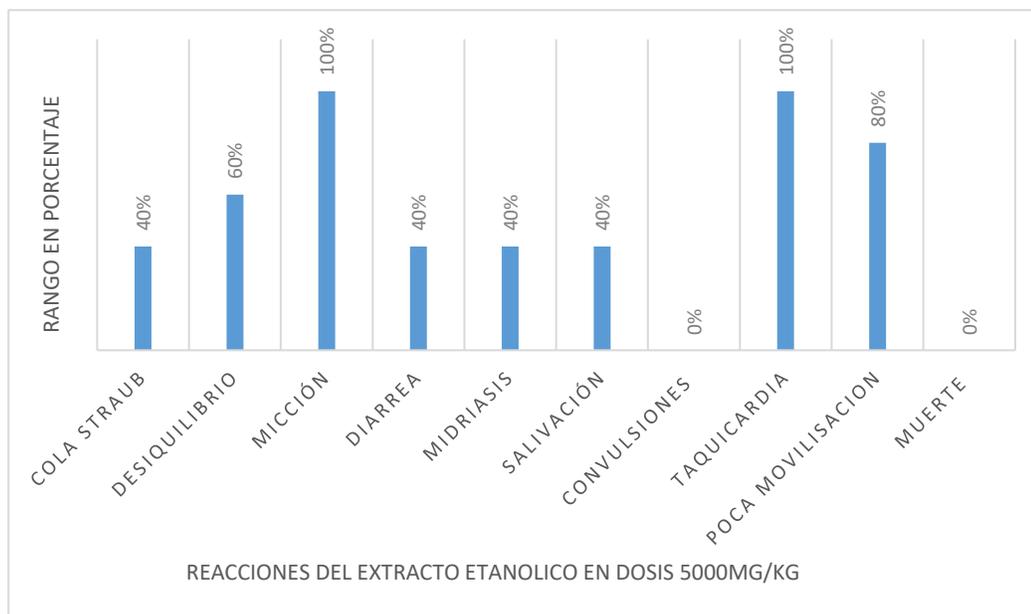


Fuente:

Elaboración propia

Fig.2. Rango de reacciones en dosis 300 mg/kg del extracto etanólico de *laccopetalum giganteum Ulbrich*.

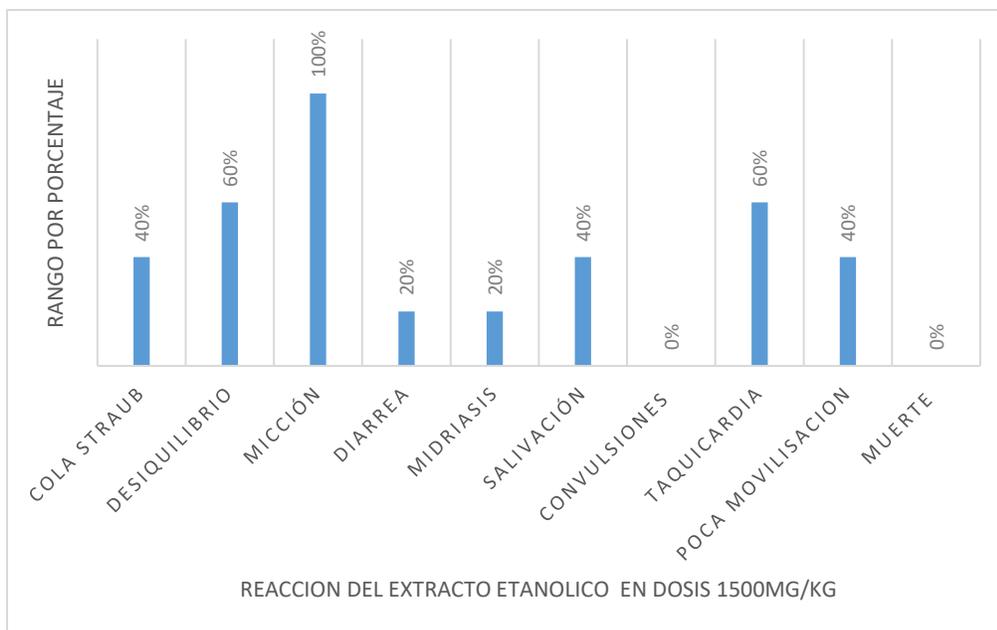
Se muestra las formas de reacciones determinadas dentro de los parámetros para la toxicidad aguda del extracto etanólico de las inflorescencias del *Laccopetalum giganteum Ulbrich* en el grupo2 (5000 mg/kg), siendo taquicardia en un 100%, siguiendo con micción 100%, con un 80% poca movilización, con un 60% en desequilibrio y el menor porcentaje es para cola Straub, diarrea, midriasis y salivación con 40% cada una.



Fuente: Elaboración propia.

Fig.3. Rango de reacciones en dosis 5000 mg/kg del extracto etanólico de *laccopetalum giganteum Ulbrich*

Se muestra las reacciones determinadas de parámetros para la toxicidad aguda del extracto etanólico de las inflorescencias del *laccopetalum giganteum Ulbrich* en el grupo3 (15000 mg/kg), observándose micción en un 100%, un 60% en desequilibrio y taquicardia, siguiendo con cola Straub y salivación en un 40% y en menor porcentaje es para diarrea y midriasis con 20% cada una.



Fuente: Elaboración propia

Fig.4. Rango de reacciones en dosis 15000 mg/kg del extracto etanólico de *laccopetalum giganteum Ulbrich*.

5. DISCUSIÓN

Las inflorescencias del *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) de la región de Ancash su uso en la medicina tradicional es a través de las infusiones de las flores contribuyendo a las inflamaciones de garganta, emplastos para artrosis aunque está propiedad a un no está reportada en las fuentes bibliográficas, razones para seguir complementando este estudio ⁽¹⁸⁾.

Las reacciones de la marcha fitoquímica realizadas en el extracto etanólico del *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) fueron de precipitación y coloración posibles indicadores para poder elegir una actividad atribuyente para un efecto deseado.

Los resultados de la toxicidad aguda letal media de del extracto etanólico de las inflorescencias del *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) donde de acuerdo a los datos obtenidos en las figuras 2, 3 y 4, nos indica el rango de reacción en el extracto natural de la dosis de 300 mg/kg de pacra-pacra, en la que se observó taquicardia en un 100%, siguiendo con midriasis 100%, en un 80% diarrea, con un 60% en cola Straub, desequilibrio, micción y poca movilización; en un menor porcentaje es para salivación con 40% cada. Se registró con un 40% en muerte. Con 5000 mg/kg siendo taquicardia en un 100%, siguiendo con micción 100%, con un 80% poca movilización, con un 60% en desequilibrio y el menor porcentaje es para cola Straub, diarrea, midriasis y salivación con 40% cada una. Y en dosis de 15000 mg/kg observamos micción en un 100%, un 60% en desequilibrio y taquicardia, siguiendo con cola Straub y salivación en un 40% y en menor porcentaje es para diarrea y midriasis con 20% cada una.

El presente estudio se realiza mediante el método CTA de la OECD ⁽²⁸⁾ y se comprobó bajo las condiciones experimentales es moderadamente toxico en dosis 300mg/kg.

6. CONCLUSIONES

- En el análisis fitoquímica del extracto etanólico del *laccopetalum giganteum Ulbrich.*, se obtuvo la presencia en abundante cantidad de alcaloides, glicósidos y carbohidratos; Regular cantidad: compuestos fenólicos, taninos y flavonoides; Poca cantidad: saponinas y quinonas.
- Se determinó el porcentaje de humedad del extracto etanólico del *laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra) en un 90% respectivamente.
- Se determinó el grado de toxicidad aguda por administración vía oral del extracto etanólico del *laccopetalum giganteum Ulbrich* (pacra-pacra), en dosis de 300 mg/kg en *Rattus rattus* es moderadamente toxico.
- En dosis de 5000mg/kg y 15000mg/kg es inocuo de toxicidad aguda en *Rattus rattus*.

7. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas corroborativas de los análisis histopatológicos de los tejidos en afección.
- Realizar concentraciones de ungüentos o cremas para determinar una mejor toxicidad del extracto etanólico de las inflorescencias del *laccopetalum giganteum* *Ulbrich* (pacra-pacra).
- Realizar estudios más profundos sobre el del *laccopetalum giganteum* *Ulbrich* (pacra-pacra) con el fin de obtener datos novedosos los cuales nos permitirá nuevas y profundas investigaciones que contribuyan con el conocimiento científico en favor de la salud y la población.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vaca, E.; Evaluación de la Toxicidad en *Artemias salinas* del extracto acuoso de las hojas de *Piper aduncum* L.; Trujillo 2019.
2. Smith GLE. “Tamizaje Fitoquímico Y Toxicidad Aguda En Ratones Albinos Cepa Balb C53 Del Extracto Etanólico De Hojas De *Momordica charantia* Linn. Published online 2018:1-60.
3. Aybar K, Ari V. Efecto antiinflamatorio y toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Nasa urens* (Jacq.) weigend (ortigo de las lomas) en animales de Experimentación,[Tesis Profesional] Lima:UIG; 2018.
4. Mamani C; Evaluación del efecto antiulceroso Y Toxicidad aguda del Extracto Hidroalcohólico Al 70 % de la corteza de *Triumfetta bogotensis* (Rata- Rata) En Animales Experimentación; [Tesis Profesional] Cusco 2017.
5. Machaca CF; Efecto toxicológico del jincho jincho (*Heracium neoherreræ*), altamisa (*Ambrosia arborescens*), diente de león (*Taraxacum officinale*), huiria huiria (*Pseudognaphalium spicatum*) y mishico (*Bidens andicola*) en ratas (*Wistar*), Rev. Investig. Altoandin.2014, Vol. 16 N° 1p.43 – 50.
6. Cabrera, Z; Varga, K; Factores que condicionan el uso de medicina natural por parte de los usuarios de plantas medicinales adquiridas en mercados del distrito de Cajamarca,[Tesis Profesional] Perú: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; Published online 2018.
7. Arroyo J, Barreda A, Ráez E, Jurado B, Moral G, Martínez J, Palomino Ch. Extracto etanólico de las flores de *Laccopetalum giganteum* (pacra-pacra) sobre la fertilidad en ratas. An Fac med., 68(3):238-43,2017.
8. Bussmann W. Plantas Medicinales de Los Andes y La Amazonia-La Flora Mágica y Medicinal Del Norte Del Perú; Ecuador Project Ethnobotany and Livelihoods in Madagascar and Eastern África.; 2015.
9. Erst AS, Sukhorukov AP, Mitrenina EY, et al. An integrative taxonomic approach reveals a new species of *Eranthis* (Ranunculaceae) in North Asia. PhytoKeys. 2020; 140:75-100.

10. Páez VD los A, Andrada AR. Análisis cariotípicos en dos especies de Halerpestes (Ranunculaceae) del Noroeste Argentino. Tucumán, Argentina: Andrada Instituto de Genética, Lilloa. 2019; 56(2):59-66.
11. Hao, Da-Cheng ; Él, Chun-Nian ; Shen, Jie ; Xiao, Pei-Gen. Quimiodiversidad anticancerígena de las plantas medicinales de las ranunculáceas: mecanismos y funciones moleculares, Bentham Science Publishers, 18(1), 2017, págs. 39-59 (21).
12. Almerikova S, Shchegoleva N, Abugalieva S, Turuspekov Y. The molecular taxonomy of three endemic central Asian species of ranunculus (Ranunculaceae). PLoS One. 2020; 15(10):1-15.
13. Malik J, Tauchen J, Landa P, et al. In vitro antiinflammatory and antioxidant potential of root extracts from Ranunculaceae species. South African J Bot. 2017; 109:128-137
14. Ruíz M, Mejía F. Plants Used in Traditional Medicine for Viral Respiratory Conditions. Rev. Rebiol. 2020; 40(1):109-130.
15. Castillo-Vera H, Cochachin E, Albán J. Plantas comercializadas por herbolarios en el mercado del distrito de Cajabamba (Cajamarca, Perú). Bol Latinoamericano y del Caribe Plantas Med.y Aromat. 2017; 16(3):303-318.
16. Huarcaya E, Pineda E. Características Principales Plantas Medicinales del Mercado Mayorista “LA PARADA” Lima en el Periodo Agosto 2019. [Tesis Profesional] Published online 2020.
17. Rodríguez, E. Aportes científicos al conocimiento de la flora de la región La Libertad, Perú. Sagasteguiana, 5(1):53-62,2017
18. Rodríguez, E; Laccopetalum giganteum (Ranunculaceae) una especie endémica en peligro del norte del Perú que necesita planes de conservación urgente; Herbarium Truxillense (HUT), Universidad Nacional de Trujillo, 2007.14 (1); 123-130.
19. Chávez, 1977 en Palacios, 1993; Fernández & Rodríguez, 2007.
20. Cronquist A. The evolution and classification of flowering plants. New York: The New York Botanical Garden; 1988; 3(1):555.
21. Villar L, Palacín J, Calvo C, Gómez J, Montserrat G. Plantas tóxicas de uso medicinal en el Pirineo Aragonés. Acta Biológica Montana. 1984; 4 (4):497–514.
22. Jiménez M. Toxicología fundamental.4ed. Sevilla: Díaz de santos; 2009.

23. Moreno Navarro I. Jornada de toxicología; España: Universidad de Sevilla, 2001.
24. De Blas Guerrero A. Fundamentos de Ciencia política. Ed.1997; UNED: 2016:476
25. Hernández R., Fernández C., Baptista P. Metodología de la Investigación. 5ª Edición. México: Mc Graw Hill. 2010.
26. Bruneton, J; Farmacognosia, fitoquímica de plantas medicinales.3ed. Zaragoza: ACRIBIA S.A.2001.
27. Ayuso, J. Flavonoides, Farmacognosia General; España: Sintesis; 1999, 209-217.
28. Method OECD N° 423 Guideline for the Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity Acute Toxic Class Method. 2001.
29. Arroyo J; Rojas J; Chenguayen E. Manual de modelos experimentales de farmacología. Lima-Perú: ASDIMOR Publicaciones; 2012. p. 55-131
30. Barreda A, Ráez E, Jurado B, Moral G, Martínez J, et al. Anales de la Facultad de Medicina. Anales de la Facultad de Medicina. 2007; 68(3):238–43.

Anexos

9. ANEXOS

9.1. Matriz de consistencia

Definición del problema	Objetivo	Hipótesis	Indicadores	Metodología
<ul style="list-style-type: none"> • Problema General ¿Cuál es la dosis letal media del extracto etanólico de las Inflorescencias de <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra) causante del efecto toxico agudo en ratas de la especie <i>Rattus rattus</i>? • Problemas Específicos ¿Qué metabolitos en el extracto etanólico de las Inflorescencias de <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra)? ¿Cuál será el porcentaje de mortalidad en ratas de la especie <i>Rattus rattus</i> dosificados con 300mg/kg, 5000mg/kg y 15000 mg/Kg de extracto etanólico de las Inflorescencias de <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra), basada en la dosis letal media? 	<ul style="list-style-type: none"> • Objetivo General Determinar la dosis letal media del extracto etanólico de las Inflorescencias de <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra) causante de efecto toxico agudo en ratas de la especie <i>Rattus rattus</i>. • Objetivo Específicos Identificar algunos metabolitos activos que se encuentren presentes en el extracto seco etanólico de las Inflorescencias de <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra). Determinar el porcentaje de mortalidad en ratas de la especie <i>Rattus rattus</i> dosificados con 300mg/kg, 5000mg/kg y 15000 mg/Kg de extracto etanólico de las Inflorescencias de <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra), basada en la dosis letal media. 	<ul style="list-style-type: none"> • Hipótesis Principal El extracto etanólico de las Inflorescencias de <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra) causa toxicidad aguda en ratas de la especie <i>Rattus rattus</i>. • Hipótesis Específicos Los metabolitos activos se encuentran presentes en el extracto etanólico de las Inflorescencias de <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra). El porcentaje de mortalidad en ratas de la especie <i>Rattus rattus</i> dosificados con 300mg/kg, 5000mg/kg y 15000mg/Kg de extracto etanólico de las Inflorescencias de <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra) tienen toxicidad basada en la dosis letal media. 	<ul style="list-style-type: none"> • 300mg/kg, 5000mg/kg y 15000 mg/Kg • El 50% de <i>Rattus rattus</i> muertos según estudios de probabilidad. 	<ul style="list-style-type: none"> • Tipo de investigación Experimental • Diseño de investigación Experimental • Laboratorio de la universidad María Auxiliadora • Población y muestra <i>Rattus rattus</i> especie <i>Laccopetalum giganteum</i> Ulbrich (pacra-pacra).

9.2. Instrumentos de recolección de datos

Anexo n°1: validación del instrumento de recolección

ANEXO N°
VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	()	() (✓)
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	()	() (✓)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	()	()	() (✓)
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	()	()	() (✓)
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	()	() (✓)
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	()	()	() (✓)

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

.....
.....

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

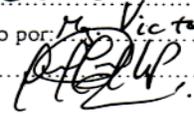
.....
.....

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....
.....

Fecha: 08-01-2020

Validado por: M. Victor H. Chen Pacheco

Firma: 

ANEXO N°

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	(*)	()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	(*)	()	()
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	(*)	()	()
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	(*)	()	()
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	(*)	()	()
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	(*)	()	()

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

.....
.....

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

.....
.....

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....
.....

Fecha: 2019-11-20

Validado por: Dr. Jonnel Samaniego Jorgelin

Firma: 

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

< 50 – 50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100

1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto? < 50 50 60 70 80 90 100
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema? < 50 50 60 70 80 90 100
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos? < 50 50 60 70 80 90 100
4. ¿En qué porcentaje los ítems de la prueba son de fácil comprensión? < 50 50 60 70 80 90 100
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica? < 50 50 60 70 80 90 100
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares con otras muestras? < 50 50 60 70 80 90 100

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?
.....
2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?
.....
3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?
.....

Fecha: 20-02-2020
Validado por: Dr. Edwin Rodríguez
Firma: 

UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA

FICHA DE OBSERVACIÓN – RECOLECCIÓN DE DATOS

TOXICIDAD AGUDA BASADA EN LA DOSIS LETAL MEDIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS INFLORESCENCIAS DE *Laccopetalum giganteum* Ulbrich (pacra-pacra) EN RATAS DE LA ESPECIE *Rattus rattus*

INDICACIONES

- Antes de iniciar con la parte experimental verificar que el laboratorio cuente con todo el implemento, accesorios, materiales, muestra y otros.
- Las investigadoras deben estar en buen estado emocional y somático.
- Las investigadoras deben realizar las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad.
- Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
- Los espacios que no son llenados, tacharlos con una línea.

1-DATOS GENERALES:

NÚMERO DE FICHA:

EDAD:.....

SEXO:.....

PESO:.....

COLOR:.....

RAZA:.....

2- DATOS ESPECÍFICOS:

HORA DE ADMINISTRACIÓN:.....

HORA DE TÉRMINO:.....

PROCEDIMIENTO EVALUADO:

CONTROL SF 0.9%

DOSIS 300mg/kg

DOSIS 5000 mg/kg

DOSIS 15000 mg/kg

PARAMETROS /TIEMPO	Basal	30 min	60min	90 min	120 min	180 min	240min
Muertos							
Vivos							
Observaciones							

REACCIONES DE CADA GRUPO SEGÚN DOSIS:

Parámetros	Tiempo					
	30 min	60min	90 min	120 min	180 min	240min
normalidad						
cola Straub						
Desequilibrio						
Micción						
Diarrea						
Midriasis						
Salivación						
Convulsiones						
poca movilización						
taquicardia						
muerte						
Observaciones						

Anexo nº3:

Resultados de solventes del extracto etanólico

SOLVENTES	RESULTADOS
Agua destilada	
Metanol	
Etanol 70 %	
Etanol 96 %	
Acetona	
Benceno	
Cloroformo	
Hexano	
Éter etílico	

Resultados de metabolitos secundarios del extracto etanolico

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO	RESULTADO
Flavonoides	Shinoda	
	Rosenheim	
Carbohidratos	Molisch	
Glicósidos	Benedict	
Saponina	Espuma	
	Lieberman	
Alcaloides	Mayer	
	Dragendorff	
	Sonnenschein	
Taninos	gelatina	
Compuestos fenólicos	tricloruro férrico	
Quinonas	Bortranger	

Dosificación por dosis

Grupo	Sustancia	Dosis	Nº de animales	Concentración de dosis
Blanco	S.F. 0.9%	-		
Control 1	Extracto	300 mg/kg		
Control 2	Extracto	5000 mg/kg		
Control 3	Extracto	15000 mg/kg		

Anexo n°4: Formato de Recolecion De Resultados

Resultados por dosis en el tiempo determinado en la obtencion de datos para determinar la toxicidad aguda del extracto etanolico de las inflorescias del *laccopentalum giganteum* Ulbrich.

Grupo 1	Dosis 300mg/kg					
Parámetros	30 min	60min	90 min	120 min	180 min	240min
normalidad	5	0	0	0	0	0
cola Straub	0	2	0	2	3	3
Desiquilibrio	0	0	0	3	3	3
Micción	0	3	0	0	3	3
Diarrea	0	1	0	3	3	0
Midriasis	0	5	3	3	3	3
Salivación	0	3	0	0	0	3
Convulsiones	0	0	0	0	0	0
poca movilizacion	0	3	1	3	3	3
taquicardia	5	3	3	3	3	3

TIEMPO / PARAMETROS	30 min	60min	90 min	120 min	180min	240 min
Muertos	0	2	0	0	0	0
Vivos	5	3	3	3	3	3

Grupo2	Dosis 5000mg/kg					
Parámetros	30 min	60min	90 min	120 min	180 min	240min
normalidad	5	0	0	0	0	0
cola Straub	0	0	0	0	2	2
desiquilibrio	0	0	0	3	3	3
Micción	0	5	5	5	5	5
Diarrea	0	0	0	2	2	0
Midriasis	0	0	0	2	2	2
Salivación	0	0	1	1	2	2
Convulsiones	0	0	0	0	0	0
poca movilisacion	0	0	0	0	4	4
taquicardia	3	3	3	4	5	5

TIEMPO / PARAMETROS	30 min	60min	90 min	120 min	180min	240 min
Muertos	0	0	0	0	0	0
Vivos	5	5	5	5	5	5

Grupo 3	Dosis 15000mg/kg					
Parámetros	30 min	60min	90 min	120 min	180 min	240min
normalidad	5					
cola Straub	0	0	0	0	2	2
desiquilibrio	0	0	0	3	3	3
Micción	0	0	5	5	5	5
Diarrea	0	0	1	1	1	1
Midriasis	0	0	0	0	0	1
Salivación	0	0	0	0	2	2
Convulsiones	0	0	0	0	0	0
poca movilizacion	0	0	0	0	2	2
taquicardia	2	2	2	2	3	3

TIEMPO / PARAMETROS	30 min	60min	90 min	120 min	180min	240 min
Muertos	0	0	0	0	0	0
Vivos	5	5	5	5	5	5

Anexo n°5: Certificación de la especie vegetal *laccopentalum giganteum* Ulbrich.



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



"Año de la Universalización de la Salud"

CONSTANCIA N° 07-USM-2020

LA JEFA (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa) recibida de Angélica María Hernández Guevara, bachiller de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada y clasificada como: *Laccopetalum giganteum* Ulbrich y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: MAGNOLIIDAE

ORDEN: RANUNCULALES

FAMILIA: RANUNCULACEAE

GENERO: *Laccopetalum*

ESPECIE: *Laccopetalum giganteum* Ulbrich

Nombre Vulgar: Pacra-pacra
Determinado por Dr. Asunción A. Cano Echevarría

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

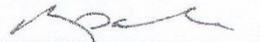
Lima, 15 de enero de 2020



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

JAC/yr.

Anexo n°6: Certificación de la especie animal

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO
CERTIFICADO SANITARIO N° 033-2020	
Producto : Rata albina	Lote N° : R - 03 - 2020
Especie : <u>Rattus rattus</u>	Cantidad : 20
Cepa : Holtzman	Edad : 2 meses 1/2
Peso : 200 g.	Sexo : macho
G.R. : 0038721	Destino : Hernández Guevara, Angelica
Fecha : 02- 03 - 2020	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández Coordinador de Bioterio, Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, cuarentena y control Sanitario para animales de experimentación.</p>	
Chorrillos, 02 de marzo del 2020 (Fecha de atención y emisión del certificado)	
NOTA: El bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.	 M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586

Anexo n°7: Recoleccion de la muestra vegetal

Planta *laccopentaleum giganteum* (pacra-pacra) en su habitat departamento de Ancash provincia de Pallasca distrito de conchucos.



Fuente: Elaboración propia

Fig.5 Recolección de muestra vegetal *laccopentaleum giganteum* (pacra-pacra) en su habitat.

Anexo n°8: Preparacion del extracto etanolico *laccopentaleum giganteum* (pacra-pacra) en el laboratorio de la universsidad Maria Auxiliadora.



Fuente: Elaboración propia

Fig.6. Preparacion del extracto etanolico *laccopentaleum giganteum* (pacra-pacra).

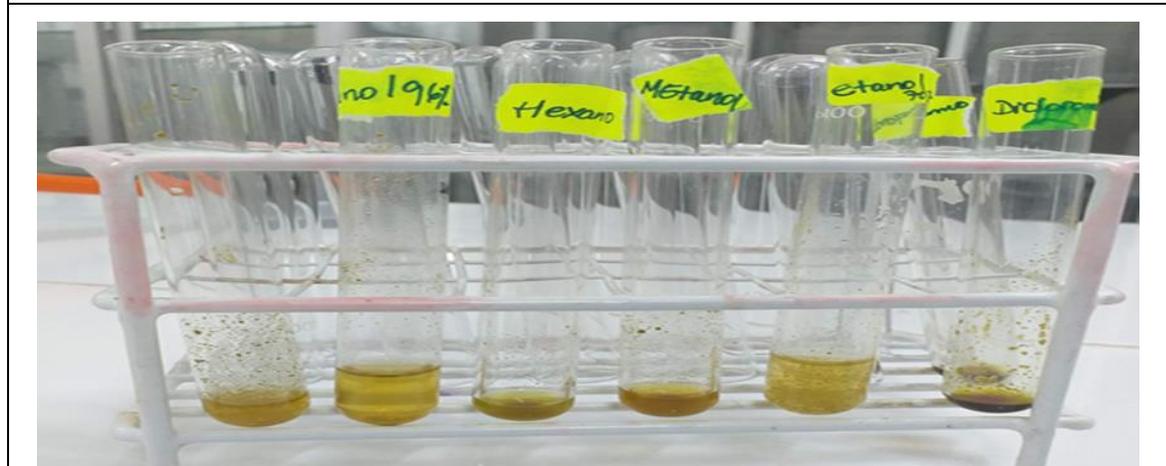
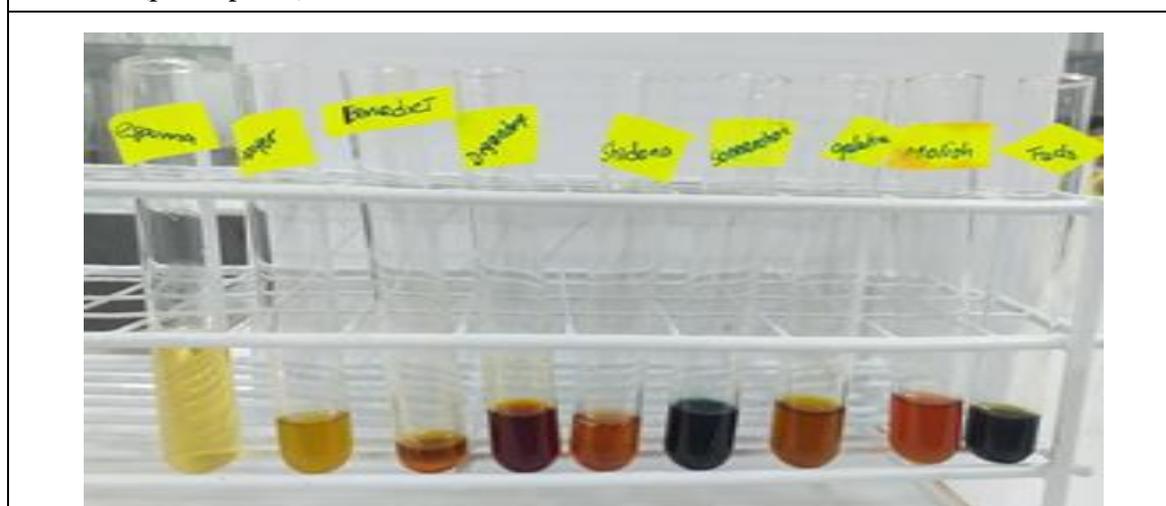


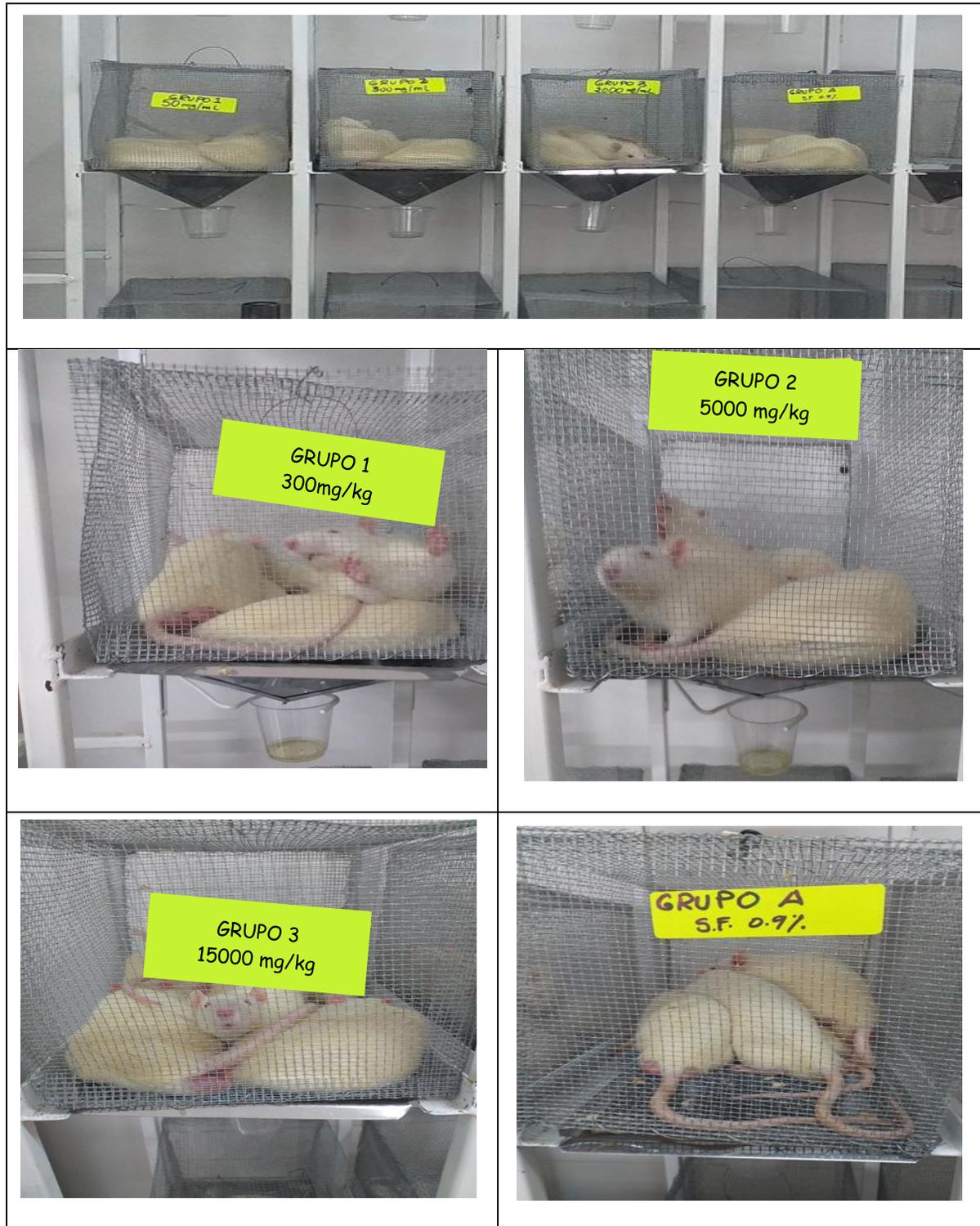
Fig.7 Prueba de solubilidad del extracto etanólico del *laccopentaleum giganteum* (pacra-pacra).



Fuente: Elaboración propia

Fig.8 Analisis fitoquimico del extracto etanólico del *laccopentaleum giganteum* (pacra-pacra).

Anexo n°10: Procedimiento de administracion del extracto Toxicidad por grupos en *Rattus rattus*



Fuente: Elaboración propia

Fig.9 Administracion oral por grupos del extracto etanolico del *laccopentaleum giganteum* (pacra-pacra) en *Rattus rattus*.