



Universidad
Norbert Wiener

Powered by Arizona State University

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

TESIS

Evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”

Para optar el Título profesional de

Químico Farmacéutico

Presentado por:

Autora: Br. Espinoza-Rivera, Julia

Código ORCID: 0009-6255-4099

Autora: Br. Serván Meléndez, Janet

Código ORCID: 0005-4333-542X

Asesora: Dra. Chávez Flores, Juana Elvira

Código ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6206-3398>

Lima – Perú

2022

 Universidad Norbert Wiener	DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN		
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033	VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01	FECHA: 08/11/2022

Yo, Julia Espinoza Rivera egresada de la Facultad de Farmacia y Bioquímica y escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico **“EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”** * Asesorado por el docente: Dra. Juana Elvira Chávez Flores, DNI 09419262 N° ORCID: 0000-0001-8618-4565 tiene un índice de similitud de 9 % con código Oct 30,2023 4:13 PM GMT-5 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



.....
 Julia Espinoza Rivera
 DNI: 09033856



.....
 Dra. Juana Elvira Chávez Flores
 DNI: 09419262

 Universidad Norbert Wiener	DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN		
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033	VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01	FECHA: 08/11/2022

Yo, Serván Meléndez Janet egresada de la Facultad de Farmacia y Bioquímica y escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico “EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” * Asesorado por el docente: Dra. Juana Elvira Chávez Flores, DNI 09419262 N° ORCID: 0000-0001-8618-4565 tiene un índice de similitud de 9 % con código Oct 30,2023 4:13 PM GMT-5 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



.....
 Serván Meléndez Janet
 DNI: 442381584



.....
 Dra. Juana Elvira Chávez Flores
 DNI: 09419262

DEDICATORIA

A Dios mi divino omnipotente dedico la tesis, sin él no soy nada. A mis padres Maximiliana y Rodrigo que fomentaron los valores de humildad, perseverancia y el deseo de superación en la vida, hoy miro el cielo donde dos luceros de perenne brillo me acompañan en este caminar intelectual de inspiración. A mis hermanos (a) por su apoyo incondicional desde siempre. Mi esposo Elmer que junto a mí se desvelaba acompañando para no decaer y mis hijos con su alegría, el principal motor de mis logros Jhimmi, Franci y Viviana. A todos los que han contribuido a la consecución de este logro.

Br. Espinoza Rivera, Julia.

DEDICATORIA

En primera línea dedicada la tesis al principal verbo Dios Divino por haberme brindado la fortaleza y los anhelos de continuar en el camino de la ciencia de investigación sin desfallecer para alcanzar mis metas. A mis progenitores, mi Madre, por el enjambre de amor y apoyo absoluto a pesar de la distancia física, me ha permitido tomar su ejemplo con empeño y valentía de perseguir mi sueño. También a mis hermanos y a toda mi familia, por este momento importa lograr mis objetivos de mi formación profesional.

Br. Serván Meléndez, Janet

AGRADECIMIENTOS

Damos gracias a Dios por la sabiduría derramada desde los cielos; asimismo, nuestra fortaleza es la palabra viva, “pero los que esperan a Jehová tendrán nuevas fuerzas; levantarán alas como las águilas; correrán, y no se cansarán; caminarán, y no se fatigarán. Isaías 40:31”. Confiado en el altísimo, el camino es liviano, principalmente cuando se puede compartir y ayudar; así mismo cuando somos ayudados y guiados en nuestras vidas, por lo cual se agradece especialmente a nuestra consejera Dra. Juana Elvira Chávez Flores, que nos brindó la ocasión de requerir a su capacidad y el honor de ser nuestra guía en el desarrollo de la tesis con su conocimiento científico, experiencia y aportes en bien de la salud; así como también de haber tenido la severidad, exigencia y paciencia para orientarnos hacia el logro del objetivo.

A todos los que con sabios consejos alentaron nuestros estudios universitarios y a lo largo de nuestra formación profesional, infinitamente gracias a nuestros maestros. La tesis no es un trabajo fácil, por lo que afirmamos que durante el desarrollo pudimos disfrutar de cada momento de la investigación y procesos; alimentaron nuestros conocimientos preexistentes. A todos los amigos profesionales que estuvieron con admirable participación y oportuna ayuda de buena disposición con los recursos de obtención de datos. De igual modo a Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña. Mg. José Fernando Salvador Carrillo. Dr. Nesquen José Tasayco Yataco. Mg. Pedro Yvan Saenz Rivera. A todos que se sumaron con su aporte en la presente tesis experimental, brindando un granito de arena directa o indirectamente a la culminación de la investigación, expresamos nuestras más grandes y sinceros agradecimientos a cada uno y Dios los bendiga.

Br. Espinoza Rivera, Julia.

Br. Serván Meléndez, Janet.

ÍNDICE GENERAL

Título.....	ii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos	v
Índice (General, de tablas y figura).....	vi
Resumen.....	xii
Abstract.....	xiii
Introducción.....	xiii
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA.....	1
1.1 Planteamiento del problema	1
1.2 Formulación del problema.....	2
1.2.1 Problema general	2
1.2.2 Problemas específicos.	2
1.3 Objetivos del estudio.....	3
1.3.1 Objetivo general:.....	3
1.3.2 Objetivos específicos.....	3
1.4 Justificación de la Investigación	3
1.4.1 Aspecto teórico	3
1.4.2 Aspecto metodológico	4
1.4.3 Aspecto práctico	4
1.5 Limitaciones de la investigación.....	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes de la investigación.	6
2.2. Bases teóricas.	13

2.3. Formulación de hipótesis.....	26
2.3.1. Hipótesis general.....	26
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	26
3.1. Método de investigación	26
3.2. Enfoque investigativo	26
3.3. Tipo de Investigación.....	27
3.4. Diseño de la investigación.....	27
3.5. Población, muestra y muestreo.	27
3.6. Variables y operacionalización	30
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	32
3.7.1. Técnicas	32
3.7.2. Descripción.....	32
3.7.3. Validación.	41
3.7.4. Confiabilidad.	41
3.8. Procesamiento y análisis de datos.	41
3.9. Aspectos éticos.	42
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	43
4.1. Resultados.	43
4.1.1. Análisis descriptivo de resultados.	43
4.1.2. Prueba de Hipótesis.	55
4.1.3. Discusión de resultados	61
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	66
5.1. Conclusiones	66
5.2. Recomendaciones.	67
REFERENCIAS.....	68

ANEXOS

ANEXO 1: Matriz de consistencia

ANEXO 2: Instrumento para recolección de datos

ANEXO 3: Certificación de validez del contenido de los instrumentos

ANEXO 4: Confiabilidad de los Instrumentos

ANEXO 5: Constancia de aprobación del comité de ética.

ANEXO 6: Constancia de la Identificación botánica.

ANEXO 7: Procesos de transformación del vegetal en extracto

ANEXO 8: Fases de la evaluación de toxicidad aguda

ANEXO 9: Procedimiento de anatomopatológico

ANEXO 10: Resultado de la solubilidad del extracto etanólico

ANEXO 11: Análisis cualitativo del extracto

ANEXO 12: Informe del análisis hematológico

ANEXO 13: Los órganos diana de *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”

ANEXO 14: Análisis anatomopatológico de órgano de *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” en hembras y machos.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Nombres científicos, común de la familia Olacaceae en Perú.....	15
Tabla 2: Nombres en América <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”	16
Tabla 3: Escalas de toxicidad y las vías de administración	23
Tabla 4: Reemplazando a cada parámetro.....	28
Tabla 5: Valoración de toxicidad aguda en función a la dosis	32
Tabla 6: Aleatoriamente agrupados animales de experimentación.....	36
Tabla 7: Valores referenciales hematológicos	38
Tabla 8: Procesamiento y determinación de la línea roja	38
Tabla 9: Procesamiento y recuento de leucocitos en líquido de Türk.....	39
Tabla 10: La solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.	43
Tabla 11: Análisis cualitativo de metabolitos de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”	44
Tabla 12: Resultado de la observación de Test de Irwin a <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”	45
Tabla 13: Resultado de observación macroscópica de los órganos tratados y blanco de <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”	46
Tabla 14: Parámetros hematológicos en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratadas con extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.	47
Tabla 15: Distribución del peso promedio de <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratadas con extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” según fechas.	48
Tabla 16: Prueba t de Student para la igualdad de medias.....	56
Tabla 17: Análisis del efecto de Toxicidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia</i> <i>guianensis</i> Aubl “huacapú”	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Distribución geográfica nivel mundial de la familia olacaceae.....	14
Figura 2: Foto autoría: (A). Género <i>Minquartia</i> único.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 3: Fotografía autoría (A) y (B). Fuente de revisión (C). La geografía de la recolección de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “Huacapú”.....	18
Figura 4: Fotografía de investigadores.....	19
Figura 5: Obtención del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”	33
Figura 6: Análisis cualitativo y la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”	34
Figura 7: Procesamiento de las técnicas para la evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”	35
Figura 8: Procedimiento de las técnicas histopatológico de los tejidos.....	40
Figura 9: Se mostraron la distribución del peso promedio de <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratadas con extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” según fechas.....	49
Figura 10: Se mostraron el valor promedio del recuento de hematíes en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental. ...	49
Figura 11: Se mostraron el valor promedio de hemoglobina en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratadas con el extracto etanólico experimental.	50
Figura 12: Se mostraron el valor promedio del % de hematocritos en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental	51
Figura 13: Se mostraron el valor promedio del número de leucocitos en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.	51

Figura 14: Se mostraron el valor promedio de linfocitos en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.....	52
Figura 15: Se presentaron el valor promedio de monocitos en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.....	53
Figura 16: Se presentaron el valor promedio de neutrófilos en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.....	53
Figura 17: Se presentaron el valor promedio de eosinófilos en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.....	54
Figura 18: Se muestra los resultados de los órganos de <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”	60

RESUMEN

Las plantas medicinales usadas como alternativas terapéuticas, contienen compuestos fitoconstituyentes que sustituyen a los fármacos en la medicina tradicional de los pueblos amazónicos, siendo utilizados de modo empírico. La administración excesiva de dichas plantas puede provocar intoxicación y arriesgar la salud. **Objetivo:** Evaluar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”. **Metodología:** Se desarrolló el método analítico, enfoque cuantitativo, tipo aplicada y diseño experimental. El extracto etanólico extraídas de hojas de “huacapú” fue estudiado en una muestra de 30 ratas. El análisis cualitativo fitoquímico fue realizado mediante técnicas de recolección, maceración, extracción e identificación de metabolitos secundarios. Para el estudio de la toxicidad aguda (dosis límite 2000 mg/kg) fueron administrados a 20 ratas vía oral (extracto etanólico/dosis única) y a 10 ratas vía oral (agua destilada). Se utilizó el test de Irwin y como resultado hubo manifestaciones clínicas, fisiológicas y comportamentales. Las ratas permanecieron en observación durante 14 días y el día 15 fue realizado la eutanasia, se extrajo la sangre intracardiaca para un análisis hematológico, así como, la evisceración para un análisis anatomopatológico. **Resultado:** No se registró ninguna muerte de la especie, no se observaron alteraciones hematológicas no significativas, ni lesiones anatomopatológicas, siendo el test de Irwin normal. **Conclusión:** El extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”, a una dosis de 2000 mg/kg, no presentó toxicidad aguda, según los cortes anatomopatológicos, hematológico y test de Irwin, por lo cual sería complementar la investigación posteriormente.

Palabras claves

Minquartia guianensis Aubl “huacapú”, toxicidad aguda, test de Irwin, anatomopatológicos, análisis hematológico.

ABSTRACT

Medicinal plants used as therapeutic alternatives contain phytoconstituent compounds that replace drugs in the traditional medicine of Amazonian peoples, being used empirically. Excessive administration of these plants can cause poisoning and risk health. Objective: To evaluate the acute toxicity of the ethanolic extract of the leaves of *Minqartia guianensis* Aubl "huacapú" in *Rattus norvegicus* Var "Holtzman". Methodology: The analytical method, quantitative approach, applied type and experimental design were developed. The ethanolic extract extracted from "huacapú" leaves was studied in a sample of 30 rats. The qualitative phytochemical analysis was carried out using techniques of collection, maceration, extraction and identification of secondary metabolites. For the acute toxicity study (limit dose 2000 mg/kg) it was administered to 20 rats orally (ethanolic extract/single dose) and to 10 rats orally (distilled water). The Irwin test was used and as a result there were clinical, physiological and behavioral manifestations. The rats remained under observation for 14 days and on day 15 they were euthanized, intracardiac blood was extracted for a hematological analysis, as well as evisceration for anatomopathological analysis. Result: No death of the species was recorded, no non-significant hematological alterations or pathological lesions were observed, the Irwin test being normal. Conclusion: The ethanolic extract of the leaves of *Minqartia guianensis* Aubl "huacapú", at a dose of 2000 mg/kg, did not present acute toxicity, according to the anatomopathological, hematological and Irwin test sections, for which it would be necessary to continue the investigation later.

Keywords

Minqartia guianensis Aubl "huacapú", acute toxicity, Irwin test, adapted for rats, hematological, pathological, histopathological analysis.

INTRODUCCIÓN

El origen de las plantas medicinales y la toxicidad se remonta al comienzo de la humanidad, ante la urgencia de auxilio del ser humano que se ve forzado a consumir vegetales de procedencia nativa; algunos son perjudiciales para la salud como consecuencia el efecto de intoxicaciones⁽¹⁾. La Organización Mundial de la Salud (OMS) refuerza, mediante políticas, el propósito terapéutico y el uso de vegetales con propiedades farmacológicas basados en prácticas ancestrales y creencias utilizadas para conservar la salud⁽²⁾. Los elementos de la biogeografía del Perú y el legado histórico se combinan en las plantas medicinales de las regiones tropicales, así como vegetales endémicos con propiedades medicinales como *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”. La región Loreto-Amazónica mantiene tradiciones en el uso de plantas de fácil acceso con el objetivo de solucionar los problemas de salud de inmediato auxilio debido a lo económico^(3,4). Los estudios se centran en describir los efectos tóxicos y la utilidad tradicional, además existiría escasa información sobre la toxicidad potencial de las especies endémicas peruanas. No obstante, los estudios de toxicidad están realizados en otros vegetales^(2,3). Los habitantes de la ribera del río Huallaga sufren acceso al servicio de salud, recurren a vegetales de acuerdo a su necesidad, a los cuales son atribuidas propiedades terapéuticas, así como al árbol *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” utilizado para la anemia, malaria y reumatismo. El desconocimiento de la eficacia, seguridad y dosis puede alterar los órganos vitales, lo que puede conducir a la intoxicación, exponiendo un riesgo a la vida. La cuestión fundamental del estudio experimental es ¿cuál es el grado de toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”?, la investigación se desarrolla en capítulos. A continuación, se presenta el capítulo I: Los problemas describen el uso, causa y consecuencia de la intoxicación por plantas medicinales, así como los objetivos. En el capítulo II: Marco teórico de estudio: Revisión literaria sobre el origen de la especie, las teorías conceptuales y la toxicidad aguda. El capítulo III incluye: La metodología de la investigación. Se aplicaron las técnicas, instrumentos y el desarrollo de toxicidad aguda mediante el diseño experimental de la dosis única por vía oral descrita (OECD 423)^(5,6). En el capítulo IV se encuentran: Discusión de los resultados: El análisis y la representación de los resultados de la investigación. En el capítulo V: Finalmente las conclusiones y recomendaciones.

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

Existen pocas publicaciones sobre la intoxicación de vegetales en general. La toxicidad indica el nivel de xenobióticos que puede causar una lesión y poner en peligro la vida cuando entra en contacto con la superficie corporal. A saber, Se trata de los ojos, mucosa del sistema digestivo, piel y la mucosa del sistema respiratorio. El análisis de la dosis es importante para determinar cuán tóxica puede ser una sustancia⁽⁷⁾. En la historia, la diversidad de las plantas que existen en la tierra ha facilitado la confusión, ya que al utilizarlas con fines alimentarios y medicinales, esta realidad es tan antigua como la humanidad⁽¹⁾. Actualmente, los vegetales tienen una gama de utilidad, por lo que se está investigando el potencial de los fitoconstituyentes. En Latinoamérica, se optan voluntariamente por costumbres en las que utilizando partes de un árbol, las hojas, raíz o la corteza como solución a su problema de salud, que se incrementa el uso por bajo costo y se expone a una posible sustancia tóxica por desconocimiento^(2,3).

En Perú, las especies vegetales utilizadas como opción medicinal, son de notable importancia histórica, actualmente debido a la falta de conocimiento sobre el potencial fitoconstituyentes y la tradicional administración empírica, produce manifestaciones clínicas de intoxicación de poca información. La investigación de los bioactivos puede generar beneficios farmacológicos si se confirma la investigación científica⁽³⁾. La región Loreto es un nicho de biodiversidad con una única característica de plantas medicinales exóticas y endémicas, en la cual la investigación farmacológica de plantas no es una prioridad para los organismos gubernamentales ni las universidades. En tal caso, los datos sobre la toxicidad de las especies medicinales peruanas son escasos^(2,4).

Las comunidades que se encuentran en los márgenes del río navegable del Huallaga en la cual se encuentra la comunidad Pacasmayo, jurisdicción de la región Loreto, tienen dificultades geográficas, sociales y económicas. Los pobladores de la comunidad utilizan plantas medicinales para solucionar problemas de salud mediante el saber transmitido oralmente. El caso de *Minquartia guianensis* Aubl, conocido como “huacapú” es una especie endémica de la Amazonía peruana. La aplicación de terapias inadecuadas con dosis empíricas puede provocar una

intoxicación al organismo. Esta acción impide la capacidad de sus propiedades que contiene la especie vegetal, así como la falta de documentación de eficacia y de su margen de seguridad. Los factores motivan la evaluación del compuesto químico, farmacológica y clínicamente, basado en las metodologías científicas para el uso adecuado, validar los conocimientos ancestrales amazónicos y en particular del centro poblado Pacasmayo-Loreto, donde se utiliza y se recolecta la especie. Se plantean las interrogantes de acuerdo con lo expuesto.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Cuál es el grado de toxicidad aguda que tiene el extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”?

1.2.2 Problemas específicos:

1. ¿Cuál es el solvente adecuado para solubilizar el extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”?
2. ¿Qué reactivos identifican los metabolitos mediante reacciones de precipitación y coloración en el extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”?
3. ¿Cuál método se utiliza en la evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”?
4. ¿Cuáles son los parámetros que se utilizan para los estudios hematológicos en la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”?

5. ¿Cuál técnica se utiliza para el análisis anatomopatológico en la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”?

1.3 Objetivos del estudio

1.3.1 Objetivo general

Evaluar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

1.3.2 Objetivos específicos:

1. Realizar pruebas de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”.
2. Realizar procedimientos de precipitación y coloración de los metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”.
3. Determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.
4. Analizar los parámetros hematológicos para evaluar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.
5. Realizar los cortes anatomopatológicos de los tejidos para determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

1.4 Justificación de la Investigación

1.4.1 Aspecto teórico

La exploración de toxicidad en vegetales ha cobrado importancia en los últimos tiempos debido al consumo de plantas medicinales por parte de la humanidad. La Organización de las Naciones Unidas se fundamenta en la aplicación de referencias sobre las estrategias de la medicina tradicional en la investigación científica, lo que permite validar

científicamente el uso del vegetal, previniendo el grado de toxicidad y posteriormente, disponer de recursos alternativos que contribuyen al mejoramiento de la salud y calidad de vida de la población^(2,5). Social: Las organizaciones se concentran en la solución de una serie de necesidades de la salud pública.

Los resultados de la evaluación de toxicidad aguda, como es el caso de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”, benefician a la sociedad civil y científica^(1,3). Económico: El uso adecuado de la dosis reduce los costos de hospitalización por intoxicación de la comunidad. Con respecto al gasto institucional, cabe mencionar que es un ahorro para la salud pública^(5,8). Salud: Las enfermedades como el reumatismo, diabetes, anemia, parásitos intestinales, tuberculosis y la malaria en algunos es común el tratamiento empírico. La investigación proporciona información sobre el resultado de la dosis evaluada y los efectos sobre los órganos blancos. Cooperar en la salud pública mediante el uso de una alternativa terapéutica^(4,9).

1.4.2 Aspecto metodológico

En los ensayos de toxicidad para el análisis de los efectos del agente xenobióticos, se utilizan órganos vivos para el estudio⁽⁷⁾. En el laboratorio de farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada Norbert Wiener, se aplicó la metodología de la normativa internacional validada, OECD 423, para la inducción de la toxicidad aguda, también se utiliza el test de Irwin y técnicas anatomopatológicas para verificar la toxicidad de los órganos en la muestra de tejidos. La experimentación evalúa el nivel de toxicidad desde el punto farmacológico preclínico, con el objetivo de obtener información sobre el nivel tóxico del extracto vegetal en la investigación^(5,6).

1.4.3 Aspecto práctico

Los habitantes de la comunidad de Pacasmayo (Loreto) y en los márgenes del río Huallaga, en la actualidad utilizan de forma directa los fitoconstituyentes de las partes del árbol de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”, conservando el saber ancestral. Para la

evaluación en la presente investigación se utilizan animales de laboratorio, lo que permite evaluar el ensayo de la toxicidad aguda. Contribuyendo al uso apropiado y evitar el riesgo de intoxicación con el uso del vegetal en estudio. La aplicación de una exposición límite de 2000 mg/kg en dosis única (OECD 423) en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” aportará información cuyos resultados serán útiles para la comunidad intelectual y la sociedad civil. La continuación del estudio de esta especie en sus hojas permitirá agregar valor potencial y respaldar la práctica medicinal en la salud^(7,9,10).

1.5 Limitaciones de la investigación

Económico

Para extraer la especie vegetal se requirió el pago de servicios de transporte aéreo, transporte acuático del río, equipos especializados para cortes de ramas, tienda de campaña, botiquín, provisiones para el guía.

Geográfico

El acceso al hábitat del vegetal es muy difícil, se encuentra a 119 metros sobre el nivel del mar, es un territorio inhóspito en plena selva en la jurisdicción del río Huallaga en la majestuosa Amazonia peruana.

Investigación

El acceso es limitado a los artículos científicos y libros virtuales debido a factores como el costo. En Perú el vegetal de estudio presenta una escasa información sobre investigaciones farmacológicas ni estudios realizados a través de ensayos en vivo.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Antecedentes internacionales

Schmeda-Hirschmann G, et al. (2019), llevaron a cabo el estudio de plantas seleccionadas de la Amazonía peruana. Cuyo objetivo fue “determinar los constituyentes químicos de los brebajes potenciadores viriles, que son las más vendidas”. Así mismo, se deben conocer los compuestos simples de las sustancias naturales y su eficacia en bloquear las enzimas fosfodiesterasa-5. Materiales y métodos: Se adquirieron los componentes de una sola planta y las combinaciones elaboradas en la feria de Belén, Iquitos-Perú. Se realizó el análisis químico mediante el método HPLC-DAD-ESI-MS / MS. Se evaluó el uso de extractos para la inhibición de la fosfodiesterasa-5. Se determinó la aparición de fármacos pro sexuales mediante HPLC-DAD-ESI-MS /EM. Resultados: El perfil químico permitió identificar los taninos condensados como los principales componentes de *Campsiandra angustifolia* y *Swartzia polyphylla*, los taninos hidrolizables para *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” y los C-glucósidos para *Tynanthus panurensis*. La preparación tradicional presentaba una combinación física y química similar a las soluciones naturales de otras especies. Tanto como 200 µg/mL, el habitual. Los preparados “levántate lázaro” o “siete veces sin sacarla” bloquearon a la fosfodiesterasa-5 en el 49% y el 27%, relativamente. En las muestras no se aprecian falsificaciones con narcóticos pro sexuales en el original. Se halló un mínimo efecto de *Swartzia polyphylla* y *Tynanthus panurensis* en cuanto a los extractos naturales de la especie, así como una elevada actividad para *Campsiandra angustifolia*, que bloquea a las enzimas en un 89% y el 81% relativamente a 200 y 100 µg/mL. Conclusiones: La elaboración de brebajes o bebidas típicas se utiliza para mejorar el rendimiento sexual en la región tropical del Perú. Se comprobó la efectividad de los compuestos químicos como agente bloqueador de la fosfodiesterasa-5. La sustancia típica más eficaz es *Campsiandra angustifolia*, de *Tynanthus panurensis*⁽¹¹⁾.

Da Silva A. (2018), llevó a cabo el estudio químico y la validación de actividades biológicas de extractos de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” (olacaceae). Objetivo:

Realizar el estudio químico de extractos metanólicos de la 1ª y 2ª rama de colección y evaluar los extractos en la toxicidad frente a *Artemia salina*, antibacteriana, antifúngico, angiogénica y antipalúdica. Métodos: Los materiales vegetales (ramas y hojas) fueron secados, molidos y extraídos con diclorometano, metanol y agua destilada, en la actividad antibacteriana se usó la metodología de microdilución, el antifúngico, fase hidrometanólica y la fase de acetato de etilo. Resultados: Los extractos *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” (olacaceae) fueron activos sobre *Artemia Salina* el 100% de mortalidad, en la densidad de 1000 µg /mL. El extracto metanólico de las ramas reveló una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 1000 µg/mL en los bacilos gramnegativo *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. La actividad antifúngico de la fase hidrometanólica mostró una concentración mínima inhibitoria de 200 y 800 µg/ mL frente a *Cryptococcus neoformans* y *Candida albicans*, en comparación con la etapa de acetato de etilo, que presentó una concentración mínima inhibitoria de 400 µg /mL ante los bacilos *Candida albicans*. Conclusiones: La totalidad de los extractos probados, excepto el extracto de diclorometano en la fase hidrometanólica de las hojas, mostraron actividad antipalúdica. Asimismo, los extractos mostraron una actividad anti angiogénica, destacando el potencial del extracto acuoso de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”⁽¹²⁾.

Guex C, et al. (2018), examinaron el estudio de la evaluación de la seguridad del extracto etanólico de hojas de *Olea Europea Europea* “olivo”. Objetivo: Investigar la toxicidad aguda y subaguda del extracto hidroalcohólico de hojas de *Olea Europea Europea* “olivo” en ratas Wistar a través de parámetros histopatológicos, bioquímicos y hematológicos. Método: Se evaluó la toxicidad aguda usando una dosis única de 2000 mg /kg de *Olea Europea Europea* “olivo”. La administración se realizó a través la vía oral utilizando una cánula de metal. Se usaron ratas de ambos sexos para evaluar la toxicidad subaguda. Se administró *Olea Europea Europea* “olivo” durante 28 días a diferentes dosis (100; 200 y 400 mg /kg). Se extrajeron el hígado, riñón y se examinaron microscópicamente al final de los experimentos y se extrajo sangre para determinar los parámetros hematológicos y bioquímicos. Resultados: Una sola dosis de 2000 mg /kg no indujo mortalidad y ningún signo de toxicidad entre los animales tratados. Los animales que se encontraban expuestos a *Olea Europea Europea* “olivo” durante 28 días no mostraron signos de anomalías. Conclusiones: A través del análisis de la *Olea Europea Europea* “olivo”, se demostró que no presentó toxicidad después de la exposición a

dosis únicas y repetidas. Estas fueron corroboradas con estudios hematológicos y bioquímicos⁽¹³⁾.

Agyigra I, et al. (2017), realizaron el estudio de evaluación de la toxicidad aguda y sub crónica del extracto metanólico de la corteza del tallo de *Ximenia americana* Linn (Olacaceae) “ababuy” en ratas Wistar. Objetivo: Evaluar el perfil de toxicidad del extracto metanólico de la corteza del tallo. Método: Se seleccionó la dosis letal media oral estimada (DL₅₀) de la prueba de toxicidad aguda del extracto, se pesó a los animales de experimentación tratados semanalmente y se administró por vía oral diariamente de acuerdo a su peso corporal durante 28 días. Las dosis evaluadas fueron: 250; 500 y 1000 mg/kg respectivamente. A continuación, se sacrificaron diez ratas Wistar macho en 4 grupos. Se extrajo sangre mediante punción intracardiaca para el análisis bioquímico y hematológico, la sangre se recolectó en frascos de muestras simples de cada grupo con anticoagulante (EDTA). Los órganos vitales se aislaron, pesaron y colocaron en fijadores de formalina tamponada para histoanálisis. Se examinaron los valores de la media ± error estándar de la media y la significación estadística en ($p \leq 0,05$). Resultados: El extracto en dosis de 5000 mg/kg no produjo mortalidad ni signos tóxicos. No surgieron cambios en el tamaño de los órganos, cerebro, corazón, hígado y estómago, así como en su peso corporal. Conclusiones: El perfil de la evolución fue significativo; la toxicidad aguda del extracto metanólico de la corteza del tallo de *Ximenia americana* Linn (Olacaceae) “ababuy” fue relativamente no tóxica en ratones, se produjeron cambios anatómicos mínimos en riñón, pulmones y bazo cuando se utilizó durante algunas semanas en ratas⁽¹⁴⁾.

López B. (2017), llevó a cabo la investigación sobre plantas medicinales debido a su estrecho contacto y dependencia de la biodiversidad local como recurso terapéutico. Estudio Etnobotánica de Plantas Contra la Malaria. Objetivo: Conocer las especies vegetales empleadas por las distintas poblaciones de América del Sur a lo largo del tiempo para el tratamiento y/o prevención de la malaria o alguno de sus síntomas. Método: Para ello se realizó una revisión bibliográfica de la literatura utilizando las bases de datos Pubmed y Google Scholar. El proceso de búsqueda se realizó sin restricciones temporales. Los artículos encontrados se remontan al año 2005 y 2015. Resultados: En la revisión se mostró que un total de 279 especies vegetales han sido mencionadas por la población como remedios empleados en el tratamiento de la

malaria o alguno de sus síntomas. Conclusiones: Los estudios etnobotánicos de plantas medicinales pueden indicar el nivel de conservación de la biodiversidad y la salud humana a través de la integración de elementos analíticos, sociales y ecológicos. La disponibilidad de plantas medicinales nativas es muy grande, como la *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”, lo cual indica que la biodiversidad y los conocimientos tradicionales asociados siguen siendo conservados⁽¹⁵⁾.

Antecedentes Nacionales

Tapia V. (2019), realizó el estudio de los parámetros fenólicos, flavonoides de *Eucalyptus* “eucaliptos”, *Olea europeae* “olivo” y *Lippia nodiflora* “tayakasi” con capacidad antioxidante. Objetivo: Especificar el perfil del extracto hidroalcohólico de las especies *Eucalyptus sp* “eucaliptos”, *Olea europeae* “olivo”, *Lippia nodiflora* “tayakasi” relacionado con la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en las hojas. Métodos: Al utilizar el espectrofotómetro, que mide la densidad absoluta de los fenoles y flavonoides, se puede evaluar la capacidad de inhibir la oxidación. Se utilizaron en primer lugar la capacidad antioxidante de radicales del oxígeno (ORAC), añadiendo 25 µL de muestra, 50 µL de fluoresceína diluida en tampón de fosfato como patrón. El valor de ORAC se expresó en µmol de equivalencia a trolox (µmol TE) por mL de solución vegetal. Se mezcló el potencial antioxidante reductor férrico (FRAP), con tampón acetato, TPTZ en HCl, FeCl₃) y soluciones de (Trolox), la absorbancia fue leída a 595 nm. A través EASI-MS, se puede identificar los componentes químicos. La metodología utilizada de acuerdo con Sawaya et al (2004; 2010). El solvente usado en la pulverización fue el metanol. Resultados: En las hojas de *Eucalyptus sp*, “eucaliptos”, se encuentran ricos en compuesto biológicamente activo; en el análisis realizado se detecta una mayor presencia de los grupos de flavonoides y de cuatro iones intensos 453,2 m/z; 454,2 m/z; 485,25 m/z y 499,26 m/z. Según los estudios realizados por Gonzales Burgos (2018), se identificaron la presencia de compuestos fenólicos y ácido clorogénico en muestras y se demostró la acción de bloquear a los radicales libres. El resultado de la muestra vegetal *Olea europeae* “olivo” reveló dos iones principales: 539,1 m/z y 540,1 m/z. Los estudios realizados por Cláudio et al., (2018), identificaron triterpenos. Las propiedades biológicas se atribuyen a las propiedades químicas de los fenólicos, tales como antioxidantes,

antimicrobianos y antioxidantes, respectivamente. Estos iones forman parte del grupo de los triterpenos. En las muestras de los extractos etanólicos de las hojas de *Lippia nodiflora* “tayakasi” se identificaron los iones principales de 190 m/z, 249 m/z, 352 m/z y 515 m/z, los cuales son los iones ácidos fenólicos y flavonoides. La revisión literaria no presenta un estudio de identificación de los iones principales de las especies vegetales analizados en nuestro país, lo cual dificulta la comparación de los principales iones marcadores. Conclusión: El perfil de los extractos hidroalcohólicos del follaje de la especie vegetal *Olea europaeae* “olivo” evaluado por el procedimiento ORAC se caracterizó por una alta velocidad, se excluyó a los radicales peróxidos y las tres especies vegetales en estudio presentaron compuestos fenólicos, flavonoides y mostraron actividad antioxidante⁽¹⁶⁾.

Arrascue O. (2018), llevó a cabo el estudio del valor económico y cultural de las especies de la flora utilizadas en la aldea nativa de Yamayakat, Bagua, Amazonas. Objetivo: Rescatar el saber ancestral de la vegetación silvestre e introducida, de usos frecuentes, evaluando el valor económico y cultural. Método: Mediante el uso de la metodología de Rey-García V, et al. (2006), el índice de Valor Cultural que realiza las entrevistas semiestructuradas y los métodos prácticos para el valor económico. Se contractaron 57 participantes, lo generó un informe de 104 plantas útiles agrupadas en 88 géneros y 44 familias botánicas. Se reportó que las familias *Apocynaceae*, *Araceae*, *Poaceae*, *Malvaceae* son más numerosos de especies (7%), a continuación de *Fabaceae* (6%), *Arecaceae*, *Maranthaceae* y *Solanaceae* (5%). Se categorizaron en 9 grupos de acuerdo con el uso, siendo la categoría alimenticia lo que contiene el mayor número de especies nombradas, seguida de las categorías materiales, medicinales y sociales. Resultado: Se recuperó el saber ancestral de las plantas con más valor cultural fueron: Se denomina *Thebroma cacao* “bakau”, *Espundias dulcis* “taperibá”, *Bactris gasipaes* “pijuayo”, *Zea mays* “maíz”, *Solanum sessiliflorum* “cocona”, *Genipa americana* “huito”. Conclusión: Aprendieron a recuperar el saber tradicional de los vegetales de mayor valor, su valor económico y cultural, aquellas que son altamente requeridas y difíciles de encontrar como: *Minqartia guianensis* Aubl “huacapú”, *Iryanthera juruensis* “cumala”, *Arthocarpus altilis* “hitu”, *Croton lechleri* “sangre de grado”, *Himatanthus sucuuba* “shipitna”, *Ficus insipida* “ojé”⁽¹⁷⁾.

Salazar P. (2018), desarrolló un estudio sobre determinación de la actividad antioxidante y de los metabolitos secundarios responsables de esta actividad de tres especies vegetales nativas procedentes de la comunidad Tamshiyacu-Tahuayo, Loreto-Perú. Objetivo: Determinar la actividad antioxidante de (31) especies vegetales nativas, de ahí se seleccionó tres plantas con moléculas de alta actividad bloqueadora de radical libre, originario de la Reserva Comunal Tamshiyacu – Tahuayo, Loreto. Método: Se recolectaron las muestras (hojas), para ser identificadas de forma taxonómica y luego seleccionadas, secadas, y pulverizadas. Se procede a la extracción del extracto mediante la maceración metanólica. Se realizaron ensayos y determinaciones de la actividad antioxidante mediante la metodología indicada por Brand-Willams et al., 1995. Resultado: La actividad antioxidante DPPH se determina a partir de su porcentaje de inhibición del radical DPPH, correspondiente a las 31 especies a concentraciones de 5; 0,5; 0,25; 0,1; 0,05 y 0,01 mg/mL. Dónde, el porcentaje de inhibición de las especies *Virola calophylla*, *Caryocar glabrum* y *Tapirira guianensis* aubl a una concentración de 5 mg/mL fue mayor al 50%. Conclusión: Se determinó que las especies recolectadas de diferentes bosques y codificadas 31 plantas amazónicas tienen un alto porcentaje de actividad antioxidante, mientras que las tres especies evaluadas con mayor potencial son los árboles nativos “virola”, “almendrón” y “wira caspi”⁽¹⁸⁾.

Huamán V. (2018), realizó la evaluación florística de la micro-cuenca Asnayacu, a fin de situar para la importancia ambiental de Moyobamba, San Martín. Objetivo: Identificar los elementos florística de la microcuenca Asna yacu, para situarlo en su valor ambiental de la región san Martín, Moyobamba. Método: Se realizó una investigación descriptiva y simple mediante guías de observación en el campo. La composición florística del bosque está compuesta por familias y géneros al que pertenecen las especies, la población está conformada por la faja marginal de la micro-cuenca. Se seleccionó una muestra representada por 15 sub parcelas de 20 m x 20 m de 400 m². Distribuidas en transeptos longitudinales a las microcuencas, aplicando la guía de observación de la guía desométrico en campo y observación para el inventario florístico. Resultado: La variedad de florístico en función de las familias y el número de individuos de la parte alta. Dentro de 25 familias botánicas totales se muestra 842 vegetales, de ahí que la mayor cantidad son las *Minquartia guanensis* Aubl de la familia Olacáceae con 78 especies, quinilla de la familia *Sapotáceae* con 64 especies y rupiña de la

familia *Myrtaceae* con 59 especies. Existen familias de menor cantidad de individuos como *Anunilla* de la familia *annonaceae* con 8 vegetales, *Quillosa* de la familia *Vochysiaceae* con 8 especies, Sacha caimito de la familia *Sapotáceae* con 8 especies. Conclusión: Se evaluó la microcuenca Asnayacu, que presenta un gran valor ecológico de gran importancia ambiental, siendo la composición florística el 62,54 % de la microcuenca Asnayacu la más alta⁽¹⁹⁾.

Montenegro M. (2016), realizó el estudio de la Evaluación con efecto antimicrobiano del extracto fenólico de los follajes de *Olea europea* Linneo “olivo” ante los bacilos gramnegativos en la carne sin grasa de res. Objetivo: Determinar la actividad antimicrobiana del macerado fenólico (EFHO) del follaje vegetal *Olea europea* Linneo “olivo” frente a los microorganismos *aerobias mesófilas*, presentes en la carne sin grasa. Método: La extracción hidroalcohólica según el método de Ortuño M. (2006). El proceso de maceración de las hojas secas, trituradas, en una disolución alcohólica de agua 25 al 50%, cubre completamente el frasco de la maceración y agitarlo durante la maceración, luego procede al filtrado y su conservación en un frasco ámbar. Se determinó la cantidad de fenoles totales presentes en la solución mediante el método Folin - Ciocalteu. Utilizado por Trujillo M. (2010); quien realizó la cuantificación mediante una curva estándar de ácido gálico (0 – 20 µg/mL). Para el efecto antimicrobiano del extracto, se trabajó con concentraciones de 10; 20 y 30 %, diluyendo el extracto con agua destilada. La evaluación se realiza sobre 12 muestras de carne de res fresca etiquetadas. Se trata con el extracto fenólico por un periodo de tiempo a la muestra, luego se realizan análisis microbiológicos usando el método oficial AOAC 990,12: Recuento de Bacterias Aerobias en placas petrifilm. Resultados: El extracto fenólico (EFHO) de hojas *Olea europea* Linneo var Sevillana “olivo” muestra una actividad biológica antimicrobiana contra las bacterias *aerobias mesófilas* presentes en muestras de carnes, lo que reduce el 80% de la carga inicial. La concentración total de fenoles de 18,854 EAT/mL en el extracto. Los resultados son complejos debido a la interacción de diversos factores, técnicas y métodos a utilizar. Conclusiones: Se determinó la actividad antimicrobiana del extracto fenólico (EFHO) de la especie vegetal. Las bacterias *Aerobias Mesófilas*, tiene una alta potencia bactericida en concentraciones del 20 %, sobre toda la concentración del 30%, lo que reduce la carga bacteriana en un 50 y 80 % respectivamente a los 10 minutos después de tratar⁽²⁰⁾.

2.2. BASES TEÓRICAS

Investigaciones botánicas de la familia olacaceae y la especie *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”

La familia Olacaceae y características

Las crónicas de la familia Olacaceae pertenecen al conjunto del orden sándalo (Santalales), angiospermas leñosas, parásitos, no parásitos de raíz y tallo, una variedad de especies, considerada la más primitiva y con una morfología que evolucionó de ensamblaje polifilético en grupos posteriores, lo que causó confusión en su clasificación dividiéndola en familias múltiples. Estudio filogenético de la rama clasifica taxón en Olacaceae, sin tener una clara compatibilidad en el género de *Minquartia* única, origen de América⁽²¹⁻²³⁾.

En la flora de Veracruz, México, se describe la familia Olacaceae, arbustos medianos, espinosos, elevados, erguidos, en la familia. A veces se trata de lianas, hojas simples, alternas, dísticas, inflorescencias axilares, formando racimos, hermafrodita. Flores perfectas, fruto de una drupa. Se encuentra en regiones tropicales de 27 géneros y 200 especies⁽²⁴⁾.

De igual manera, en la flora peruana la familia Olacaceae es conocida como árboles o arbustos. La vegetación amazónica representa el 4,9% del nicho ecológico, la cual constituye el área de mayores recursos Fitoterapéuticos biológicamente activos para el mejoramiento de la salud. La información popular de los habitantes y la información etnobotánica que se ha obtenido a través de la investigación revelan que la actividad terapéutica del árbol *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” pertenece a la familia Olacaceae^(22,25).

Distribución geográfica en el mundo de la familia Olacaceae

El hábitat de olacaceae en regiones con precipitaciones de temperaturas cálidas-húmedas, bosques inundables en todo el mundo. Mayor distribución geográfica dentro del territorio de África del sur y Asia (Boelcke, 1981). La especie comprende 29 géneros y una variedad de 250 especies. Asimismo, en los archipiélagos malayos, Australia, mesoamericana, tropical y subtropical, desde los Estados Unidos hasta el norte de la Patagonia, a veces llega ser

endémico. A continuación, en la figura 1 se observa en los países de más representatividad de la especie^(24,26,27).



Figura 1: Distribución geográfica nivel mundial de la familia olacaceae^(26,27).

La familia de la especie vegetal olacaceae en el Perú

La situación fisiográfica del Perú permite la división entre la selva alta y la selva baja menos poblada, de ahí que conserva las características originales y asignadas a innumerables especies con propiedades etnofarmacológicas. La vegetación en bosque inundable de la amazonia en la cual se reconocen 9 géneros y 23 especies (Brako & Zarucchi, 1993; Ulloa U, et al., 2004). No obstante, en la región Ucayali se encuentra 14 géneros con una obstante, en la región Ucayali se encuentra 14 géneros con una aproximación de 103 especies⁽²⁸⁻³⁰⁾.

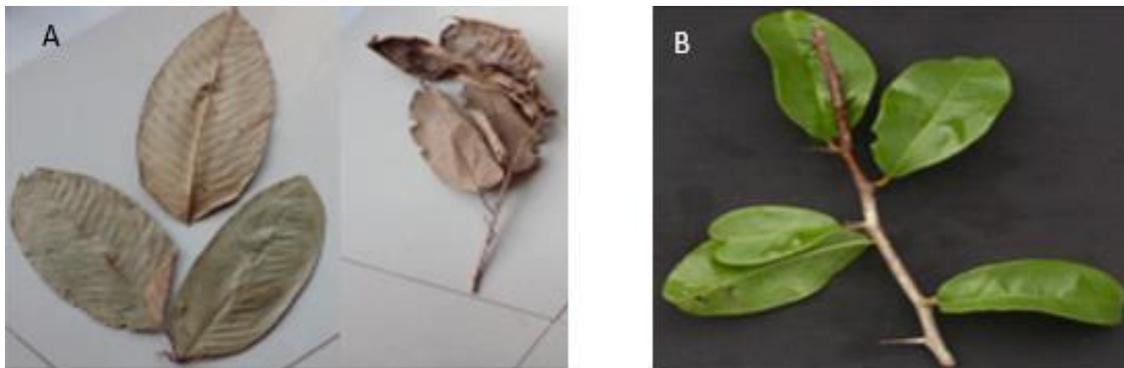


Figura 2: Foto autoría: (A). Género *Minquartia* único.

Foto de referencia: (B). Género *Ximenia* “ababuy”⁽²⁹⁾.

Tabla 1: Nombres científicos, común de la familia Olacaceae en Perú^(29,30).

Género	Nombre científico	Nombre Común
<i>Aptandra</i>	<i>Aptanda tubicina</i> (Poepp.) <i>Benth ex. Miers.</i>	Trompo huayo
<i>Cathedra</i>	<i>Cathedra acuminata</i> (Benth.) Miers	Motelo huayo
<i>Chaunochiton</i>	<i>Chaunochiton Kappleri</i> (Sagot <i>ex engl.) Ducke.</i>	
<i>Dulacia</i>	<i>Dulacia candida</i> (Poepp.) <i>Kuntze terpenina</i>	Caspi colorado
<i>Dulacia</i>	<i>Dulacia inopiflora</i> (Miers) <i>Kuntze sacha</i>	Sacha limón
<i>Heisteria</i>	<i>Heisteria acuminata</i> (Humb. Y Bompl) Engl	Yutubanco
<i>Heisteria</i>	<i>Heisteria duckei</i> Sleumer	Sombrerocaspi.
<i>Heisteria</i>	<i>Heisteria ovata</i> Benth	Arete caspi
<i>Heisteria</i>	<i>Heisteria spruceana</i> Engl.	Aretillo caspi
<i>Minquartia</i>	<i>Minquartia guianensis</i> Aubl.	“huacapú”

Descripción histórica de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”

Según el explorador francés Jean Baptista Christophore Fusée Aublet, un farmacéutico y botánico, detalla las características botánicas de unas series de especies en su obra “historia de plantes de la Guiane Française” que publicó en París 1775. Se menciona *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”, árbol originario del continente americano, única en su especie, un solo taxón *Mimquartia* e integra a la familia Olacaceae. Desde entonces, las fuentes describen una serie de nombres en las diferentes regiones del trópico^(19,31,32).

Nombres científicos, vernáculos y comunes

La riqueza lingüística del ser humano es un factor que influye en su comunicación en la vida cotidiana, mientras que la geografía que “pisa” influye en el individuo en las asignaciones de nombres. Igualmente, los nombres científicos, conforme al sistema linneano, procura universalizar para evitar equivocaciones en los investigadores. Los nombres comunes que se adaptan a una lengua determinada, “nombres técnicos” para facilitar la identificación dentro del área o fuera del área. Nombres vernáculos: Guiados con la lengua popular, cotidiana, los usos fortuitos, los comentarios populares de lugar. Algunos taxones tienen diferentes nombres de una determinada región. *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” tiene datos científicos y diversos nombres comunes en el continente americano^(29,31,32).

Tabla 2: Nombres en América *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”⁽³²⁻³⁴⁾.

Nombres comunes de la especie	Países
Acariquara	Argentina
Acariquera	Brasil
Caricuara negra	Bolivia
Puente candado. Minche y Guayacán negro.	Colombia
Black manu, manu negro	Costa rica
Guayacán y Pechiche	Ecuador
Arattawerie	Estados unidos
Urari, criollo, manu	Nicaragua
Cujado negro	Panamá
huacapú, (shipibo-conibo).	Perú
Wamana	Guayana francesa
Puyaquiro, Alata-udu	Surinam
Arekuma.	Venezuela

Detalles morfológicos de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”

Un árbol maderable de una magnífica calidad, durabilidad aproximada de 80 años, sin mostrar deterioro, crece en sombras y se integra lento a los árboles dosel. Fuste: Se desarrolla a una altura de 30 mt, en algunos trópicos supera los 50 a más, porte recto y semicilíndrico; presenta una hendidura profunda; la raíz contrafuerte. Copa: Forma lobulada, con ramas laterales y verticales, cubiertos por ramas jóvenes. Ritidoma: Se compone de capa externa marmoleada de colores marrones matizada con gris y tampones de verdes; láminas alargadas y cortas; aberturas superficiales de la cual brota líquido blanquecino de la savia. Hojas: Simples, de margen entera, alternas, lanceoladas, elípticas, con un ápice puntiagudo y una base media redonda. La textura dura flexible como un pergamino. Se muestra un alto relieve del nervio principal y secundario. El haz verde intenso y envés verde a pardo-cenizo. Flores: Son diminutas inflorescencias de color amarillo-maíz, son reunidos en panículas simples, brotan de la yema axilar de las hojas. Fruto: Se presenta como una forma de aspecto drupáceo, con pulpa rica en fibra, un color violáceo oscuro, resina lechosa y una sola semilla de color marrón claro y ovalado. Madera: Formada por sustancias fibrosas; pesada de calidad insuperable en relación con otra especie. Resistente a los ataques de hongos termitas, en efecto y la durabilidad, es impresionante más de 60 años sin deterioro, por consiguiente, muy cotizada^(22,30,33-36).

Usos tradicionales

Los beneficios de la especie desde su origen nativo han sido en la dieta de la población primitiva y conforman el dosel de los bosques. Proporciona ecosistemas y proporciona alimentos para la fauna silvestre. El hombre descubrió que es utilizado para resolver necesidades materiales, vivienda y utilidad manual, en la labor obtención de pigmentos para colorear el algodón. La información médica tradicional se fundamenta en terapias de los antepasados utilizadas para tratar afecciones de hepatitis, paludismo, antirreumático, resfriados, diabetes y la tuberculosis y finalmente en regiones tropicales para la elaboración de bebidas^(25,33,34,36).

Localización de la especie en estudio en el Perú

El árbol se encuentra situado en los bosques primarios de la Amazonía y mide aproximadamente 20 mt. Hábitat zona inundada, húmeda, con un mosaico de tierra arcillosa y arenosa, difícil acceso debido a la densa vegetación de la selva^(37,38). Se recolectaron sus hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”, el 25 de julio de 2019. Comunidad de Pacasmayo, altitud de 119 m.s.n.m. En el distrito Santa Cruz, provincia de Alto Amazonas, jurisdicción de Loreto⁽¹⁾.

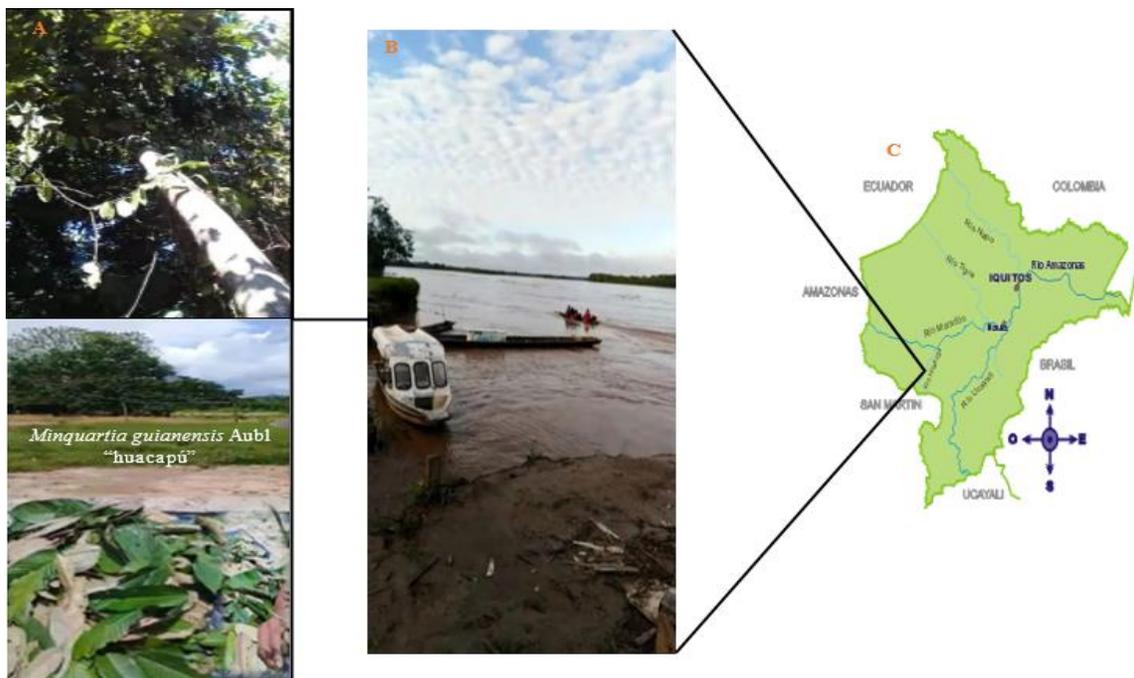


Figura 3: Fotografía autoría (A) y (B). Fuente de revisión (C)⁽³⁰⁾. La geografía de la recolección de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”.

Identificación botánica

Se lleva a cabo el reconocimiento taxonómico de la familia botánica en la institución científica del mundo natural. Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, proporcionado la muestra del vegetal extraído, la rama con las hojas, flores. Se identifica el 23 de agosto de 2019 y se clasifica entre la familia olacaceae y género *Minquartia* del área

circundante a la comunidad de Pacasmayo. El nombre científico, *Minguartia guianensis* Aubl, denominado “huacapú” por el Mg. Hamilton Beltrán Santiago, según el sistema de clasificación como se muestra anexo seis.

División: magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub clase: Rosidae

Orden: Santalales

Familia: Olacaceae

Género: *Minguartia*

Especie: *Minguartia guianensis*

Nombre común: “huacapú”

Minguartia guianensis Aubl “huacapú”.



Figura 4: Fotografía de investigadores.

Rama: Flores (1), Hojas (2).

Compuestos químicos activos de la especie en estudio

Existen fuentes de información en ciencias naturales, tales como, la bioquímica, química orgánica, así como diversos ensayos, muestran metabolitos secundarios y activos responsables de las propiedades medicinales de los vegetales. En el caso del árbol han sido explotados industrialmente, no obstante, poseen propiedades farmacológicas con poca exploración. Según el hábitat y las condiciones del medio ambiente, los metabolitos cumplen funciones importantes para la vida celular de los vegetales, tales como, el crecimiento y reproducción. Protección de patógenos externos e internos; inhiben crecimiento de hongos y bacterias; regula la intersección de microorganismo y macroorganismo. Las plantas elaboran sus propios pigmentos naturales para la polinización. Metaboliza con agente alopático, protección UV debido al estrés ambiental. Esta asegura a sobrevivir en tierras ricas de minerales pesados. Compite con otras especies de su entorno. La especie en estudio posee compuestos farmacológicos de gran importancia^(12,18,39,40).

Esteroides: Son compuestos que no hidrolizan en presencia de hidróxidos, con funciones de vitaminas u hormonas y se derivan de terpenos, con capacidad de sintetizar una variedad de esteroides asignados por Mandava (1988). Característica: Actúa con potencialidad a baja concentración. En animales de cada especie acondiciona un perfil de esteroides. El núcleo de los vegetales es idéntico al colesterol del vertebrado. Bioactividad: Los esteroides vegetales inhiben la absorción intestinal del colesterol, lo que reduce la concentración plasmática de la lipoproteína de densidad baja^(39,40-42).

Flavonoides: Polifenoles son fitonutrientes responsables de la pigmentación de flores, frutos, se encuentran en las hojas. Propiedad antioxidante. Los humanos no producen estas sustancias y es beneficioso para el organismo. Actúan como relajantes sobre los músculos lisos vasculares. Produce un efecto vasoconstricción a la concentración baja y vasodilatador a mayor concentración. La defensa de las células provocadas por LDL inhibiendo la oxidación de las lipoproteínas y el bloqueo directo de la toxicidad de LDL a nivel celular^(16,18,39).

Taninos: Sustancias orgánicas adecuadas para transformar las pieles de animales en cueros industriales. La concentración varía a lo largo del ciclo vegetativo en semillas, corteza, hojas secas; el 50% del peso son taninos, tallos, piel del fruto y maderas. Características del aroma, amargor, sabor seco, color amarillo a castaño. Propiedad: Acción astringente y antiinflamatoria, protege a los tejidos neutralizando a los radicales libres y limita el deterioro de las lesiones. En la farmacología para reducir el efecto de los alcaloides a causa de intoxicación como sales y metales se inactiva por la precipitación^(40,43-45).

Alcaloides: Se trata de compuestos nitrogenados de origen vegetal, animal y la mayoría de ellos en vegetales. Se encuentran en raíces, tallos, cortezas, hojas y frutos. En cuanto al origen animal en la piel de ellos. Característica: Hidrosoluble a pH ácido, soluble en solventes orgánicos, éter, cloroformo a pH alcalino, sabor desagradable, precipitación con determinados reactivos. Propiedad de combinarse con metales pesados y actividades farmacológicas destacadas. El margen terapéutico es reducido. A baja dosis de actividad fisiológica fuerte y muy tóxicos. El recurso terapéutico para el sistema nervioso tiene un efecto estimulante, la dosis baja produce convulsiones. El sistema muscular se altera y produce espasmo violento, lo que provoca la midriasis (dilatación o contracción en la pupila). En el Sistema digestivo se produce irritación en la mucosa gástrica con manifestación de vómitos y diarrea. Se producen lesiones en el hígado que provocan la cirrosis. El sistema circulatorio reduce la presión sanguínea y

estimula la circulación, lo cual trata la hipertensión. Se dilatan los bronquios descongestionando el sistema respiratorio, mientras que en otros se utilizan analgésicos y antitumorales^(39,40,44,45).

Compuestos fenólicos: Las sustancias biológicas son innumerables en la naturaleza, entre ellas los fenoles. Se encuentran abundantes en los metabolitos y se sintetizan mediante vías heterogéneas (básicas son los ácidos shikímicos y la vía del ácido malónico). La presencia de un anillo es una característica única. Propiedades antioxidantes debido al mecanismo de quelación de los radicales libres e interceptación del oxígeno libre. El concentrado de fenol en la piel causa grave lesión, exposición a vías respiratorias a nivel alto causa irritación, daño pulmonar, riñón, hígado y temblor muscular. La industria química y farmacéutica se utiliza para la bactericida, antiséptica, fungicida y entre otros^(16,46-48).

Enfoque farmacológico

Las plantas medicinales constituyen elementos fundamentales en el desarrollo y aplicación de la medicina moderna con el propósito de asistir y mejorar la salud^(2,25). A través de medios tecnológicos, en la actualidad se puede aislar moléculas específicas que posibilitan la terapia alternativa⁽⁴⁴⁾. Así mismo, los conocimientos empíricos de las comunidades nativas de la Amazonía peruana lograron descubrir las propiedades terapéuticas del *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” para tratar el paludismo y la hepatitis⁽²⁵⁾. Esta especie vegetal contiene sustancias biológicamente activas (metabolitos secundarios), como el compuesto fenólico, que tiene una acción antioxidante, antimicrobiano y antibacteriana^(16,20,46), los taninos, que actúan como protectores de los tejidos ante los radicales libres, inflamación^(40,43), los flavonoides, que poseen propiedades antioxidantes, actúan sobre los músculos lisos vasculares⁽⁴⁰⁾, los alcaloides, que tiene un margen terapéutico estrecho, se utilizan en terapias del sistema nervioso central, antitumorales^(40,45), los esteroides y/o triterpeno, son agentes antivirales, antitumorales y anticonceptiva^(42,43), y los esteroides son compuestos que actúan como desinflamante y fortalece el sistema inmunitario⁽⁴⁰⁾.

Para estudiar las fuentes terapéuticas con propiedades de efectos biológicos de las plantas medicinales y la concentración ideal, se recurre a métodos de la química, fisiológica y la clínica^(49,50).

Enfoque toxicológico

Los elementos tóxicos están estrechamente relacionados desde el inicio de la vida y es importante señalar que la posible toxicidad por primera vez haya sido de origen vegetal. El estudio se centra en la inseguridad que se ha analizado científicamente, técnicamente, con el objetivo de identificar y cuantificar los efectos de los xenobióticos en los órganos diana relacionado con la dosis y respuesta con el objetivo de evitar la muerte⁽⁵¹⁾.

La existencia de plantas con propiedad medicinal en las partes del vegetal como las hojas es una alternativa etnofarmacológica beneficiosa o atóxica para el auxilio de la salud, de ahí la relación con la toxicología. El persistente interés en la ejecución de diversos tratamientos patológicos que aquejan al humano. La administración vía oral tiene un recorrido en el organismo similar al mecanismo de acción de los fármacos convencionales. El ensayo preclínico con diseños de la OCDE del xenobióticos es fundamental para evaluar su inocuidad o toxicidad. El extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” contiene sustancias biológicamente activas que requieren una evaluación tóxica in vivo^(5,7,52,54).

Toxicidad es el verbo de un xenobióticos es el cual tiene la capacidad de producir daño sistemático y muerte celular de un organismo vivo. Se distingue la modificación celular en función del grado de alteración clínica, siendo tres intensidades: leves, moderadas y severas⁽⁵³⁾. De acuerdo con el origen de las sustancias naturales, con efectos terapéuticos y los factores de procedencia, métodos de preparación, extracción, estructura química, expuesto a luz, pierde o gana potencia, ruta, dosis y tiempo de exposición. La investigación sobre sustancias exógenas en el organismo es muy importante para que interactúen con moléculas endógenas. Puede presentarse durante la exposición o pocas horas y días después aparecen cuadros clínicos de intoxicación clínica.

La evaluación del daño causado por xenobióticos a los órganos involucrados, la dosis, el tiempo y las vulnerabilidades de un sistema de irrigación sanguínea vulnerable. Se evalúan parámetros que se clasifican en toxicidad aguda y crónica, los cuales son necesarios para una variedad de extractos vegetales. A partir de J.W. Treven para obtener LD₅₀ y posteriormente otros científicos desarrollaron diferentes métodos; para estudios de toxicidad aguda (OCDE 423) en un grupo de cepa, sexo de animal en prueba con el objetivo de diferenciar las escalas^(51,54). La investigación es necesaria para evaluar la toxicidad del extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”, lo que permitirá identificar los efectos

adversos de la especie vegetal después de la administración in vivo. Difundir a través de la comunidad científica.

Tabla 3: Escalas de toxicidad y las vías de administración⁽⁵¹⁻⁵³⁾.

Escala	Clasificación Usual	Oral	cutánea	Inhalación	Posible
		Dosis única, DL ₅₀ rata	Dosis única, DL ₅₀ conejo	vapor 4 h, CL ₅₀ ratas ppm	Dosis letal Adulto 
1	Extremadamente tóxico	<1 mg/kg	< 5 mg/kg	10	1 gota
2	Altamente tóxico	1 a 50 mg/kg	<5 a 50 mg/kg	10 a 100	1 cucharilla (4 mL)
3	Moderadamente tóxico	50 a 500 mg/kg	50 a 350 mg/kg	100 a 1,000	30 g
4	Ligeramente tóxico	0,5 a 5 g/kg	0,35 a 3 g/kg	1,000 a 10,00	250 g
5	Prácticamente tóxico	no 5 a 15 g/kg	3 a 25 g/kg	10,000 a 100,000	1 L

Toxicidad aguda

Las sustancias en prueba indican una dosis letal media con valor de DL₅₀ en mg/kg peso animal. La estimación se deriva del ensayo de toxicidad aguda de la sustancia (estadístico). El principal recurso de experimentación son animales de laboratorio, en los cuales la cantidad y la capacidad de una sustancia producen efectos adversos a corto plazo de 24 horas o hasta 14 días. Luego de administrar una única dosis, se observa el 50% de muerte, mientras que la media parte sobrevive en la población de ensayo^(7,53,55).

Evaluación toxicológica

La evaluación se fundamenta en la estimación del potencial daño del organismo con riesgo de afectar la vida, conocido anteriormente como toxicología experimental. Estudia los parámetros de absorción y distribución sobre el órgano (dosis y concentración) de las sustancias en la cual ocurre la transformación bioquímica, eliminación y acción tóxica sobre los tejidos. De igual manera, los estudios experimentales se centran en resolver, analizar, describir y cuantificar los efectos mediante el uso de método en vivo, in vitro u otros. La evaluación permite determinar la naturaleza de los efectos tóxicos que surgen de la exposición a las sustancias en prueba^(51,53).

Ensayos de toxicidad sobre la línea directriz OCDE

Los países adoptan investigaciones científicas sobre la base de OCDE, desarrollando instrumentos para los ensayos biológicos, pruebas y análisis que universalizan y garanticen los resultados. Las guías actualizadas hasta 2017, el método clásico fue sustituido por el método de la Dosis Fija (OCDE 420), el método de la Clase Tóxica Aguda (OCDE 423) y el método Arriba y Abajo (OCDE 425)⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾. El interés en el análisis preclínico con el objetivo de detectar la inocuidad y un informe posterior de la eficacia y seguridad de las sustancias naturales. La ética en ensayos en vivo, recomienda la tres R y la toma de criterios para asegurar la calidad y efectividad de los análisis y obtener resultados confiables^(52,53,59).

El principio universal de las 3 R

En 1959, Rusell y Burch, en la ciencia de animales de laboratorio, plantearon la extrapolación de 3 R: Se requiere reducir el número de animales. Reemplazar (relevar por otros métodos). Refinamiento (Técnicas del experimento para minimizar sufrimiento del animal). El empleo de la 3 R, contribuye a una reducción del costo y tiempo. Asimismo, requiere revelar las virtudes de la humanidad y la comunidad científica y permite la validez y calidad del experimento^(6,8,60).

Método de la Dosis Fijada (OCDE 420)

Según la normativa de la OCDE, en la guía Nro. 420 señala el inicio del experimento con dosis prefijadas (5, 50, 300 y 2000 mg/kg). La administración letal más tóxica de 5 mg/kg en grupo de 5 animales; si mueren 2 a más animales, la sustancia es clase 1. La mortalidad de 1 o ninguno tiene efecto tóxico en la sustancia clase 2. Se requiere la dosis adecuada para clasificar las sustancias, sin mortalidad^(8,40,59).

Método de las Clases de Toxicidad Aguda (OCDE 423)

La naturaleza del método alternativo se desarrolla de acuerdo con la normativa establecida en la guía Nro. 423 de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE). La diferencia es que clasifican a partir de los resultados del estudio. El método selecciona tres dosis fijas de letalidad (25, 200 y 2000 mg/kg peso corporal) para cada una. La sustancia no contiene ninguna información, se realiza el ensayo límite usando una dosis de 2000 mg/kg peso corporal de la especie animal en grupos. El método se centra en los efectos adversos ocasionados a posterior de la administración. Se puede reducir el número de animales experimentales con el objetivo de clasificar la sustancia de toxicidad aguda según el sistema universalmente armonizado^(6,58-60).

Método Arriba y Abajo. (OCDE 425)

Según la guía 425 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE). Las sustancias de bajo nivel de toxicidad producen muerte en 2 a 3 días. Los roedores agrupados en cinco se administran a diferentes dosis. Se incrementa o reduce en función de la mortalidad de los animales en 24 horas (dosis límite 2000 mg/kg), lo cual se denomina “arriba y abajo”^(6,8,59).

Test de Irwin mejorado para las ratas

El legado del investigador australiano Robert I (1968), un test para roedores como el ratón, posteriormente mejorado para ratas. Se trata de una práctica observacional, analítica y ordenada, sistematizada que permite evaluar los efectos generales de un xenobióticos sobre el sistema del órgano vivo. Se puede observar alteraciones como la disminución de peso, arcada, sialorrea, diferenciación abdominal, inestabilidad en movimientos, dificultad respiratoria,

convulsión y el decaimiento. La evaluación de seguridad farmacológica se recomienda actualmente por la International Committee for Harmonization (ICH), y se puede determinar el rango de la dosis y proporcionar el inicio sobre indicaciones terapéuticas^(61,62-64).

2.3. Formulación de hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

H0: El extracto etanólico de las hojas de *Miconia guianensis* Aubl “huacapú” no presenta toxicidad aguda en una dosis de 2000 mg/kg en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

H1: El extracto etanólico de las hojas de *Miconia guianensis* Aubl “huacapú” presenta una toxicidad aguda a una dosis de 2000 mg/kg en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Método de investigación

Según el nivel: Analítico, con el propósito de descomponer en elementos, puede apreciar la relación causa, naturaleza y efecto, así como hipotético-deductivo, debido a que a partir de la observación se puede plantear un problema y formular hipótesis del marco teórico⁽⁶⁵⁾.

3.2. Enfoque investigativo

Según la tendencia: Cuantitativo, debido a que recopiló los datos a través de los instrumentos (formatos), organizó e interpretó los resultados que definirán las hipótesis y las conclusiones de la investigación, sujetándose de la estadística descriptiva e inferencial⁽⁶⁶⁾.

3.3. Tipo de Investigación

Según propósito: Aplicada. Se aplicó una investigación dinámica que se centra en la búsqueda de conocimiento, ya que depende del descubrimiento y el aporte teórico para la aplicación de sus resultados⁽⁶⁷⁾.

3.4. Diseño de la investigación

Según el propósito: El estudio se estructuró mediante el diseño experimental, porque se caracteriza por la forma en que ambas variables están relacionadas, utilizando la técnica de la estadística y valorando la causa-efecto. Prospectivo en la recopilación de datos, transversal debido a que fue un tiempo breve, observacional, participa el investigador, realiza el seguimiento de los grupos, control y experimental, registra los datos⁽⁶⁸⁾.

3.5. Población, muestra y muestreo

▪ Población

Vegetal: Las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” del anexo de Pacasmayo, distrito de Santa Cruz, provincia de Alto Amazonas, región Loreto-Perú, ubicado a una altitud de 119 msnm.

Biológico: En *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” obtenidas del centro de investigación nacional de producción biológica (INS) Chorrillos - Lima.

▪ La Muestra

Vegetal: Extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”.

Biológico: Se utilizó 30 *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”, cuyo peso corporal estuvo en 240 g +/- a 280 g +/- de diferentes sexos.

▪ El Muestreo

Vegetal: Se seleccionó hojas secas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”, se llevó a molienda y su tamización con malla de 3 mm. Posteriormente, se procedió a extraer la muestra mediante el método de macerado simple, sumergiéndolo el tamizado en solvente (etanol 70°) por 7 días, luego fue filtrado. El zumo extraído se procedió a la evaporación con el fin de eliminar gradualmente el líquido, y finalmente, se obtuvo 89 g de extracto de consistencia pastosa^(69,70).

Biológico: La muestra fue de tipo probabilístico, puesto que el objetivo del estudio consistía comparar los valores promedios de los parámetros de interés (hematocrito, leucocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos, linfocitos) del grupo experimental con un grupo control. Para determinar el tamaño de la muestra, se aplicó la fórmula para la comparación de promedios, dado por:

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 s^2}{d^2}$$

Donde:

$Z_{\alpha} = 1,96$ Valor de la distribución Normal correspondiente a un error tipo I (α) del 5%

$Z_{\beta} = 1,28$ Valor de la distribución Normal correspondiente a un error tipo II (β) del 10%

S^2 = desviación estándar

d = precisión, es la diferencia entre mínima que queremos detectar entre el grupo experimental y control, se fijó tomando como referencia el promedio muestral.

Los valores de la desviación estándar y la precisión se estimaron de un muestreo piloto de 7 *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”, tal como se muestra a continuación:

Tabla 4: Reemplazando a cada parámetro se obtuvo.

N	Hematocrito (%)	N° Leucocitos (mm3)	Neutrófilos (mm3)	Monocitos (mm3)	Eosinófilos (mm3)	Linfocitos (mm3)
1	0,20	5100	2520	51	0	3315
2	0,22	6400	1792	128	34	3827
3	0,34	5250	2440	178	0	3990
4	0,24	7000	2430	140	0	3430
5	0,33	6000	2160	140	0	3480
6	0,32	4900	1862	200	40	2989
7	0,17	6400	2304	216	35	3712
Media	0,26	5864,29	2215,43	150,43	15,57	3534,71
Desviación estándar	0,07	793,05	289,93	54,96	19,51	337,68
Precisión	0,07	820,00	300,00	60,00	8,00	350,00
n muestra	20,4	19,7	19,6	17,6	125,0	19,6

A continuación, el tamaño adecuado para medir y comparar todos los parámetros fue de 20 ratas para el grupo experimental, a excepción de la cantidad de eosinófilos. En relación con el grupo control, se fijó el tamaño por la mitad, es decir, 10 ratas, lo que dio como resultado un tamaño de muestra total de 30 ratas (15 hembras y 15 machos), los cuales fueron seleccionados mediante un muestreo probabilístico aleatorio simple. En cuanto al parámetro eosinófilo, debido a su enorme dispersión, se requiere un tamaño muy grande ($n=125$), lo cual está fuera del alcance para este estudio.

Criterios de inclusión

- a) *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” de ambos sexos.
- b) *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” no grávida.
- c) *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” de peso corporal óptimo de ≥ 250 a ≤ 300 g.

Criterios de exclusión

- a) *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” de menor peso corporal.
- b) *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” si se encuentran grávidas.
- c) *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” con signos de enfermedad.

En esta investigación se aplicó un muestreo probabilístico aleatorio simple debido a que la información que surja de la muestra se extienda a la población de estudio y porque todos los miembros de la población tienen la posibilidad de formar parte de la muestra⁽⁶⁶⁾.

3.6. Variables y operacionalización

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	valores	Ítem	Escala	Instrumentos de recolección de datos
V. INDEPENDIENTE Extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”	La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido y las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” poseen una serie de compuestos solubles en los reactivos de extracción ⁽⁷³⁾	La solubilidad se refiere a la capacidad que posee el extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> . Aubl “huacapú” para formar una solución homogénea. Estudio fitoquímico cualitativo de los metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> . Aubl “huacapú”.	Identificación de la especie.	Las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl.	Certificación Taxonómica.	Agua destilada Etanol Metanol Butanol Hexano Acetato de etilo Cloroformo Benceno Éter etílico Éter de petróleo.	Nominal	Ficha de verificación visual de solubilidad.
			Disolución física del extracto.	Solubilidad.	Soluble o Insoluble			
			Identificación de metabolitos secundarios.	Compuestos Fenólicos. Flavonoides Flavonoides Taninos Alcaloides Alcaloides Alcaloides Alcaloides Alcaloides Alcaloides Esteroides y/o triterpeno Esteroides	Presencia (+) Ausencia (-)	FeCl3 1% AlCl3 1% Shinoda Gelatina/NaOH Bertrand Dragendorff Mayer Popoff(hager) Wagner Sonnenschein Liberman-burchard Salkowski.	Nominal	Escala cualitativa visual.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Valores	Ítems	Escala	Instrumentos de recolección de datos
V. DEPENDIENTE Toxicidad aguda	Se trata de efectos adversos que se producen después de la administración oral de una sustancia a una sola dosis sobre las especies de ensayo durante 14 días ⁽¹⁶⁾ .	Se ha establecido que la toxicidad aguda se induce a las especies de laboratorio a una dosis letal media, guiado por la normativa OCDE 423, dosis limitada calculada sobre peso corporal y administración oral. La base de datos en efecto es la observación, el test de Irwin y el análisis de los parámetros hematológico y anatópatológico ^(58,77)	Test de Irwin.	Parámetros de test de Irwin.	Leve. Moderado. Pronunciado.	SNC. Motora. Sedación Dolor Excitación Estereotipia Automático.	Nominal	Ficha de recolección de datos de test de Irwin modificado.
			Parámetros hematológicos.	Valores hematológicos fuera de los rangos normalizados.	Normal. Alterado.	Hematocrito Leucocitos Neutrófilos Monocitos Eosinófilos Linfocitos.	Ordinal	Ficha de parámetros hematológicos.
			Análisis Anatomopatológico.	Análisis macroscópico.	Daño del órgano blanco.	Cerebro, Hígado Riñón, Testículo Ovario, Bazo Estómago, Pulmón y Corazón.	Nominal	Ficha de recolección de datos macroscópico.
				Análisis microscópico.	Daño tisular y celular de órganos blanco.	Cerebro, Hígado Riñón, Testículo Ovario, Bazo Estómago, Pulmón, Corazón.	Nominal	Análisis histopatológico.

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1. Técnicas

El desarrollo de la técnica se realizó siguiendo los procedimientos observacionales en la investigación experimental, de la cual se recolectó los datos obtenidos en un momento inicial y final relacionado con la toxicidad aguda del extracto etanólico. Para ello se preparó una lista de chequeo. Se administró una solución homogénea del extracto vegetal etanólico de las hojas *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú”^(40,68,69).

3.7.2. Descripción

El ensayo toxicológico

Proporciona datos acerca de los efectos del extracto del vegetal en los órganos de *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”. Se llevó a cabo siguiendo las pautas de los métodos de clase toxicidad aguda oral OCDE 423 (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico). Según las Normas Éticas de la Unión Europea para la Experimentación del Animal. Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)^(57,58,70).

Tabla 5: Valoración de toxicidad aguda en función a la dosis^(9,47).

Evaluación de sustancia	Administración	Aplicación. 3R Nro de especie animal <i>Rattus.</i>	Frecuencia	Dosis límite
Toxicidad aguda (OCDE 423)	Vía: Oral	30 (H y M)	Dosis única	2000 mg/kg peso corporal.

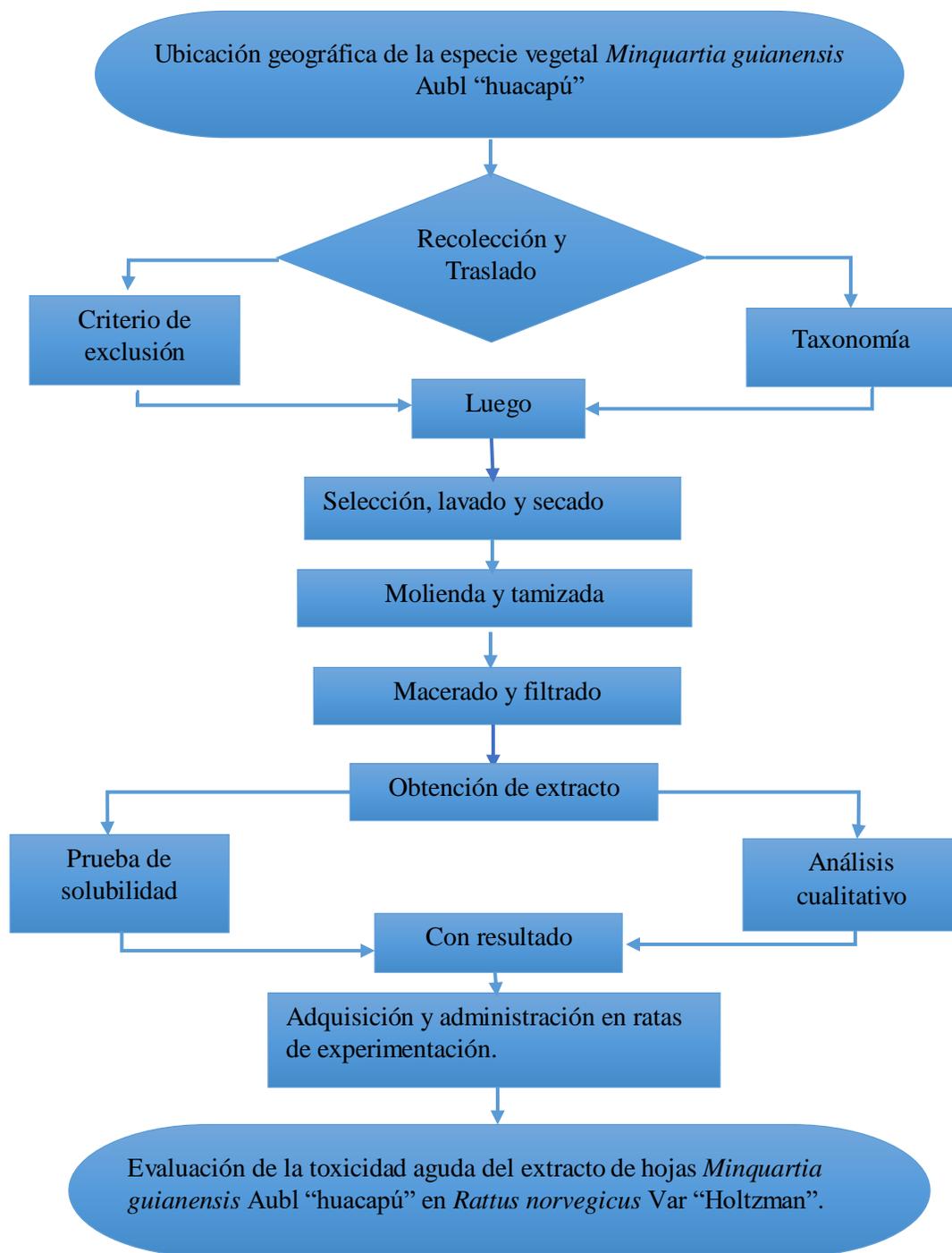


Figura 5: Obtención del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl "huacapú" (72,73).

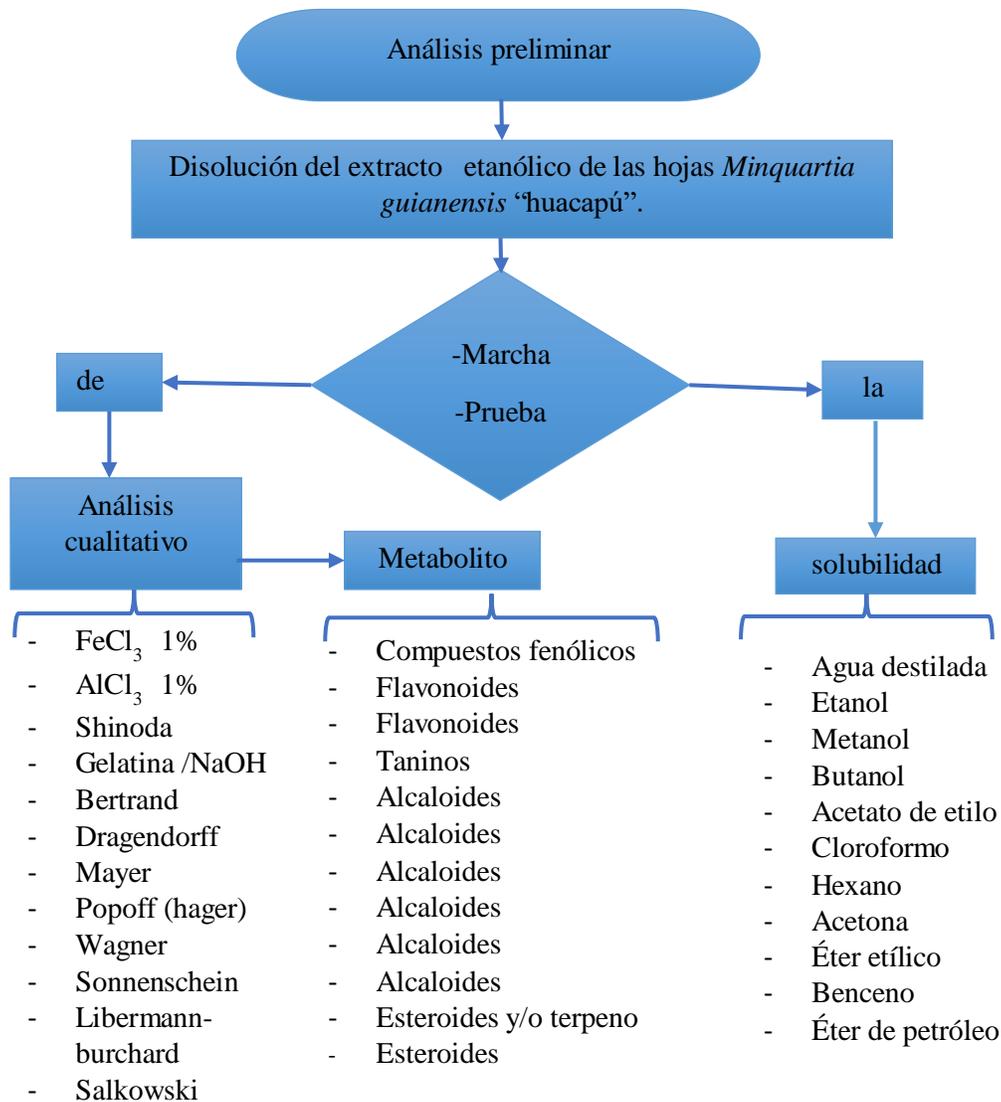


Figura 6: Análisis cualitativo y la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” (73,74).

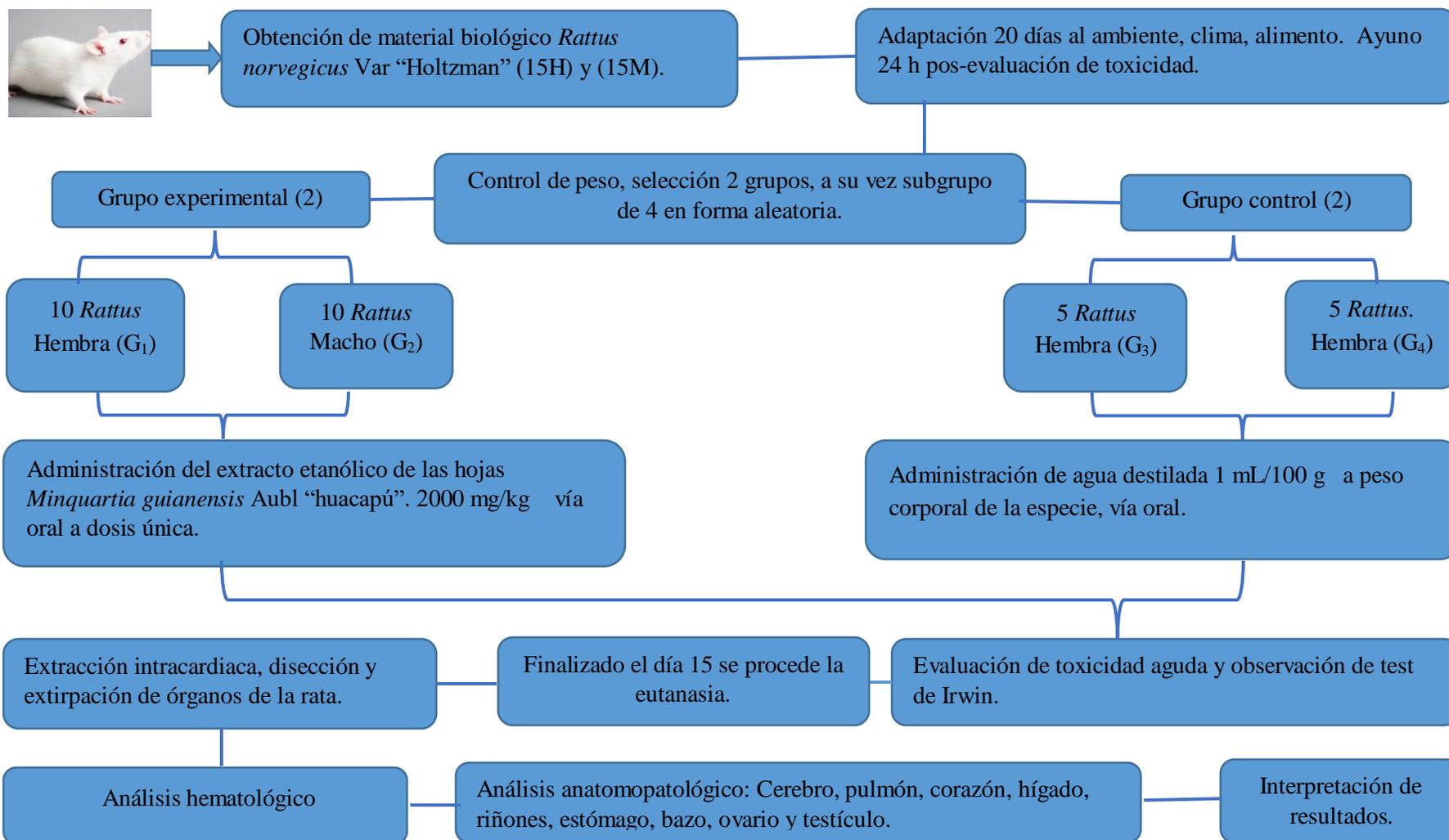


Figura 7: Procesamiento de las técnicas para la evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

Acondicionamiento de la especie animal en experimento

En el bioterio, centro de control de calidad de medicamento del Ministerio de Salud de Chorrillos-Lima, se adquirió la especie con peso promedio de 240 g \pm 10 g (rata hembra) y 280 g \pm 10 g (rata macho) respectivamente. Se albergó en el bioterio Nro. 2 del laboratorio centro de investigación farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad privada Norbert Wiener. Ambiente de connotación ética de la institución durante 7 días de duración. Alimentación planificada y con agua purificada, limpieza periódica y control de la luz 12 horas, pernoctando en oscuridad 12 horas. Con el rótulo adecuado para cada género. Se estableció con estricta atención y respecto al bienestar de la especie en experimento y con debida atención y respeto hasta finalizar la investigación^(64,70,75,76).

Tabla 6: Aleatoriamente agrupados animales de experimentación.

Nro. JAULA	CODIGO	Nro. JAULA	CODIGO
1	GARHB (1 a 5)	4	GBRMB (1 a 5)
2	GARHT (6 a 10)	5	GBRMT (6 a 10)
3	GARHT (11 a 15)	6	GBRMT (11 a 15)

Fuente: Instrumento de investigador.

Desarrollo y administración de la evaluación de toxicidad aguda

La evaluación se realizó en el laboratorio, centro de investigación farmacéutica de Facultad de Farmacia y Bioquímica, bajo la supervisión de la Dra. Juana Elvira Chávez Flores. Las *Rattus* estuvieron en ayuno durante 24 horas a base de agua purificada, así como el pesado final para el cálculo de la dosis correspondiente. El extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” fue pesado en la balanza analítica y se disolvió en agua destilada.

Administración

Se cargó el volumen correspondiente de cada rata de ambos sexos en la jeringa de 1 mL antes de instalar la sonda orogástrica Nro. 18 aceros en la jeringa de 1 mL, siguiendo el método dosis única límite de 2000 mg/kg (OCDE 423)^(40,58,77). Es sujetado en posición vertical, sé

administró por la vía oral⁽⁷⁰⁾. Administrando agua destilada 1,5 mL a los grupos blancos con sus instrumentos esterilizados respectivamente^(74,75).

Observaciones del efecto tóxico en animales del experimento

Una vez completado el tratamiento con el extracto etanólico del vegetal, de acuerdo con el peso corporal y volumen en mL correspondiente de *Rattus*. Se observó el efecto letal del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” durante 24 horas. A continuación, se observaron eventos clínicos del efecto tóxico en estado general de las especies en experimentos durante 14 días, evaluados sobre los parámetros test de Irwin mejorados para *Rattus* en cuanto al comportamiento, actividad sensorial (visión, audición); neuromuscular (movimiento, incoordinación). Sistema autónomo^(62,64,77). Una vez finalizado el estudio, se lleva a cabo la eutanasia (muerte sin aflicción) y fueron anestesiados con pentobarbital sódico por la vía intraperitoneal.

Extracción sanguínea punzón intracardiaca de la *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”

Se tomó una muestra sanguínea de punción intracardiaca: En posición de cubito supino y luego el punzón en el ventrículo izquierdo extrayendo 3 mL de sangre, se cargó en los tubos que contienen anticoagulantes y posteriormente homogeneizadas con un movimiento suave durante unos segundos para mezclar la muestra y luego el análisis hematológico⁽⁷⁸⁾.

Proceso y recuento de células sanguíneas: Se utilizó EDTA-k3 para el análisis hematológico. Expresado en gramo por decilitro (g/dL), para definir las alteraciones de los valores normales, y se mide a través de la centrifugación. Las cantidades normales de hemoglobina son variables, así como también depende de los factores edad, sexo y lugar^(78,79).

Tabla 7: Valores referenciales hematológicos⁽⁷⁹⁾.

Espece	Hematocrito %	Hematíes (10 ¹² /l)	Hb (g/dl)	Reticulocito (% RBC)	Wbc (10 ⁹ /l)	T tiempos de coagulación (Segundos)
Rata	35- 45	7,2 – 9,6	12-	1,7 – 21,1	14,0	20

18

Tabla 8: Procesamiento y determinación de la línea roja^(79,80,81).

Células sanguíneas	Detalle	Equipo	Reactivo
-Hematocrito	-Centrifugado para detectar células anormales.	- Microcapilares. - Centrífuga. - Papel milimetrado	
-Hemoglobina	-Se vertió en tubo de ensayo 5 mL	- Micropipeta	-Drabkin
-Hematíes	-Homogeneizado. -Se leyó el 5 ^o cuadrante.	- Pipeteador bucal. - La cámara de Neubauer.	-Hayem
-Fórmula	-RBC = Recuentos de los hematíes (número de hematíes por mm ³ de sangre).		
-RBC= H × 50× 10 × D	H = Hematíes contados en 5 cuadrantes medianos. D = Factor de dilución (200).		

Tabla 9: Procesamiento y recuento de leucocitos en líquido de Türk ⁽⁸⁰⁻⁸²⁾.

Células sanguíneas	Detalle	Equipo	Resultado-coloración
-Neutrófilos	-Homogeneizado la sangre con el líquido de turk y leer 4 cuadrantes	-Pipeteador bucal.	-Violeta azulado.
-Linfocitos		- Cámara	-Rosado intenso a
-Monocitos		de Neubauer.	Naranja
-Eosinófilos			
-Basófilos			
-Fórmula	-WBC = Recuento de leucocitos (número de leucocitos por mm ³ de sangre)		
-WBC = (L / 4)	L = Leucocitos contados en 4 cuadrantes grandes		
× 50 × D	D = Factor de dilución (20)		

El procedimiento de la autopsia

Para la disección de Virchow, se utilizó hoja de bisturí número 15. Se ubicó las ratas en forma de cubito supino y se efectuó la incisión en el pelaje. Asimismo, en la pared abdominal de forma (Y), desde la región pubis coxal hasta la línea media que llega al tórax^(76,83).

Se llevó a cabo la evisceración con diligencia y con procedimientos delicados, los órganos diana fueron extraídos para el análisis anatomopatológico, de manera que se utilizó métodos para conservación las características anatómicas normales, también su color y olor. En la cual el sangrado característico por la ruptura de los vasos sanguíneos producto de la manipulación, fue posteriormente lavado con agua destilada^(84,85). Finalmente, colocados en los recipientes con solución de formol al 10% y asignado con su correspondiente código de cada grupo en estudio. La muestra distribuida de ambos especie por género en experimentación y blanco.

Las etapas de preparación para elaborar la muestra de tejido

Se aplicó la técnica de necropsia extrayendo con prontitud los órganos para conservar las características morfológicas de *Rattus* cuando estaban en vida para el análisis microscópico. Cabe aclarar que la obtención de la muestra influye la calidad para los resultados^(83,86,87).

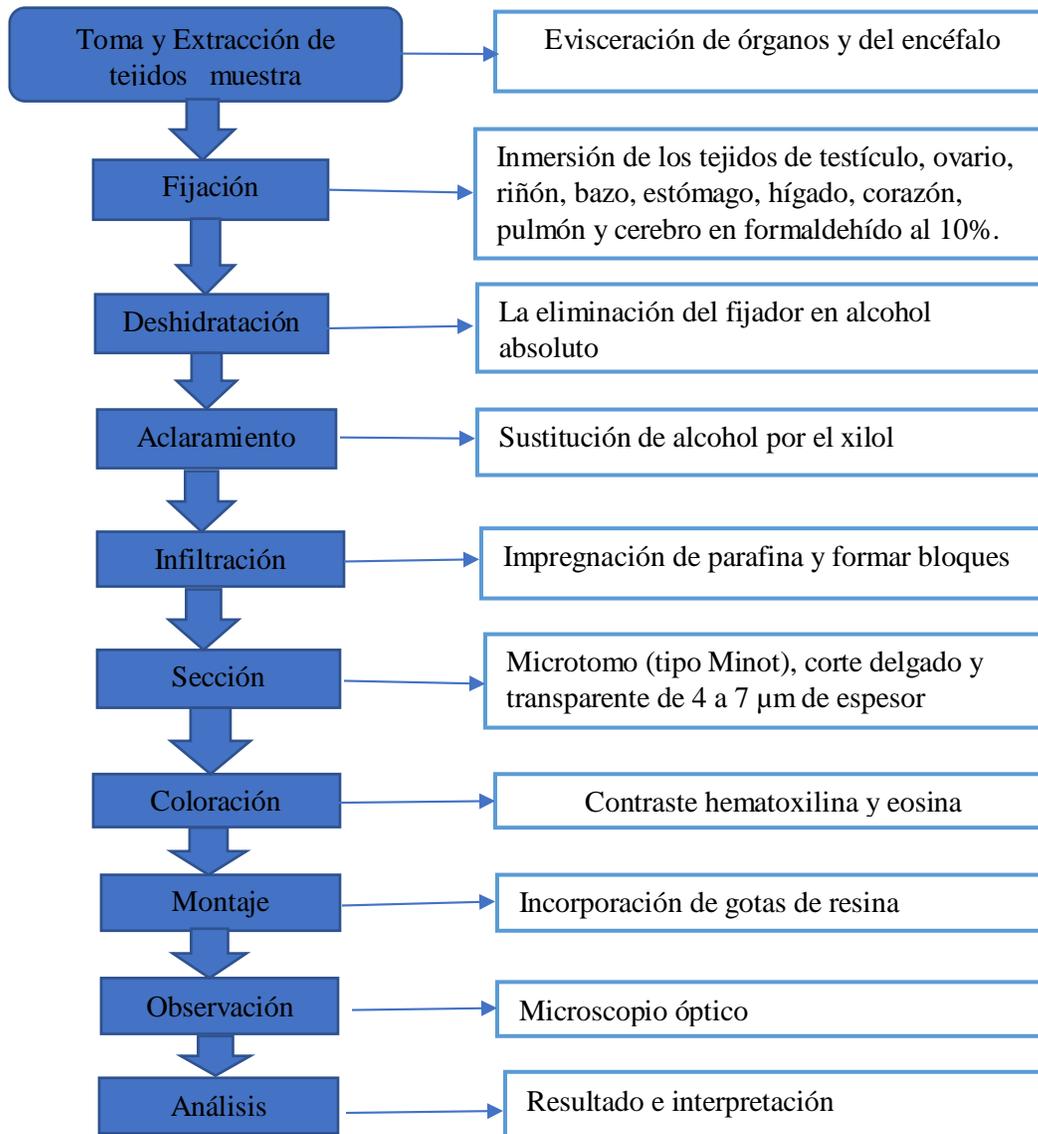


Figura 8: Procedimiento de las técnicas histopatológico de los tejidos ^(83,86).

3.7.3. Validación.

Se elaboró un formato adaptado para la investigación sobre la base del test de Irwin, que contiene el registro de diversos datos de los parámetros y fue certificado por tres profesionales Químico Farmacéutico investigadores en farmacología experimental con grado de doctor y magíster.

3.7.4. Confiabilidad

Por lo que se refiere a la confiabilidad del instrumento, en el caso del ensayo experimental se realizó análisis preliminar cualitativo fitoquímico, test de Irwin mejorado: El procedimiento observacional recomendado por la (ICH) para la evaluación de la seguridad farmacológica, parámetro hematológico y anatomopatológico. Se redactó en formatos los diferentes resultados según las muestras, este instrumento es factible porque se ajustan a los parámetros existentes para detectar efectos de la sustancia. Para la confiabilidad de los instrumentos se utiliza el paquete estadístico IBM SPSS STATISTICS versión 25.

3.8. Procesamiento y análisis de datos

Se recolectó la información y se redactaron los datos obtenidos en hojas de word durante el tiempo de evaluación hasta que finalizó la investigación. Se tabularon en hojas de cálculo en Excel de acuerdo a cada objetivo, variables y dimensiones del estudio. A continuación, los datos recopilados se envían a un paquete estadístico IBM SPSS versión 25, regresión logística probit con un nivel de probabilidad de $p < 0,05$. De igual modo, el análisis descriptivo e inferencial para la prueba de hipótesis, también aplicó la prueba de T de Student, prueba de U de Mann-Whitney para la prueba de hipótesis. Se concluye de acuerdo con los resultados expresados en tablas, figuras e interpretados para el informe de la investigación⁽⁴⁰⁾.

3.9. Aspectos éticos

En consideración al artículo 25 de la ley 30407 (Ley de protección y bienestar de los animales), que establece la prohibición del uso animal en procesos de investigación, excepto para ser utilizado en la ciencia y la salud pública. Se utilizaron 15 *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” hembras y 15 *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” machos, manipuladas con respeto a los animales de experimentación, lo cual fue aceptado por el Instituto Nacional de Salud (INS)^(59,88). Así mismo, se efectuó la investigación bajo los lineamientos de ética experimental de la institución privada Universidad de Norbert Wiener.

CAPÍTULO IV: PRESENTACION Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Resultados

4.1.1. Análisis descriptivo de resultados

Tabla 10: La solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”.

Solvente	Nomenclatura	Resultado
Agua destilada 	H_2O	+
Etanol 	$EtOH$	+
Metanol 	$MeOH$	+
Butanol	$n - BuOH$	-
Acetato de etilo	$EtOAc$	-
Cloroformo	$CHCl_3$	-
Hexano	Hex	-
Acetona	Me_2CO	-
Benceno	Bz	-
Éter Etílico	Et_2Ot	-
Éter de petróleo	EP	-

En la tabla 10, se observó el extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”, soluble en solventes polares tales como: agua destilada, etanol, metanol e insoluble en solventes apolares, como butanol, acetato de etilo, cloroformo, hexano, acetona, acetona, éter etílico, éter de petróleo.

Tabla 11: Análisis cualitativo de metabolitos de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”.

Tipo de extracción	Parte de la especie	Reactivo	Metabolito	Especificación	Resultado
Etanólico En 70°	De las hojas	FeCl ₃ 1%	Compuestos fenólicos	Verde azulado	+
		AlCl ₃ 1 %	Flavonoides	Presencia de halo amarillo en Luz UV.	+
		Shinoda	Flavonoides	Color rojo oscuro	+
		Gelatina /NaOH	taninos	Precipitado blanco lechoso.	+
		Bertrand	Alcaloides	Precipitado blanco	+
		Dragendorff	Alcaloides	Precipitado naranja	+
		Mayer	Alcaloides	Precipitado blanco	+
		Popoff (hager)	Alcaloides	Precipitado amarillo	+
		Wagner	Alcaloides	Café Precipitado marrón	+
		Sonnenschein	Alcaloides	Precipitado amarillo verdusco	+
		Libermann- Burchard	Esteroides y /o triterpeno	Amarillo rojizo	+
Salkowski	Esteroides	Coloración roja	+		

Leyenda: Ausencia (-), Presencia (+)

Como se muestra en la tabla 11, se observó el análisis cualitativo preliminar del extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” y metabolitos secundarios, tales como de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides / triterpenos y esteroides.

Tabla 12: Resultado. Test de Irwin mejorado, en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

Especie vegetal: <i>Minuartia guianensis</i> Aubl “huacapu”.																								
Peso: GARH: 240 g +/- GBRM: 280 g +/- Dosis: Límite de 2000 mg/kg (OCDE 423) Administración: Vía oral																								
Sustancia: Extracto vegetal, Agua destilada. Fecha: 27 de mayo de 2022 / Hora de administración 3 pm. Frecuencia: Dosis única.																								
Responsables: Julia Espinoza Rivera y Janet Serván Meléndez																								
N° Grupos: GARH (5Blanco) Y (10Tratado). GBRM (5Blanco) Y (10 Tratado)		Observación y respuesta en 48h							Observación y respuesta en 12 día															
TOTAL: En evaluación 30 Ratas. tiempo de respuesta		P	0-	30	1h	2h	4h	9h	12	24	48	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
SNP (Motor: somático al S.N.C.)	Catalepsia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Acinesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Ataxia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Trastornos de la marcha (laminación)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Trastornos de la marcha (punta de los pies)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Descoordinación motora	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Pérdida de tracción	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Perdida de reflejo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Perdida de jadeo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sedación	Disminución de la actividad	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Disminución del miedo / sobresalto	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Disminución de la reactividad al tacto	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Disminución tono músculos /abdominales	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Dolor	Retorciéndose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Frecuencia respiratoria	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Analgesia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Excitación. (simpática)	Convulsiones /tónica/ atónica/mixtas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Temblor fino / fuerte en cuerpo	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Cola de straud	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Mayor actividad	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Sobresalto/ Saltar	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Aumento de miedo/mayor sobresalto.	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Mayor reactividad al tacto	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Aumento tono músculos/ abdominales	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Reacción de alarma	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Estereotipia (comporta)	Agresión / irritabilidad	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Emplazamiento	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Estereotipias movimiento de la cabeza	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Estereotipias masticando	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Estereotipias olfateando	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Rascarse	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
SNP: Motor Eferente Automático	Fasciculaciones	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Ópticos: Ptosis palpebral	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Óptico: Exoftalmia / Enoftalmia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Óptico: Miosis/ midriasis	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Óptica: Nistagmos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Defecación/ Diarrea	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
	Orinar	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
	Secreción: Salivación	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Secreción: Lagrimeo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Orejas: pálidas	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Orejas: hiperemia	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Orejas: cianosis	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Piloerección	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hipotermia / Hipertermia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Subj etivo	Agresivo	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pasivo		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Temeroso		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Otra Obs.	Muerte /Necropsia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Leyenda: Normal (4), Ausente (-), Leve (+), Grave (++)

Los resultados de la tabla 12, se consolidó lo observado de un periodo de 14 días, previo seguimiento del parámetro test de Irwin mejorado para rata y adaptado para esta investigación. Las observaciones del grupo experimental en comparación a grupo control, tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. Se consideró, según López D (2011)⁽⁶⁴⁾, asignar una puntuación de 0 a 8 para los ítems y punto base 4 (normal), para los efectos tóxicos del extracto etanólico en análisis. En la cual se manifestó actividades de desplazamiento y coordinación motora normales en ambos grupos. Las funciones fisiológicas de grupo control y experimental se evidenció normal. La actividad comportamental se manifestó normales en grupo control y experimental. Se evidenció en las observaciones de cada ítem que el extracto de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” que no produjo efectos tóxicos sobre el sistema nervioso central.

Tabla 13: Resultado de observación macroscópica de los órganos tratados y blanco de *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

Órganos de rata hembra	Grupo control	Grupo experimental	Órganos de rata macho	Grupo control	Grupo experimental
Cerebro	-	-	Cerebro	-	-
Pulmón	-	-	Pulmón	-	-
Corazón	-	-	Corazón	-	-
Hígado	-	-	Hígado	-	-
Estómago	-	-	Estómago	-	-
Bazo	-	-	Bazo	-	-
Riñón	-	-	Riñón	-	-
Ovario	-	-	Testículo	-	-

Leyenda: Normal (-), leve (+), moderado (++), cevero (+++).

En la tabla 13, se muestran los resultados de las observaciones macroscópicas de los órganos diana de mayor irrigación, que fueron tratados con el extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”. Se visualizó el color normal, se percibió el olor característico. Sobre todo, conservó su anatomía. Sin presentar lesiones en los diferentes órganos estudiados.

Tabla 14: Parámetros hematológicos en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” tratadas con extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú”.

Sexo		Recuento Hematíes (m/ mm ³)	Hemoglobina (g/dL)	Hematocrito (%)	N° Leucocitos (mm ³)	Linfocitos (mm ³)	Monocitos (mm ³)	Neutrófilos (mm ³)	Eosinófilos (mm ³)	
Macho	Control (n = 5)	Media	5,22	15,66	0,47	8800,00	4128,20	329,40	4132,20	208,20
		Desviación estándar	0,04	0,64	0,02	751,66	579,98	177,17	1197,06	100,78
		C.V.%	0,82	4,10	4,08	8,54	14,05	53,79	28,97	48,40
		Mediana	5,23	15,60	0,47	8900,00	4240,00	320,00	3827,00	188,00
	Experimental (n = 10)	Media	5,13	15,22	0,46	11595,00	5063,60	309,40	5698,80	256,00
		Desviación estándar	0,24	0,91	0,03	1678,70	1825,40	222,18	1279,25	151,26
		C.V.%	4,71	5,98	5,94	14,48	36,05	71,81	22,45	59,09
		Mediana	5,20	15,30	0,46	11775,00	5340,50	331,50	5598,00	244,50
Hembra	Control (n = 5)	Media	4,65	13,54	0,41	7600,00	2993,80	74,60	4521,60	16,20
		Desviación estándar	0,16	0,52	0,02	291,55	155,08	105,72	260,55	36,22
		C.V.%	3,44	3,86	3,86	3,84	5,18	141,71	5,76	223,61
		Mediana	4,64	13,50	0,41	7500,00	3040,00	0,00	4440,00	0,00
	Experimental (n = 10)	Media	4,99	14,62	0,44	7660,00	3674,40	170,60	3737,40	77,60
		Desviación estándar	0,23	0,77	0,02	359,63	450,10	65,88	342,29	83,19
		C.V.%	4,51	5,30	5,09	4,69	12,25	38,62	9,16	107,20
		Mediana	4,99	14,50	0,44	7700,00	3612,50	157,00	3651,00	75,50

En la tabla 14, se presentaron las estadísticas descriptivas de los parámetros hematológicos y fueron calculados por separado *Rattus* machos y hembras del grupo control y el grupo experimental, el cual fue tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en una dosis de 2000 mg/kg. En las *Rattus* hembra se ha podido observar el grupo tratado con el extracto, con un promedio de 4,99 millones de recuentos de hematíes por mm³, lo cual fue superior al grupo control con solo 4,65 millones por mm³. Esto también se observó al comparar los promedios de los otros parámetros con la excepción de los neutrófilos. En comparación con los *Rattus* macho, se observaron ligeras disminuciones en los hematíes, hemoglobina, monocitos, mientras en el número de leucocitos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos los promedios del grupo experimental fueron superiores al grupo control. Además, se presentan medidas de dispersión absoluta (desviación estándar) y relativa (C.V.% coeficiente de variación); en general el recuento de hematíes, hemoglobina, hematocritos presentaron una clara homogeneidad relativa (C.V. < 10%), mientras que los valores de monocitos y eosinófilos presentan una mayor variabilidad relativa (C.V. > 50%). Asimismo, se observó el valor de la mediana, que al comparar entre grupos se llega a la misma conclusión de la comparación de los promedios.

Tabla 15: Distribución del peso promedio de *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” tratadas con extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” según fechas.

	Día 1	Día7	Día 14
Grupo control macho	253,4	237,8	264,2
Grupo experimental macho	257,1	242,2	258,2
Grupo control hembra	228,2	219,0	237,0
Grupo experimental hembra	237,2	212,9	237,0

Fuente: Instrumento del investigador.

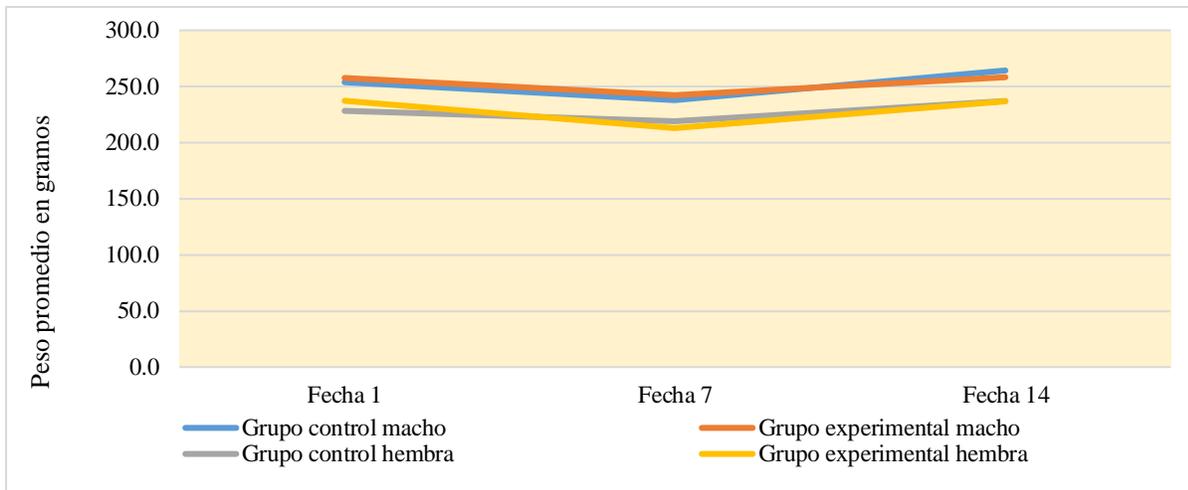


Figura 9: Se mostraron la distribución del peso promedio de *Rattus norvegicus* Var "Holtzman" tratadas con extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl "huacapú" según fechas.

En la tabla 15 y la figura 9. Los pesos de *Rattus* se han mantenido constantes durante el seguimiento del estudio; se pudo observar que estos se mantienen constantes a lo largo de las fechas, no se ha detectado una alteración significativa del peso.

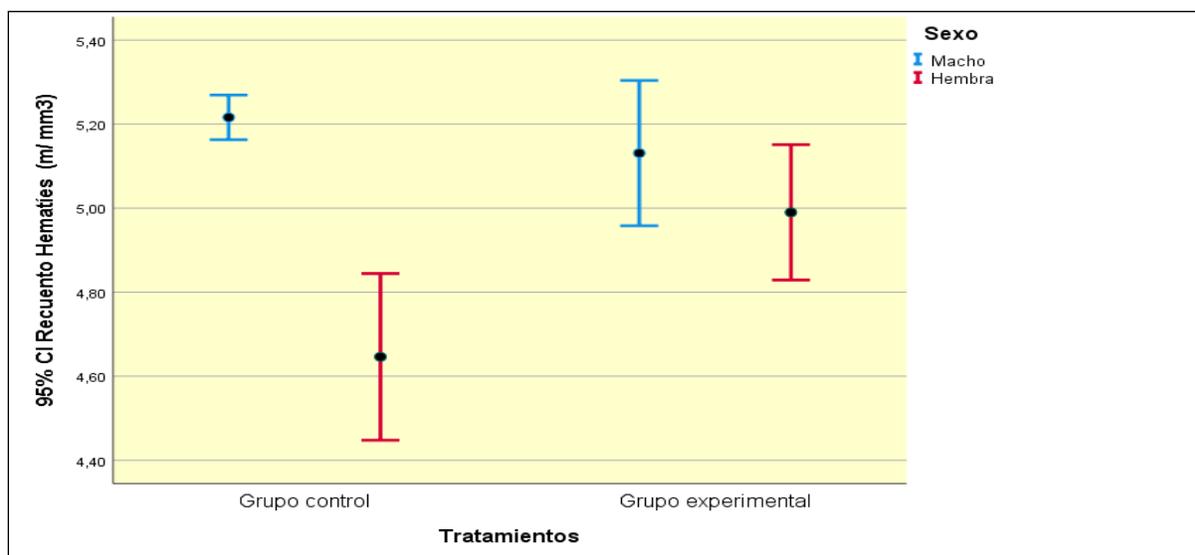


Figura 10: Se mostraron el valor promedio del recuento de hematíes en *Rattus norvegicus* Var "Holtzman" tratados con el extracto etanólico experimental.

Las barras de error de la figura 10 presentaron la estimación de los niveles promedio del recuento de hematíes mediante intervalos de confianza al 95%. Observamos claramente que en el caso de las ratas hembra el valor promedio del grupo experimental es superior al grupo control, mientras que en el caso de los *Rattus* macho el intervalo del grupo control está contenido en el grupo experimental.

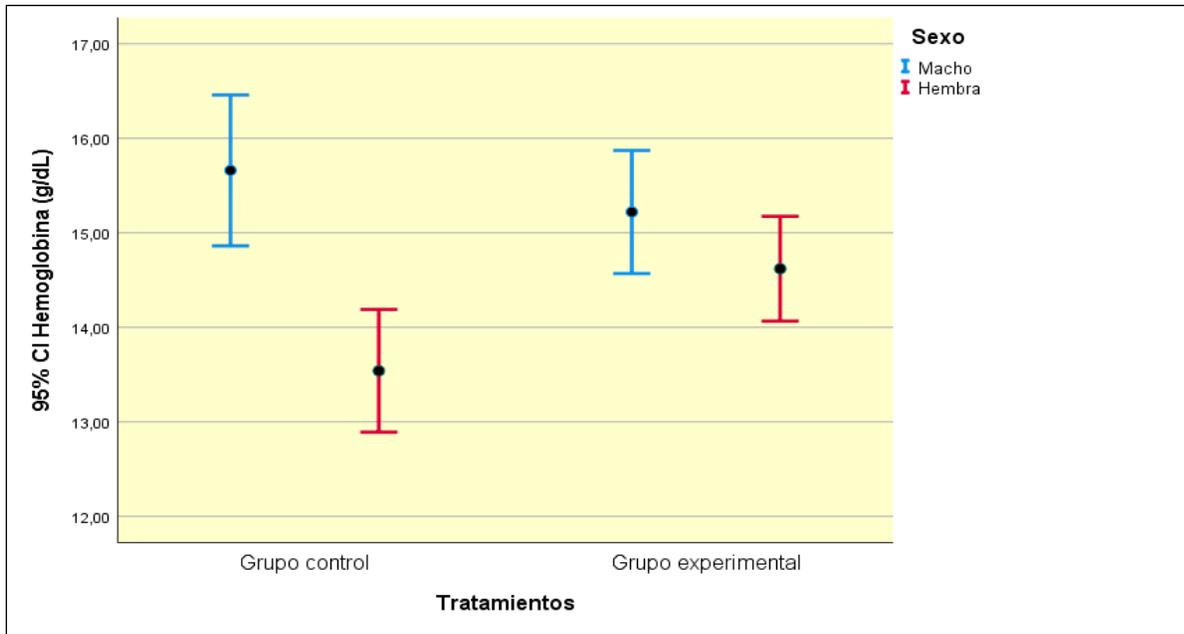


Figura 11: Se mostraron el valor promedio de hemoglobina en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” tratadas con el extracto etanólico experimental.

De manera análoga, las barras de error de la figura 11 presentaron la estimación de los niveles promedio de hemoglobina mediante intervalos al 95% de confianza. Observamos claramente en el caso de las *Rattus* hembra, el valor promedio del grupo experimental es superior al grupo control, mientras que en el caso de los *Rattus* macho más de la mitad de los intervalos están traslapados como signo de igualdades de dichos promedios.

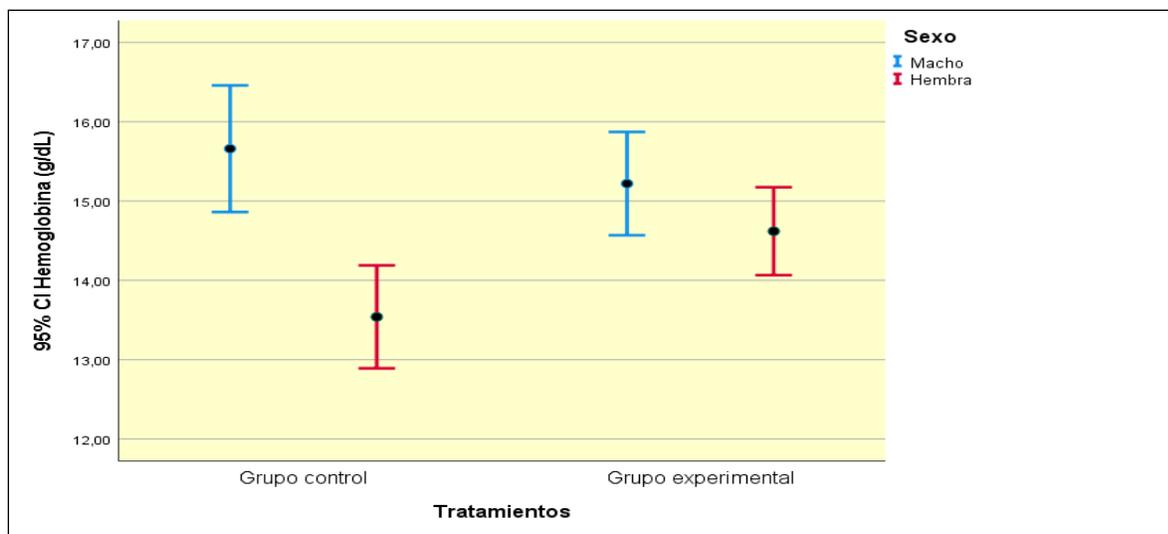


Figura 12: Se mostraron el valor promedio del % de hematocritos en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.

El análisis de la figura 12 indica que la estimación interválica del hematocrito promedio en el caso de las *Rattus* hembra del grupo experimental es superior al grupo control, mientras en el caso de los *Rattus* macho, los intervalos están casi completamente traslapados como signo de igualdad dichos promedios.

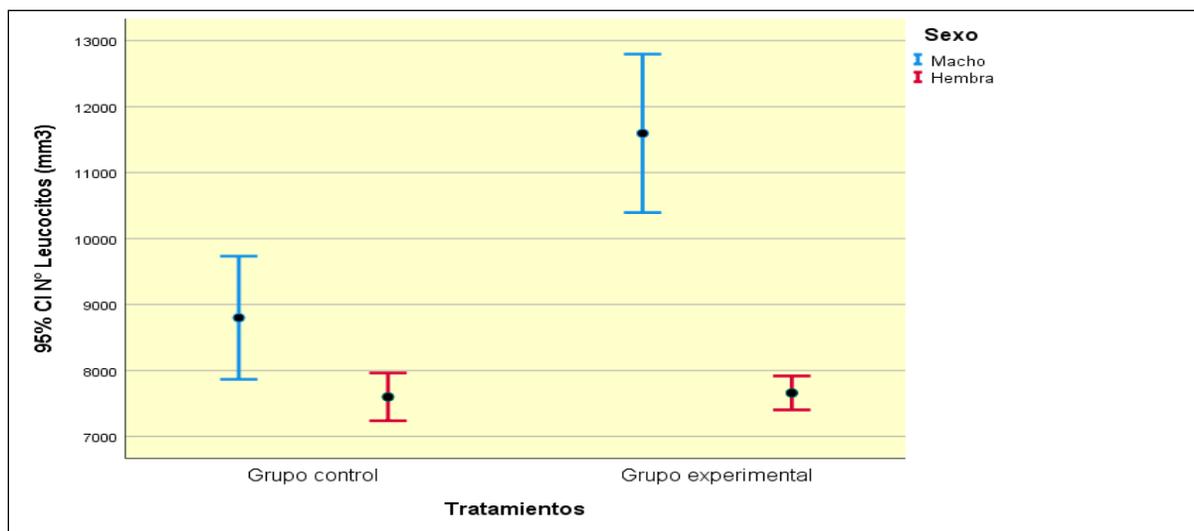


Figura 13: Se mostraron el valor promedio del número de leucocitos en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.

De acuerdo con las figuras anteriores, la figura 13 estimaron que los valores promedio del número de leucocitos en el caso de los *Rattus* macho del grupo experimental son totalmente superiores al grupo control, mientras en el caso de las *Rattus* hembra, el intervalo de pronóstico del grupo experimental está contenido en el grupo control lo cual indica igualdades dichos promedios.

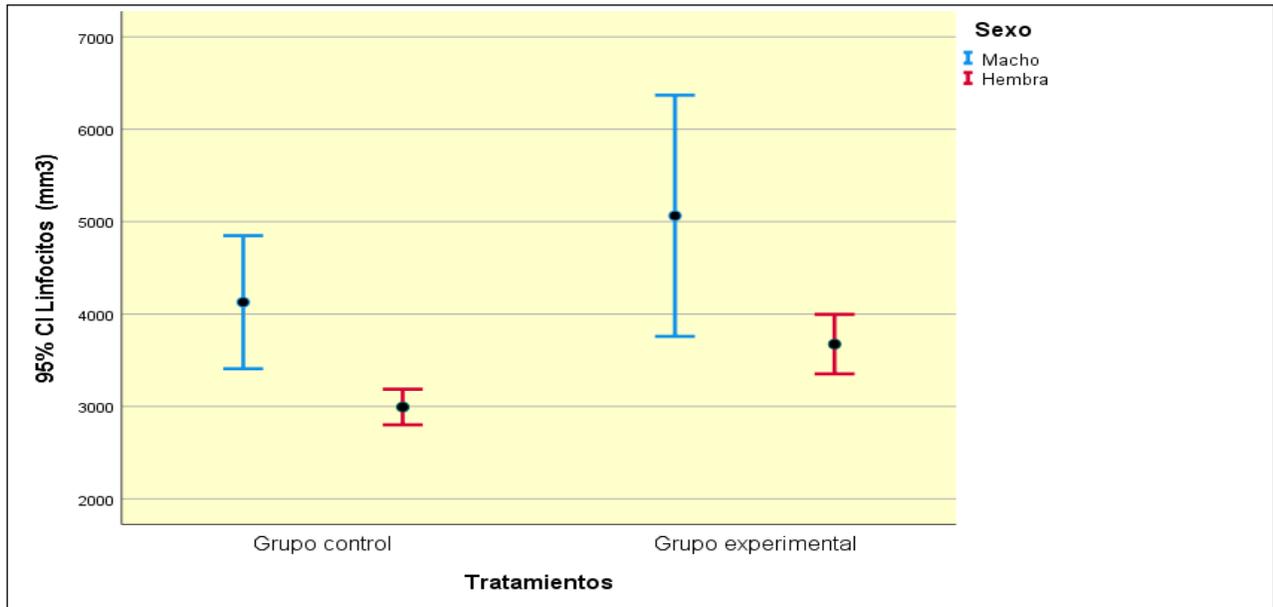


Figura 14: Se mostraron el valor promedio de linfocitos en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.

El análisis de la figura 14 indica que la estimación interválica del número promedio de linfocitos en caso de las *Rattus* hembra del grupo experimental es superior al grupo control, mientras en el caso de los *Rattus* macho, los intervalos están casi completamente traslapados como signo de igualdades dichos promedios.

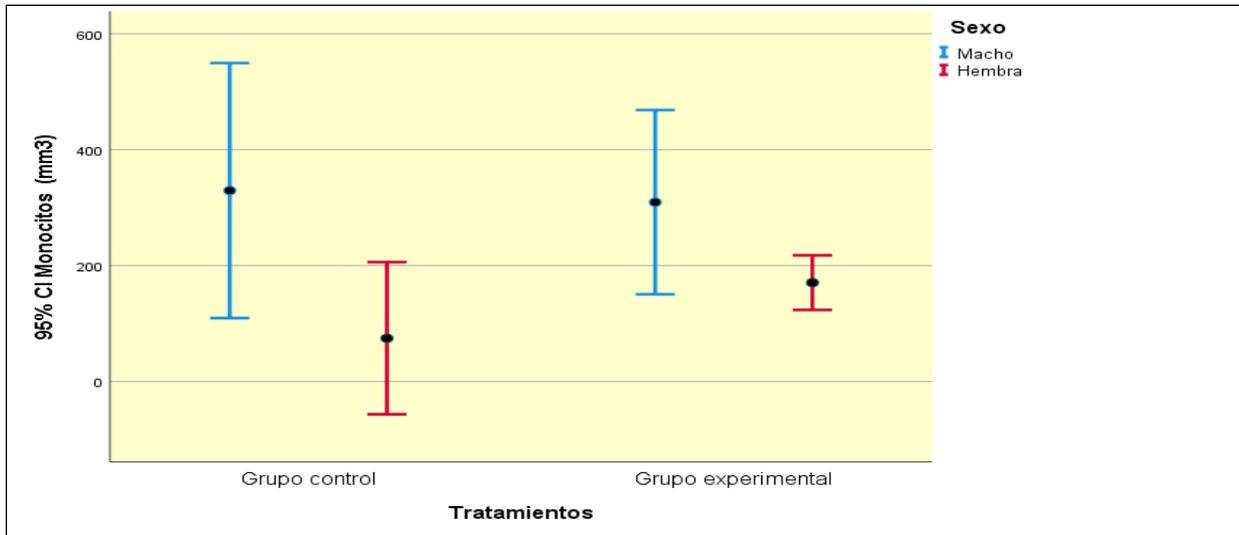


Figura 15: Se presentaron el valor promedio de monocitos en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.

El análisis de la figura 15 mostraron intervalos traslapados, lo cual no permite afirmar de manera clara que el número promedio de monocitos en el caso de las *Rattus* hembra del grupo experimental sea superior al grupo control. Esto se definirá mediante pruebas de hipótesis, mientras en el caso de los *Rattus* macho, los intervalos están totalmente traslapados, lo que indica igualdades de dichos promedios.

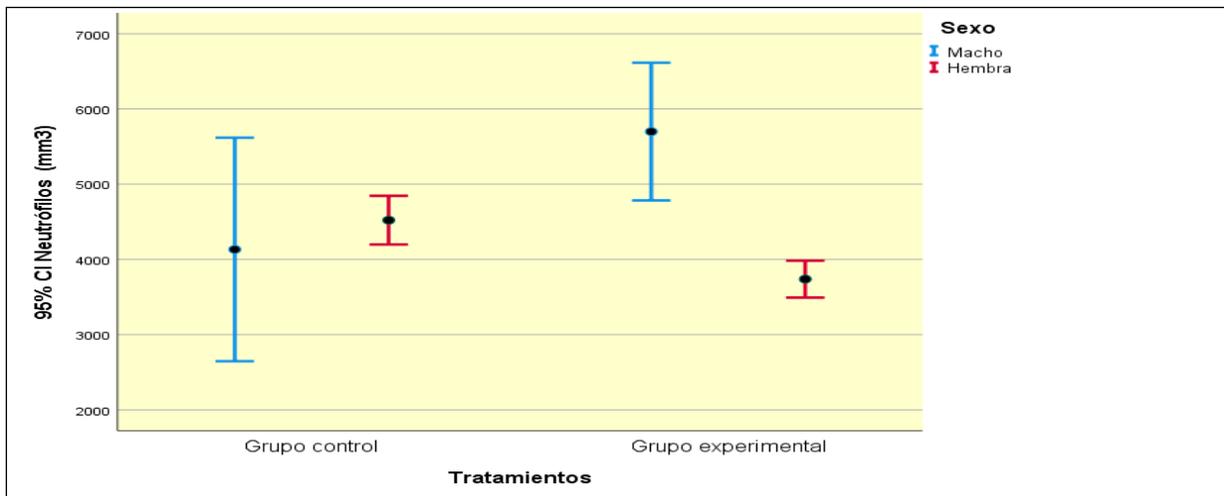


Figura 16: Se presentaron el valor promedio de neutrófilos en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.

El análisis de la figura 16 indicaron que la estimación interválica del número promedio de neutrófilos en caso de las *Rattus* hembra del grupo experimental es bastante inferior al grupo control, mientras en el caso de los *Rattus* macho, la situación es todo lo contrario. Sin embargo, el traslape de los intervalos no permite adelantar una conclusión, lo cual se definirá mediante las pruebas de hipótesis.

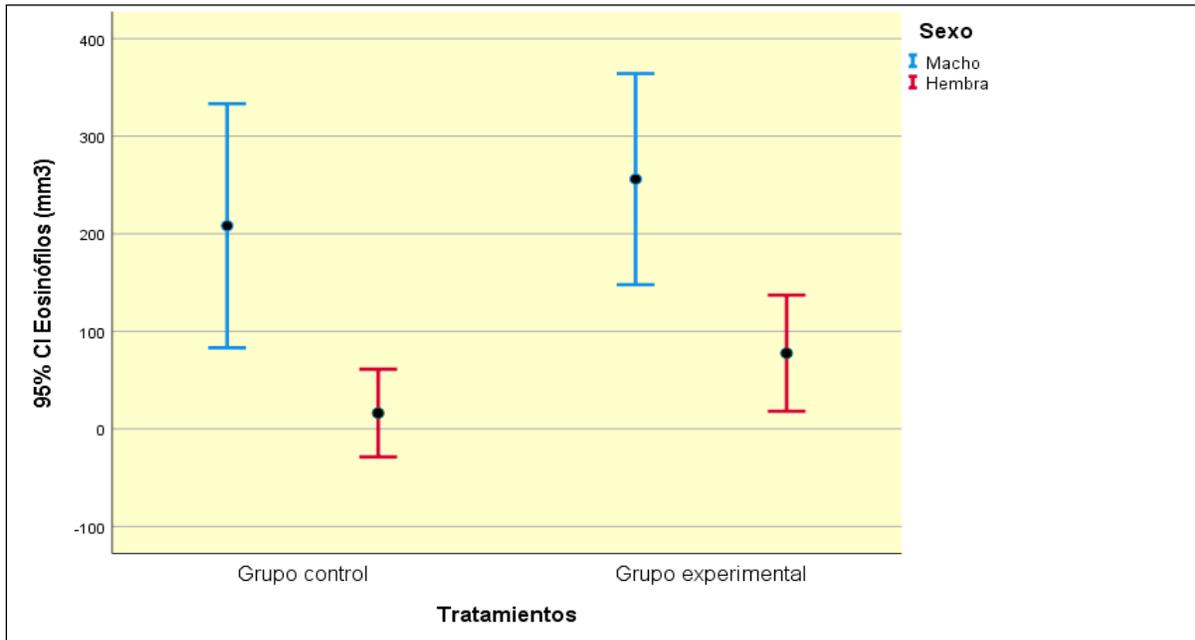


Figura 17: Se presentaron el valor promedio de eosinófilos en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” tratados con el extracto etanólico experimental.

Según el análisis de la figura 17, el intervalo traslapado no permite comparar con nitidez el número promedio de eosinófilos, tanto en el caso de las *Rattus* hembra como en *Rattus* machos; esto se definirá mediante las pruebas de hipótesis.

4.1.2. Prueba de Hipótesis

Prueba de la hipótesis general

H0: El extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” no presenta toxicidad aguda en una dosis de 2000 mg/kg en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

H1: El extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” presenta toxicidad aguda a una dosis de 2000 mg/kg en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

Técnica estadística: Prueba T para muestras independientes.

Criterio

Si el **p** valor es menor a 0,05 se rechaza la hipótesis nula H0 y se acepta la H1.

Si el **p** valor es mayor a 0,05 no se rechaza la hipótesis nula H0.

Tabla 16: Prueba t de Student para la igualdad de medias

Sexo		t	gl	p valor	Diferencia de medias
Macho	Recuento Hematíes (m/ mm ³)	-0,766	13	0,457	-0,08
	Hemoglobina (g/dL)	-0,960	13	0,355	-0,44
	Hematocrito (%)	-0,947	13	0,361	-0,01
	Nº Leucocitos (mm ³)	3,501	13	0,004	2795,00
	Linfocitos (mm ³)	1,100	13	0,291	935,40
	Monocitos (mm ³)	-0,174	13	0,864	-20,00
	Neutrófilos (mm ³)	2,280	13	0,040	1566,60
	Eosinófilos (mm ³)	0,634	13	0,537	47,80
Hembra	Recuento Hematíes (m/ mm ³)	3,031	13	0,010	0,34
	Hemoglobina (g/dL)	2,791	13	0,015	1,08
	Hematocrito (%)	2,825	13	0,014	0,03
	Nº Leucocitos (mm ³)	0,322	13	0,753	60,00
	Linfocitos (mm ³)	3,234	13	0,007	680,60
	Monocitos (mm ³)	2,183	13	0,048	96,00
	Neutrófilos (mm ³)	-4,483	13	0,001	-784,20
	Eosinófilos (mm ³)	1,555	13	0,144	61,40

La tabla 16 se presentaron la comparación de los valores promedio del Grupo experimental - Grupo control; las diferencias positivas indican un mayor promedio del grupo experimental, mientras que las diferencias negativas indican que el grupo experimental presentó un valor promedio menor en el parámetro correspondiente. La justificación de la prueba t de Student se justifica por medio de la prueba de normalidad de los datos mediante la técnica de Shapiro-Wilk, que se muestra en el anexo cuatro.

En el caso de los *Rattus* macho, se observaron que el **p** valor para la comparación del número de leucocitos y neutrófilos es significativo (p valor $< 0,05$) con una diferencia positiva a favor del grupo experimental, por lo tanto, a un nivel de significancia del 5%. Para estos casos dos parámetros se puede rechazar la hipótesis nula H_0 y concluir que el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” presenta toxicidad aguda a una dosis de 2000 mg/kg en los *Rattus* macho de la cepa “Holtzman”.

En el caso de las *Rattus* hembra se observaron que el **p** valor para la comparación del recuento de hematíes, hemoglobina, hematocrito, número de linfocitos, monocitos y neutrófilos es significativo (p valor $< 0,05$) con una diferencia positiva a favor del grupo experimental, excepto el número de neutrófilos donde la diferencia es negativa, por lo tanto, a un nivel de significancia del 5%, para el caso de estos seis parámetros se pueden rechazar la hipótesis nula H_0 y concluir que el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” presenta toxicidad aguda a una dosis de 2000 mg/kg en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” en las *Rattus* hembras.

Análisis anatomopatológico de los tejidos de los órganos de *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”

La evaluación de tejidos mediante la aplicación del método de histopatología y la observación en el microscopio y el resultado se muestra en la captura de la microfotografía de tejidos de los órganos de grupo control, a los cuales se administró agua destilada 1 mL/100 y comparada con el resultado de la microfotografía de los tejidos de órganos de grupo experimental, el cual fue administrada el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” la dosis única de 2000 mg/kg de peso corporal. El tratamiento con el extracto ha transcurrido 14 días, finalizado el experimento se mostraron en el resultado.

Tabla 17: Análisis del efecto de Toxicidad del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”

		Tratamiento				Prueba de U de Mann- Whitney p valor
		Grupo control		Grupo experimental		
		n	%	n	%	
Cerebro	Normal	5	50,0	2	10,0	0,073
	Leve	2	20,0	8	40,0	
	Moderado	3	30,0	10	50,0	
Corazón	Normal	10	100,0	20	100,0	1,000
Pulmón	Normal	1	10,0	0	0,0	0,020
	Leve	6	60,0	4	20,0	
	Moderado	2	20,0	13	65,0	
	Severo	1	10,0	3	15,0	
Hígado	Normal	8	80,0	18	90,0	0,456
	Leve	1	10,0	1	5,0	
	Moderado	1	10,0	1	5,0	
Estómago	Normal	4	40,0	0	0,0	0,077
	Leve	3	30,0	12	60,0	
	Moderado	3	30,0	6	30,0	
	Severo	0	0,0	2	10,0	
Bazo	Normal	10	100,0	19	95,0	0,480
	Leve	0	0,0	1	5,0	
Riñón	Normal	3	30,0	0	0,0	0,002
	Leve	5	50,0	3	15,0	
	Moderado	1	10,0	14	70,0	
	Severo	1	10,0	3	15,0	
Total		10	100,0	20	100,0	
Ovario	Normal	5	100,0	10	100,0	1,000
Testículo	Normal	3	60,0	9	90,0	0,186
	Leve	2	40,0	1	10,0	
Total		5	100,0	10	100,0	

La tabla 17 se presentaron los efectos de la toxicidad aguda en órganos de *Rattus* de la cepa “Holtzman” tratados con extracto etanólico de las hojas de *Mimosa pudica* “huacapú”.

El 50% de las *Rattus* del grupo experimental presentaron una toxicidad moderada en el cerebro, mientras que en el grupo control este porcentaje disminuyó a 30%; sin embargo, las diferencias no fueron significativas (**p** valor >0,05), en el caso del corazón no se observó ningún tipo de efecto. Respecto a los pulmones, las diferencias fueron significativas (**p** valor <0,05), con un 65% de las *Rattus* del grupo experimental como una toxicidad moderada y un 15% con toxicidad severa; por otro lado, en lo que respecta al estómago no se observaron diferencias significativas, lo mismo ocurrió con el bazo, en cuanto al riñón se observó diferencias significativas (**p** valor < 0,05), lo que resultaron en el 70% de las *Rattus* del grupo experimental con daño moderado y un 15% con daño severo superó ampliamente los porcentajes observados en el grupo control; finalmente, con respecto a los ovarios y testículos, no se observaron diferencias significativas importantes entre el grupo control y el grupo experimental.

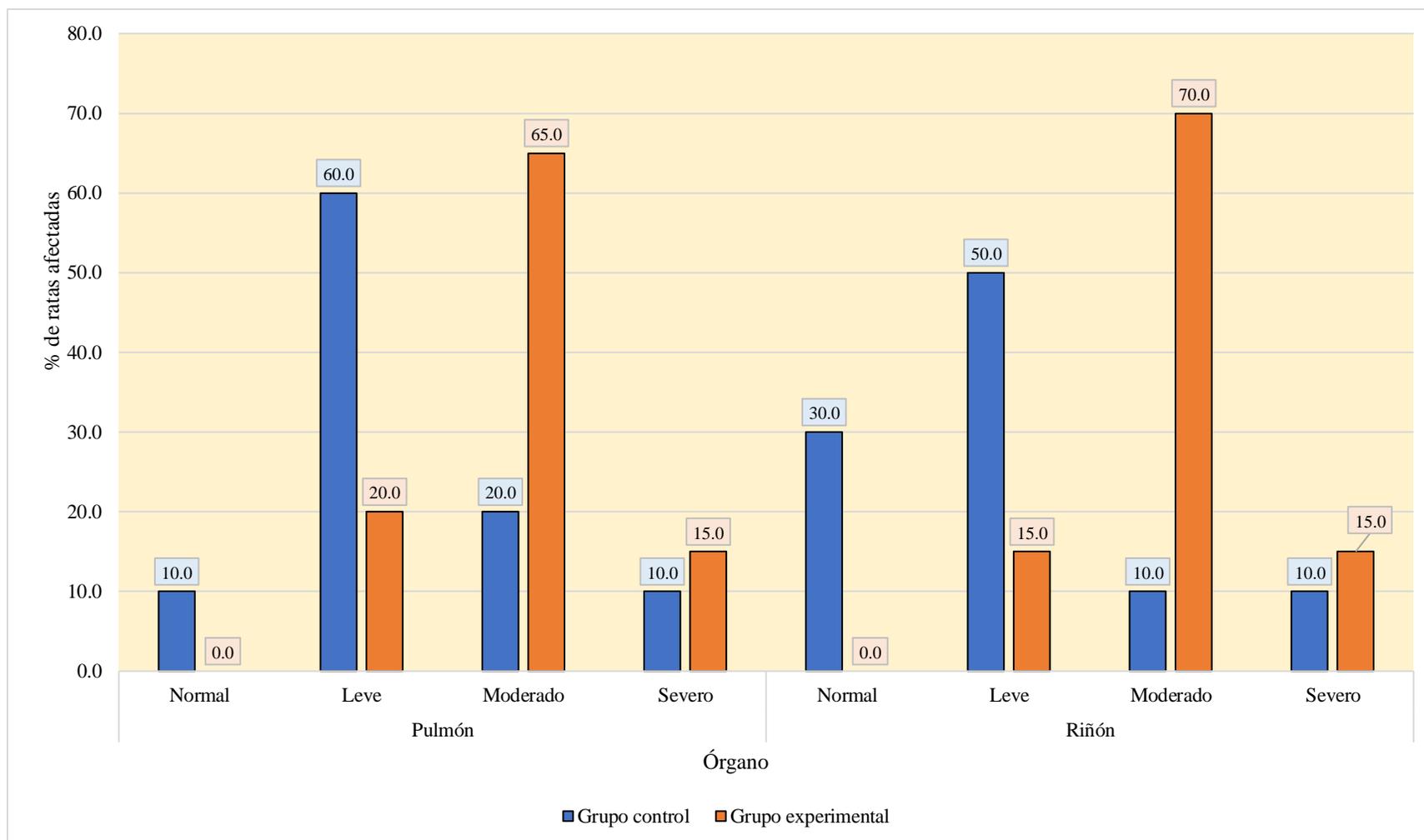


Figura 18: Se muestra los resultados de los órganos de *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” alteración moderada sobre el pulmón y riñón del grupo experimental y el grupo blanco presenta alteración leve en el riñón y pulmón. El extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” no evidencio deformación ni lesiones.

4.1.3. Discusión de resultados

Los principios de la OMS refuerzan los métodos de investigación, proporcionan fuentes de información para un estudio adecuada de las investigaciones. Así mismo, las plantas medicinales son fuentes de producción de metabolitos secundarios que desempeñan un rol importante en la farmacología⁽⁵⁾, la biodiversidad de la Amazonía peruana aporta diversos estudios sobre la potencialidad biológica para descubrir nuevos fármacos^(11,12). El objetivo es conocer la eficacia y seguridad del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”, sin embargo, existe una escasa información clínica en cuanto a su seguridad a la ingesta del vegetal en las comunidades de la Amazonía peruanas^(7,28), por esta razón, es importante señalar la importancia de los resultados obtenidos en cuanto a componentes químicos, solubilidad, efectos de toxicidad sobre los parámetros de neurotoxicidad, hematológico y anatomopatológico sobre órganos diana.

Como resultado, en esta investigación, al llevar a cabo la prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”. En la tabla 10 se evidencia tres componentes químicos (agua destilada, etanol y metanol) de naturaleza polar con capacidad de disolver el extracto, este proceso sucede debido a que establece interacciones electrostáticas entre los dipolos que determinan la solubilidad de los Fitoconstituyentes del extracto y son indispensable para el análisis⁽⁴⁰⁾, por el contrario, es insoluble en solventes apolares (acetato de etilo, cloroformo, hexano, acetona, éter etílico, benceno y éter de petróleo). Estos resultados guardan relación con otros investigadores para la obtención de la solubilidad, como Da Silva (2018)⁽¹²⁾, quien en su investigación del estudio “validación de las actividades biológicas de extractos metanólicos de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú””, obtiene en solventes de diferentes polaridades la solubilidad como apolar y polar. Así mismo, este proceso es aseverado como lo manifiesta Olga Lock de Ugaz en su obra Investigación fitoquímica⁽⁷³⁾. En tal sentido, bajo lo referido anteriormente y al analizar los hallazgos, es evidente que el extracto etanólico del vegetal tiene una naturaleza polar que favorece los niveles óptimos de los resultados en los ensayos⁽⁷¹⁾.

El propósito en esta investigación es identificar cualitativamente los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” usando

diferentes reactivos de precipitación y coloración, se muestra en la tabla 11 resultados de los compuestos fitoconstituyentes. Se trata de compuestos fenólicos que reacciona con cloruro férrico, lo que produce una coloración verde y azulada con posible presencia de pirogalol⁽²⁰⁾. Flavonoides son identificados por medio del ensayo de shinoda, para flavonoides que se caracterizan en su estructura de núcleo benzopirona como las flavonas, etc. Al adicionar magnesio seguido del ácido clorhídrico (HCL) se produce coloración rojo oscuro en una disolución acuosa o alcohólicas⁽⁴⁰⁾. Taninos posee una propiedad de reaccionar con proteína, lo que forma un precipitado blanco⁽¹⁰⁾. Alcaloides con una capacidad de combinarse con metales pesados como mercurio, yodo y reacciona con un precipitado de color blanco, con capacidad biológica y farmacológica de la sustancia⁽⁴⁵⁾. El resultado del análisis guarda relación con lo hallado por Da Silva (2018)⁽¹²⁾, quien realizó un estudio químico y una evaluación de la actividad biológica de extractos de *Minquartia guianensis* Aubl (Olacáceae). Se concluye que es evidente la presencia de flavonoides y terpenos en el extracto, al igual que Mejía C, Rengifo S. (1995)⁽²⁵⁾ en su libro Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana señalan los componentes presentes de alcaloides, taninos, antraquinonas, triterpenoides, cardiotónicos, glicósidos en la planta de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”. Es importante determinar preliminarmente la presencia o ausencia de los compuestos que permiten identificar la característica de la sustancia; cabe señalar que los métodos colorimétricos permiten visualizar cualitativamente para identificar, y es aseverado en su obra investigativa fitoquímica de Olga Lock de Ugaz⁽⁷³⁾. También en la obra investigativa, según Miranda M, Cuéllar A⁽⁷²⁾. Por esta razón el análisis es significativo, determinar preliminarmente los componentes químicos con la identificación cualitativa del extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” y señalar la presencia de metabolitos secundarios, quienes son los responsables de las propiedades a las que se lo atribuye al vegetal en estudio.

Por otro lado, esta investigación tiene el objetivo de determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”; enmarcados en la guía OCDE 423 a una dosis límite letal 2000 mg/kg por vía oral, es la ruta de evaluación de sustancia en un menor tiempo^(55,58). Los resultados de la evaluación revelan que el extracto no causó ninguna muerte en 24 horas ni durante los 14 días en las especies tratadas, también se evaluó los parámetros test de Irwin (tabla 12) mejorado para ratas y adaptado para el presente estudio. El resultado del test quiere decir que los fitoconstituyentes del extracto

no presenta elementos químicos depresores que puedan afectar al sistema nervioso del animal en experimento, es decir, manifestaron conductas normales y del mismo modo sus funciones fisiológicas fueron normales, excepto de las primeras horas, las heces eran blandas, sin signos de intoxicación aguda. Frente a la evaluación efectuada, se puede considerar que el extracto etanólico de las hojas *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” no presenta toxicidad según el método OCDE 423⁽⁶⁾, por lo que presento una dosis DL₅₀ mayor a 2000 mg/kg, en cuanto a que el extracto etanólico no produjo muerte^(52,58). Esta observación guardaría relación negativa con lo hallado por Nguyen N, Vicet-Muro L, et al. (2016)⁽⁷⁴⁾, en la cual se estudiaron el tamizaje fitoquímico y la evaluación de la actividad sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico en animales de laboratorio, concluye que algunos metabolitos como los flavonoides pueden producir un efecto sedante, por otra parte, el test de Irwin inicialmente fue considerado para identificar sustancias depresoras, como es manifestado en su obra test de Stephen I (1968)⁽⁶²⁾. En efecto, bajo lo referido de los resultados no se evidencian la existencia de sustancias depresoras en los componentes químicos del extracto etanólico sobre el sistema nervioso central que influyera en el comportamiento y sistema fisiológico, lo cual se muestra normal.

Con el fin de conocer los efectos de la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú”, se empleó parámetros hematológicos donde se evalúa el estado de salud del *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”, ya que con exámenes macroscópicos pueden ser imperceptible los daños ocasionados. En la tabla 14 con el paquete estadístico SPSS versión 25 se muestran los resultados, dándonos a entender que existe alteraciones significativas en análisis hematológicos, asimismo, cabe mencionar que para el estudio se agruparon en género la especie de laboratorio. Los *Rattus* machos tratados con el extracto presentan un ligero descenso en el recuento de los parámetros: Hematíes, hemoglobina, monocitos con respecto al grupo control y el recuento de los parámetros: Leucocitos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos presenta ascenso con relación al control. En las *Rattus* hembras tratadas con el extracto, los parámetros hematológicos (hematíes, hemoglobina, hematocrito, leucocitos, linfocitos, monocitos, eosinófilos) se alteran con excepción de los neutrófilos con respecto al grupo control. Por otro lado, en la tabla 16, la comparación de los valores promedio grupo experimental - grupo control se muestra los parámetros para los *Rattus* machos en cuanto a leucocitos y neutrófilos; esto es significativo con respecto a los otros parámetros. En el caso de las *Rattus* hembras, se muestra que

los hematíes, hemoglobina, hematocrito, linfocitos, monocitos y neutrófilos son significativos, excepto los neutrófilos. La revisión de las fuentes nos indica que estos resultados obtenidos tendrían un nexo diferente con lo hallado por Correa S. (2020)⁽⁷⁵⁾, quien lleva a cabo el estudio de evaluación de toxicidad aguda, en *Rattus norvegicus* Var sobre parámetros hematológicos sin alteración significativa. Leon G, et al (2011) en su investigación reporta parámetro hematológico referencial de rata cepa wistar de laboratorio en la cual refiere hemoglobina un promedio de 12-14 para *Rattus* hembra y 12-15 para *Rattus* macho⁽⁷⁸⁾. Ulloa R, et al. (2017), basado en el fundamento de la hematología, plantea que la sangre, su función principal, transporte de xenobióticos hasta las células del tejido de un órgano, constituida por fracción líquida (plasma) y fracción celular, a saber, la línea roja y blanca. El estudio hematológico de los elementos que constituyen a fin de analizar patologías debido a la sensibilidad del sistema sanguíneo a xenobióticos tóxico que causa alteración, es precisamente por ello el gran valor de la evaluación para el pronóstico y extrapolar la toxicidad al ser vivo⁽⁸⁰⁾. El resultado señalado guarda una relación entre las variables del estudio y el extracto etanólico de las hojas del vegetal en estudio sobre el tratamiento en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”, alteró dos parámetros hematológicos en los *Rattus* macho y en las *Rattus* hembra seis parámetros, por lo tanto, no es significativo.

Por otra parte, el estudio anatomopatológico de las muestras de tejidos extraídos con el propósito de analizar a escala microscópica sobre las alteraciones por consecuencia de la toxicidad aguda de extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” en órganos de *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”. En la tabla 17 se evidencia alteraciones en el pulmón que son significativas en los grupos experimentales, con alteración moderada (65%) y severa (15%), mientras que el riñón presenta alteración moderada y leve (70%) y severa (15%). En cuanto al cerebro, corazón, estómago, bazo, ovario y testículos se observa sin alteración, lo cual siendo el efecto tóxico no significativo. Así mismo, también estos resultados guardan una relación distinta con lo hallado por Agyigra I, Ejiofor J, Magaji M, (2017), quienes al investigar la evaluación de toxicidad aguda y subcrónica extracto de metanol tallo-corteza *Ximenia americana* Linn (Olacaceae) en rata Wistar, concluyen que produjo cambios anatómicos, lesión mínima en riñón, pulmones y bazo siendo no significativo⁽¹⁴⁾. Otros estudios de revisión relevantes; de igual manera, Correa S. (2020) en su trabajo de investigación evaluación de toxicidad aguda de *Ambrosia arborescens* Mill, sobre los parámetros histopatológico concluye que produjo una leve congestión

sobre los órganos riñón e hígado con dosis 2000 mg/kg en *Rattus norvegicus*⁽⁷⁵⁾. Según Arenas C. (2010), al estudiar microscópicamente tejidos, no sería factible manipular debido a la dificultad que presenta la manipulación de los especímenes, además también presenta su propia degradación (autólisis), lo que indica la necesidad de utilizar un conjunto de procedimientos aplicados a material biológico con el fin de preparar la observación a través de los microscopios y análisis⁽⁸⁵⁾. Como se ha descrito anteriormente los resultados, podemos señalar que se muestra alteración histopatológicamente moderada en riñón, pulmón y morfológicamente ningún cambio anatómico.

Habría que mencionar la escasa fuente sobre la especie en investigación en nuestro país, no registra estudio clínico de toxicidad aguda con los parámetros de test de Irwin, anatomopatológica y hematológica en el extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”. También los factores que limitan el desarrollo normal de la investigación para resultados óptimos. La falta de tiempo y el aspecto económico, la carencia de laboratorio de investigación, la ubicación del laboratorio de análisis hematológico para animales y el laboratorio de histopatología con profesionales especializados, han sido factores que han contribuido a la limitación de la presente investigación.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se comprobó la solubilidad del extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en solventes polares como: Agua destilada, etanol y metanol.

Se ha identificado que los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” son compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides, triterpenos y/o esteroides y esteroides, teniendo en cuenta que predominaron los alcaloides.

Se determinó que no hubo toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” a una dosis límite de 2000 mg/kg vía oral, enmarcada en la OCDE 423.

En el análisis realizado a nivel hematológico de la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis límite de 2000 mg/kg vía oral, no reveló valores significativos de los parámetros de hematíes, hemoglobina, hematocrito, leucocitos, linfocitos, monocitos, neutrófilos y eosinófilos.

El estudio efectuado de la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en una dosis límite 2000 mg/kg por vía oral en los cortes anatomopatológicos de los órganos, tales como el cerebro, pulmón, corazón, hígado, estómago, bazo, riñón, testículo y ovario, no se han evidenciado lesiones, por consiguiente, no presento toxicidad.

5.2 Recomendaciones

- Una vez concluida la tesis, se considera interesante profundizar en aspectos relacionados con la toxicidad, y para ello se propone:
- Ampliar los estudios expuestos en esta tesis, el análisis de toxicidad aguda por toxicidad crónica, sub crónica y la adición de parámetros bioquímicos, podría enriquecerse el modelo usado en esta tesis para determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico.
- Analizar con mayor importancia la variación del parámetro hematológico en las *Rattus* hembra en comparación a los *Rattus* macho.

Una vez concluido el trabajo compartiremos el siguiente pensamiento: “Si sirves a la naturaleza, ella te servirá a ti”. Legado de Confucio.

REFERENCIAS

1. Organización Panamericana de la Salud(OPS). Situación de las plantas medicinales en Perú. [internet]. Perú: Organización Panamericana de la salud OPS/OMS; 2019 [revisión 2 Ene 2022]. Disponible en:
https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
2. Soria N. Las Plantas Medicinales y su aplicación en la Salud Pública. Rev. salud pública Parag. 2018; 8(1):7-8.
3. Aranda-Ventura J, Villacres-Vallejo J, Núñez- Tuesta L, Marín-Sisley P, Nonato-Ramírez L, González-Aspajo L. Evaluación de la Bioactividad de plantas medicinales cultivadas en el Perú usando la prueba de letalidad de *Artemia salina*. Rev. per. med. integr. 2019; 3(3): 132-37.
4. Torres-Guevara F, Ganoza-Yupanqui M. Etnobotánica y sistemas de extracción para compuestos fenólicos, actividad antioxidante y toxicidad de plantas de páramos y bosques nublados del norte peruano. Rev. per. med. integr. 2017; 2(2):101-09.
5. Organización Mundial de la Salud(OMS). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Zuiza. Ginebra: Organización Mundial de la Salud OMS; 2013. 75p.
6. Castro-Murillo M, González Betancur J, González Camacho S. Ensayos biológicos regulados por normativas OECD: características, criterios de elección y aspectos relevantes. [internet]. Sección de Genética y Cultivo Celular del Laboratorio de Ensayos Biológicos, Universidad de Costa Rica–LEBI-UCR. 2018. [revisión 5 Ene 2022]. Disponible en:
<http://rev.aetox.es/wp/wp-content/uploads/2018/02/Biological-assays-regulated-by-OECD-normative-REV-FIL.pdf>
7. Reyes E. Introducción a la toxicología [internet]. México: UNAM, FES, Zaragoza; 2016. [revisión 6 Ene 2022]. Disponible en: <https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/publicaciones/libros/cbiologicas/libros/Toxico-ago18.pdf>
8. Paillacho P. Propuesta de implementación de pruebas toxicológicas agudas para productos naturales orales en el laboratorio de Oferta de Servicios y Productos (OSP) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador [Tesis para optar título de Química Farmacéutica]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador. 2018. Disponible en:

- <http://www.dspace.uce.edu.ec:80/bitstream/1/T-UCE-0008-CQU-017.pdf>
9. Paixao A, Mancebo B, Regalado A, Chong D, Sánchez L. Evaluación de la Toxicidad Aguda Oral del extracto etanólico de *Tephrosia vogelii Hook* (kalembe). Rev. Salud. Anim. 2017; 39(2):1-7. Disponible en: <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RSA/article/view/895>
 10. Paredes B, Zegaral J, Zanabrial J, Cuadros F, Chávez J, Huanca P. Consumo de plantas medicinales de uso habitual y posible efecto adverso en la salud de la población, como resultado de la contaminación de las plantas. Arequipa, Perú. Av. cien. ing. 2018; 9(3):13-22. Disponible en: <https://www.executi.org/publishing.cl/aci/2018/Vol9/Nr3/2-1315-18-full.pdf>
 11. Schmeda-Hirschmann G, Burgos-Edwards A, Theoduloz C, Jiménez-Aspee F, Vargas-Arana G. Male sexual enhancers from the Peruvian Amazon. Journal of ethnopharmacology, JAMA. 2019; 229(2019):167-179. Disponible en: <https://www.executivebs.org/publishing.cl/aci/2018/Vol9/Nro3/2-ACI1315-18-full.pdf>
 12. Da Silva A. Estudo químico e avaliação da atividade biológica de extratos de *Minquartia guianensis* Aubl. (Olacaceae). [tesis para optar al posgrado en biotecnología]. Brasil. Manaus: Universidad Estatal de Amazonas; (2018). Disponible en: <http://repositorioinstitucional.uea.edu.br//handle/riuea/2282>
 13. Guex C, Reginato F, Figueredo K, et al. Safety assessment of ethanolic extract of *Olea europaea* L. leaves after acute and subacute administration to Wistar rats. JAMA. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2018 jun; 95: 395-99.
 14. Agyigra I, Ejiofor J, Magaji M. Acute and subchronic toxicity evaluation of methanol stem-bark extract of *Ximenia americana* Linn (Olacaceae) in Wistar rats. JAMA. 2017; Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University, 55(2): 263-67.
 15. López B. Trabajo fin de grado estudio etnobotánico de plantas contra la malaria [Tesis para optar grado doctor]. España: Universidad Complutense; 2017. Disponible en: <http://147.96.70.122/web/TFG/TFG/Memoria/Beatriz%20Cuesta%20Lopez.pdf>
 16. Tapia V. Caracterización del perfil fenólico y flavonoide de eucalyptos, *olea europeae* y *lippia nodiflora* con potencial antioxidante, Perú [Tesis para optar grado de Ingeniería de industria alimentaria]. Perú: Universidad Peruana Unión; 2019. Disponible en: https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/2951/Eulalia_Tesis_Licenciatura_2019.pdf?sequence=1

17. Arrascue O. Valor económico y cultural de especies de la flora utilizadas en la comunidad aguaruna de Yamayakat, Bagua, Amazonas, Perú [Tesis grado magíster en botánica tropical]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018. Disponible en:
<http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/10307>
18. Salazar P. Determinación de la actividad antioxidante y de los metabolitos secundarios responsables de esta actividad de tres especies vegetales nativas procedentes de la comunidad Tamshiyacu-Tahuayo, Loreto-Perú. [Tesis para optar al grado Ingeniero Químico]. Perú: Universidad Nacional de la Amazonía peruana; 2018. Disponible en:
http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/5486/Brian_Tesis_Titulo_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y
19. Huamán V. Evaluación florística de la microcuenca Asnayacu, para su puesta en valor ambiental, Moyobamba, 2018. [Tesis para optar grado Ingeniero ambiental]. Perú: Universidad César Vallejo; 2018. Disponible en:
https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/32047/Vilchez_HM.pdf?sequence=1&isAllowed=y
20. Montenegro M. “Evaluación del Efecto del Extracto Fenólico de Hojas de olivo (*Olea europaea* L.) Var. Sevillana Sobre Bacterias *Aeróbias Mesófilas* de la Carne de Res Fresca Magra” [Tesis para optar el grado de ingeniero en industria alimentaria]. Peru: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2016. Disponible en:
<http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/1884>
21. Mut J. Etimología de los géneros de plantas de Linneo [internet]. Puerto Rico: Edición digital; 2019 [revisión 10 Ene 2022]. Disponible en:
http://edicionesdigitales.info/etimologia/linneo.pdf?fbclid=IwAR19nnEr_In5jpFuvRDxyNI4r7zc84AlewbM_fLDCpA6z_m6lwe3n_9spA4
22. Nebel G. "*Minquartia guianensis* Aubl.: Uso, Ecología y Manejo en Forestería y Agroforestería." *Folía Amazónica*. Rev. iiap. org. Pe. 2000; 10(1-2): 201-23.
23. López-Tobar R, et al. Ecuaciones alométricas para estimar tasas de crecimiento de *Myroxylon balsamum*, *Minquartia guianensis* y *Otoba parvifolia* en la Amazonía ecuatoriana. *Rev. cienc. tecn. UTEQ*. 2018; 11(1): Pp.: 11-18.

24. Sánchez-Sánchez M. Flora de Veracruz. Olacaceae. [internet]. México: Fasículo 93, Victoria Sosa. 1996 [revisión 16 Ene 2022]. Disponible en: <http://www1.inecol.edu.mx/publicac/resumeness/FLOVER/93-Sanchez.pdf>
25. Mejía C, Rengifo S. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana [Internet]. Perú: Enrique Uldemolins;1995. [revisión 22 Ene 2022]. Disponible en: http://repositorio.iiap.org.pe/bitstream/IIAP/74/2/Mejia_libro_2000.pdf
26. Tolaba J. Olacaceae. Aportes Botánicos de Salta-Serie Flora[internet]. Argentina: Universidad Nacional de Salta; 2012 [revisión 26 Ene 2022]. Disponible en: <http://portalderevistas.unsa.edu.ar/ojs/index.php/aportesbotanicos/article/viewFile/1778/17>
27. Universidad Nacional del Noreste Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Guía de Consultas Botánica II. ROSIDAE-Santalales-Olacaceae [internet]. Argentina: U.N.N.E; 2005 [revisión 28 Ene 2022]. Disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/diversidadv/fascIII/16.%20Olacaceae.pdf>
28. León B. Olacaceae endémicas del Perú. Rev. perú. biol. 2006; 13(2): 472.
29. Mendoza A, et al. Primer catálogo de los árboles de la Amazonía de madre de dios[Internet]. Perú: Universidad Andina del Cusco; 2020[revisión 29 Ene 2022]. Disponible en: http://www.forestplots.net/upload/publicationstore/2020/CatalogodeArboles_deMadredeDios_RAINFOR.pdf
30. Bendezú Y. Árboles nativos de la región Ucayali [Internet]. Perú: Estación Experimental Agraria Pucallpa; 2018 [revisión 2 Feb 2022]. Disponible en: www.ArbolesnativosdelaRegionUcayali.pdf
31. García-París M, Ruiz J, Percino-Daniel N, Buckley D. Nombres comunes de las cantáridas y aceiteras (Coleoptera: Meloidae) de España: “las circunstancias obligan” [Internet]. España: Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (SEA); 2016 [revisión 6 Feb 2022]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/11b08efe1659ee3647a5c7bd4a833524e75b23b6>
32. Sandí D. Consideraciones sobre los nombres comunes y los nombres científicos[Internet]. Costa Rica. Universidad de Costa Rica; 2018[revisión 8 Mar 2022]. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/35026/34582>
33. Monge R, Vega J. Actualización de listado de especies arbóreas de uso forestal y otros usos en Costa Rica. Rev. Kurú. 2005; 2(5): 42-87. Disponible en:

- <https://revistas.tec.ac.cr/index.php/kuru/article/view/554>
34. Barrantes A, et al. Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. [internet]. Costa Rica: Corder J, Boshier D, OFI/CATIE; 2003[revisión 12 Mar 2022]. Disponible en: <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/9730>
 35. Carbajal E. et al. Core Eudicotiledóneas Diversidad Vegetal Biotaxonomía de espermatofitos. [internet]. Argentina: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, UNNE; 2010[revisión 18 Mar 2022]. Disponible en: <https://docplayer.es/73798578-Core-eudicotiledoneas-diversidad-vegetal-biotaxonomia-de-spermatofitos.html>
 36. Huellas del Sumaco. Ecuador: Universidad Estatal Amazónica. Vol. 11, pp 6-10. Jun 2014. Disponible en: https://www.uea.edu.ec/wpconte/uploads/2018/07/vol_11_articulo_1.pdf
 37. Tarrillo J. Influencia de diferentes sustratos en la producción de plántulas de *Minquartia guianensis* aubl. (Olacaceae) “huacapú” en nuevo cutervo, jepelacio, Moyobamba, San Martín. [Tesis para optar título ingeniero forestal]. Perú: Universidad Nacional de Cajamarca; 2014. Disponible en: https://www.uea.edu.ec/wp-content/uploads/2018/07/vol_11_articulo_1.pdf
 38. Inga H, Paredes E, del Castillo D. Enraizamiento de esquejes de “huacapú” (*Minquartia guianensis*) mediante Ácido indol-3-butírico (AIB), en Jenaro Herrera, Loreto. Rev. Xilema. Lima. 2019; 29(1): 83-87.
 39. Laj L. Caracterización Físicoquímica de los Extractos Obtenidos de la Hoja y el Fruto del Jocote del diablo (*Ximenia americana* L.) empleando como solvente de extracción soluciones de alcohol etílico-agua, a escala laboratorio, para su aplicación en la formulación de una crema dermatológica [Tesis para optar el título de ingeniero químico]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2019. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/326018337.pdf>
 40. Amado S, Sarmiento J. Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (Lf) DC (Melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica [Tesis para optar el grado de químico farmacéutico]. Colombia: Universidad de Ciencias Aplicadas; 2018. Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/996/TESIS%202018-05-22.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

41. Robles-García A, et al. Identificación Cualitativa de Metabolitos Secundarios y Determinación de la Citotoxicidad de Extractos de Tempisque (*Sideroxylum capiri pittier*). Biotecnia. 2016; 18(3): 3-8.
42. Forero S. Identificación primaria de metabolitos secundarios de *Ulex europaeus* L. retamo espinoso y su actividad biológica. [Tesis para optar el título de biólogo]. Colombia: Universidad de la Salle Departamento de Ciencias Básicas Programa de Biología; 2020. Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1095&context=biologia>
43. García A, Carril E. Metabolismo secundario de plantas." [Internet]. España: Universidad Complutense, facultad de biología. Rev. RE. Serie Fisiología Vegetal. 2009; 2 (3): 119-145. Disponible en: <https://docta.ucm.es/entities/publication/4f92a7a9-921f-4218-955a-fe50bb230f62>
44. Herrera-Fuentes A, Quimis-Ponce K, Sorroza-Rojas N, García-Larreta F, Mariscal-Santi W, Mariscal-García R. Determinación de Taninos y Cumarinas presente en la planta tres filos. Rev. pol. con. 2017; 2(7): 500-522.
45. Chávez L, Gutiérrez D. Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L. "palma real" [Tesis para optar título de químico farmacéutico]. Perú: Universidad Norbert Wiener; 2013. Disponible en: <http://190.187.227.76/bitstream/handle/123456789/52/014%20EAP%20FARMACIA%20Y%20BIOQUIMICA%20%20ESTUDIO%20FITOQUIMICO%20PALMERA%20REAL%20%28%20CHAVEZ%20y%20GUTIERREZ%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
46. Macías T. Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos en cáscara de rambután (*Nephelium lappaceum* L.) de dos variedades (dulce y amarga) [Tesis para optar el grado de químico farmacéutico]. Ecuador: Universidad de Guayaquil; 2019. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39960/1/BCIEQ-T-0372%20Mac%20c3%20adas%20Torres%20Evelyn%20Tiffany.pdf>
47. Córdova E, Gonzales L. Determinación de la dosis letal media (DL50) del extracto etanólico de *Bixa orellana* L. (achiote) en ratones [Tesis para optar el título de químico farmacéutico]. Perú: Universidad San Pedro; 2019. Disponible en: http://repositorio.usanpedro.edu.pe/bitstream/handle/USANPEDRO/14102/Tesis_64134.pdf?sequence=1&isAllowed=y

48. Antezana A. Determinación de capacidad antioxidante total, contenido de fenoles y actividad enzimática en una bebida no láctea a base de quinua (*Chenopodium quinoa*) [Tesis para optar grado maestría en bromatología]. Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés; 2018. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/xmlui/bitstream/handle/123456789/18251/TM-1934.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
49. Katzung B, Master S, Trevor A. Farmacología básica y clínica. 12ª ed. México: Lange medical book; 2012. 1218p. ISBN: 978-007-176401-8
50. López G. Plantas medicinales: Una farmacia natural para la salud pública. Rev. cie. Paideia xxi. 2018 ene; 6(7):159-170.
51. Gutiérrez J, de Cerain Salsamendi A. Fundamentos de ciencia toxicológica [Internet]. España: Ediciones Díaz de Santos; 2001[revisión 12 Mar 2022]. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=EwQk094_IKcC&oi=fnd&pg=PR13&dq=fundamentos+de+la+ciencia+toxicologica+de+jose+bello+guti%C3%A9rez&ots=tZ6IFQV
52. Silbergeld E.: Toxicología [Internet]. Bogotá: Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo; 2013[revisión 14 Abr 2022]. Disponible en: <https://www.insst.es/documents/94886/161958/Cap%C3%ADtulo+33.+Toxicolog%C3%ADa>
53. Jiménez M, Khun G. Toxicología fundamental, cuarta edición [Internet]. España: Diaz de Santos; 2009[revisión 4 May 2022]. Disponible en: https://www.google.com.pe/books/edition/Toxicolog%C3%ADa_fundamental/tncZEAAAQBAJ?hl=es&gbpv=1&printsec=frontcover
54. Garay J. Toxicología Veterinaria [internet]. Nicaragua: Universidad Nacional Agraria Facultad de Ciencia Animal; 2008[revisión 14 May 2022]. Disponible en: <https://repositorio.una.edu.ni/2448/1/nl74V856.pdf>
55. Juárez F, Sanches A, Posadas, F. Toxicología básica. [Internet]. México: Universidad Autónoma de Aguascalientes; 2006 [revisión 23 May 2022]. Disponible en: <https://booksmedicos.org/toxicologia-basica-fernando-jaramillo/>
56. Organización Mundial de la Salud. Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la medicina tradicional [internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud (OMS); 2002[revisión 30 May 2022]. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67719/WHO_EDM_TRM_2000.1_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y

57. Giraldo F, Zuluaga C. Bioética en la experimentación científica con animales: cuestión de reglamentación o de actitud humana. *Rev. Lasallista Investig.* 2012; 9(1): 159-166.
58. Organisation for Economic Co-operation and Development. Guidelines for the Testing of Chemicals Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure [internet]. OECD/OCDE 423 Adopted: December 17, 2001[revisión 10 Jun 2022]. Disponible en: https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl423.pdf
59. Organisation for Economic Co-operation and Development [Internet]. Guidelines for the Testing of Chemicals Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure. OECD/OCDE 425 Adopted: December 17, 2008[revisión 20 Jun 2021]. Disponible en: https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl425-508.pdf
60. De La Cruz, Díaz, M. Estudio de la toxicidad aguda oral del extracto etanólico del rizoma de la *Smilax domingensis* Willd cultivada en Cuba [Tesis para optar al título químico farmacéutico]. Ecuador: Universidad de Guayaquil. 2019. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/39929>
61. Moser V. Observational batteries in neurotoxicity testing. *JAMA* [Internet] 2000; 19(6), 407-411. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1080/109158100750058767>
62. Fernández M. “*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.: estudio fitoquímico y farmacológico” [Tesis para optar grado de doctor]. España: Universidad Complutense de Madrid. 2012. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/15173/1/T33739.pdf>
63. Gutiérrez S, Suárez A. Evaluación de la toxicidad aguda oral de los extractos acuosos de las hojas de *Malva sylvestris* y *Malva pseudolavatera* [Tesis para optar título químico farmacéutico]. Ecuador: Universidad de Guayaquil. 2019. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/43599>
64. López D. Evaluación experimental en roedores, de la toxicidad de la procaína en algunos esquemas de utilización como neural terapéutico [Tesis para optar el grado de maestría en medicina alternativa]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia. 2011. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/7729>
65. Mendoza S. Pasos para elaborar proyectos de investigación científica. Cuantitativa, cualitativa y mixta[Internet]. Peru: San Marcos. 2015 [revisión 12 Jun 2022]. Disponible en:

- <https://es.scribd.com/document/409029434/Pasos-para-elaborar-proyectos-de-investigacion-cientifica-Santiago-Valderrama-Mendoza-pdf>
66. Mendoza I, Labajos F, Monteverde L, Bejarano M, Jara K. Metodología para la investigación holística [Internet]. Ecuador: Universidad Internacional del Ecuador; 2019 [revisión 15 Jun 2022]. Disponible en:
<https://repositorio.uide.edu.ec/bitstream/37000/3893/3/Metodolog%C3%ADa%20para%20la%20investigaci%C3%B3n%20hol%C3%ADstica.pdf>
 67. Paz G. Metodología de la investigación [Internet]. México: Tercera. Patria; 2017 [revisión 22 Jun 2022]. Disponible en:
http://www.biblioteca.cij.gob.mx/Archivos/Materiales_de_consulta/Drogas_de_Abuso/Articulos/metodologia%20de%20la%20investigacion.pdf
 68. Hernández-Sampieri R, Torres M. Metodología de la investigación [Internet]. México: D. F. DF: McGraw-Hill Education; 2018 [revisión 2 Jul 2022]. Disponible en:
<https://www.uca.ac.cr/wp-content/uploads/2017/10/Investigacion.pdf>
 69. Botero L, Gómez R. Uso de animales de laboratorio en Colombia: reflexiones sobre aspectos normativos y éticos. *Rev. med. vet. zoot.* 2013; 60(3): 213-219.
 70. Chunga B, Rodríguez A, Chuquilín L. Propuestas de solución para el correcto manejo y uso de animales de experimentación en bioterios. *Rev. Méd. Trujillo.* 2017; 12(4):148-149.
 71. Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas M, Verde-Star M. Investigación en plantas de importancia médica [internet]. México: OmniaScience. 2016 [revisión 11 Jul 2022]. Disponible en:
<https://books.google.com.pe/books?id=8kgcDQAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=estudi>
 72. Miranda M, Cuéllar A. Farmacognosia y Productos Naturales, segunda edición [internet]. Cuba: Universidad de la Habana; 2012 [revisión 14 Jul 2022]. Disponible en:
[https://scirp.org/\(S\(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2648713](https://scirp.org/(S(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2648713)
 73. Lock O. Investigación Fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3ª ed [internet]. Perú: Fondo Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016 [revisión 15 Jul 2022]. Disponible en:
https://departamento.pucp.edu.pe/ciencias/pub_dpto/investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-estudio-de-productos-naturales/

74. Nguyen N, Vicet-Muro L, et al. Tamizaje fitoquímico y evaluación de la actividad sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico de *Eugenia clarensis* Britton & P. Wilson. JAMA. 2019; 4(1): 39-48. Disponible en:
<http://redalyc.org/pdf/4960/496053933004.pdf>
75. Correa C. Evaluación de la toxicidad aguda de *Ambrosia arborescens* Mill. Sobre parámetros bioquímicos, hematológicos e histopatológicos de *Rattus norvegicus* var. albinus. [Tesis para optar título segundo especialidad farmacia bioquímica]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. 2020. Disponible en:
https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNIT_dbc04681ad4c086b73f83c346bbf23ee/Details
76. Rodriguez J, et al. Manual de clases prácticas de fisiología animal [internet]. España: Universidad de Murcia; 1993 [revisión 22 Jul 2022]. Disponible en:
<https://books.google.com.pe/books?id=IY2b0gxFz28C&printsec=copyright#v=onepage&q&f=false>
77. Noguera A, Alvarado L. Especificación de la porción letal media (DL₅₀) de la esencia etanólica de *Bixa orellana* L. (achiote) en roedores. [Tesis para optar al título de químico farmacéutico]. Perú: Universidad San Pedro; 2019. Disponible en:
<http://repositorio.usanpedro.pe/handle/USANPEDRO/14102>
78. León G, et al. Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CENPALAB. Rev. Redvet [internet]. 2011;12(11):110. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/636/63622049001.pdf>
79. Morton D, et al. Extracción de Sangre en los Mamíferos y Aves de Laboratorio. JAMA. [internet]. 1993; 27(1), 1-22. Disponible en: <https://sea.umh.es/files/2011/07/Refinamiento-extracci%C3%B3n-sangre.pdf>
80. Ulloa R, Cadena M, Gallardo C, Larco C. Fundamentos de hematología [internet]. Ecuador: edimedic; 2017 [revisión 23 Jul 2022]. Disponible en:
<https://www.studocu.com.pe/document/universidad-de-lima/biologia-general/fundamentos-de-hematologia/53875174>
81. Illanes A, Choquehuanca B, Pinell G. Determinación de valores de referencia hematológicos y bioquímicos en ratones albinos swiss criados y reproducidos en el bioterio

- de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. La Paz-Bolivia. Rev. CONCIENCIA [internet]. 2013; 1(1):69-83. Disponible en:
http://www.scielo.org.bo/pdf/rcfb/v1n1/v1n1_a09.pdf
82. Dáguer M. Guía de laboratorio de hematología general [internet]. Colombia: CURN. Facultad de Ciencias de la Salud Programa de Bacteriología. 2018[revisión 23 Jul 2022].
<http://site.curn.edu.co:8080/jspui/bitstream/123456789/17/1/Gu%C3%ADa%20de%20laboratorio%20de%20Hematologia%20general.pdf>
83. Fortuna E. Evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas frescas de *Mutisia acuminata* R. & P. “chinchilcuma” en cerebros y cerebelos de ratas albinas cepa Holtzman. [Tesis para optar al título de químico farmacéutico]. Perú: Universidad Privada Norbert Wiener; 2013. Disponible en:
<https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/72>
84. Socorro-Castro C, Fumero-Roldán L. Los métodos de estudio anatomopatológicos desde una mirada histórica, social y contextualizada. Rev. Medisur [Internet]. 2020; 18(5):762-9. Disponible en: <http://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/4493>
85. Arenas C. Técnica Histológica [internet]. México: UNAM, Departamento de Biología Celular y Tisular; 2010 [revisión 27 Jul 2022]. Disponible en:
https://bct.famed.unam.mx/wptent/upld/2018/08/3_tecnica_histologica.pdf
86. Vidal S. Tinción hematoxilina-eosina. [Tesis para al optar grado de maestría en química orgánica]. España: Universidad Nacional de Educación a Distancia. 2017. Disponible en:
http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Ssantos/Santos_Vidal_Sara_TFM.pdf
87. Bredo R, Odo N. Anatomía del hígado de la rata Wistar (*Rattus norvegicus*). Rev. JAMA[internet]. 2011; 29(1), 76-79. Disponible en:
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v29n1/art12.pdf>
88. Villena N, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (yawar socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. Rev.inve.unmsm.edu.pe [internet]. 2012; 15(1):15-19. Disponible en:
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3178/2650>

ANEXO 1: Matriz de consistencia

Título de la investigación: Evaluación de toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” en <i>Rattus norvegicus</i> var “Holtzman”. 2021-2022						
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	JUSTIFICACIÓN	VARIABLES	TIPO DE VARIABLES	METODOLOGÍA
<p>Problema General ¿Cuál es el grado de toxicidad aguda que tiene el extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”?</p> <p>Problema específico. 1. ¿Cuál es el solvente para obtener la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”? 2. ¿Qué reactivos identifican mediante reacciones de precipitación y coloración a los metabolitos en el extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”? 3. ¿Cuál método se utiliza en la evaluación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”? 4. ¿Cuáles son los parámetros que se utilizan para los estudios hematológicos de la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”? 5. ¿Cuál técnica se utiliza para el análisis anatomopatológico en la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”?</p>	<p>O objetivo general</p> <p>Evaluar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” en <i>Rattus norvegicus</i> Var Holtzman.</p>	<p>H0: El extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” no presenta toxicidad aguda a una dosis de 2000 mg/kg en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”.</p> <p>H1: El extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” presenta toxicidad aguda a una dosis de 2000 mg/kg en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”.</p>	<p>El proyecto de investigación cuenta con una justificación teórica al generar conocimiento sobre la toxicidad de la planta, lo que permitirá validar científicamente el uso de la especie vegetal, prevenir el grado de toxicidad de la planta y contar con un recurso alternativo natural que mejore la salud y calidad de vida en la población. De igual manera, se justifica económicamente debido a que evitaría gastos de hospitalización por intoxicación y contribuir en una alternativa terapéutica para la población de menos recursos que pueden verse en situaciones dolorosas.</p>	<p>El extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.</p> <p>Toxicidad aguda.</p>	<p>Independiente.</p> <p>Dependiente.</p>	<p>Método: Analítico. Enfoque: Cuantitativo. Tipo de investigación: Aplicativo. Diseño: Experimental.</p> <p>Población. Biológica: Está conformado por diferentes sexos de <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” del centro de investigación nacional de producción Biológica (INS) Chorrillo - Lima. Especie vegetal: <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.</p> <p>Muestra Biológica: conformará 30 unidades <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”. Especie vegetal: se recolectó hojas frescas del árbol <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.</p> <p>Muestreo Biológico: Seleccionados se constituirá dos grupos de ratas <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” (15 hembras y 15 machos) de pesos 240-280 g Especie vegetal: Se utilizará las hojas secas pulverizadas 1 kg de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.</p> <p>Criterios de inclusión: A <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” de ambos sexos, no grávida, peso corporal de 240+/- 280 g y sanos Criterios de exclusión: A <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman” de menor peso, signo de enfermedad, que están grávida.</p> <p>Técnicas e Instrumentos y procedimientos de recolección de datos Recoleccionará, se realizará el extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”. Se realizará la prueba de solubilidad de las hojas de <i>Minquartia Guianensis</i> Aubl “huacapú”.</p> <p>Identificación fitoquímica cualitativa de metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”. Realizar la toxicidad aguda a una dosis única de 2000 mg/kg por vía oral. Observación de test de Irwin en la toxicidad aguda en ratas Se realizará los exámenes histopatológicos y análisis hematológicos</p> <p>Análisis de datos A los datos obtenidos en los ensayos se les aplicará la regresión logística Pro bit con un nivel de probabilidad de $p < 0,05$, para los cálculos de dosis letal media, dosis media efectiva.</p>
	<p>Objetivos específicos:</p> <p>1. Realizar pruebas de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.</p> <p>2. Realizar procedimientos de precipitación y coloración de los metabolitos presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.</p> <p>3. Determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”.</p> <p>4. Analizar los parámetros hematológicos para evaluar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”.</p> <p>5. Realizar los cortes anatomopatológicos de los tejidos para determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú” en <i>Rattus norvegicus</i> Var “Holtzman”.</p>					

ANEXO 2: Instrumento para recolección de datos

Formato A: Test de Irwin mejorado para *Rattus*.

Sustancia: <i>Minuartia Guianensis</i> Aubl "huacapú"																							
Peso: 227g		Dosis: 2000 mg/kg				Vía de administración: Vía oral				Vehículo: Agua destilada													
Fecha: 27 de mayo de 2022 / Hora de administración 3 pm																							
Responsables: Julia Espinoza Rivera, Janet Serván Meléndez.																							
Blanco		Grupo A - R H -N.º 1				Observación y respuesta en 48h				Observación y respuesta en 12 día													
parámetros tiempo de respuesta en:		0-15	30	1h	2h	4h	9h	12h	24h	48h	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Motora	Catalepsia																						
	Acinesia																						
	Ataxia																						
	Trastornos de la marcha (laminación)																						
	Trastornos de la marcha (punta de los pies)																						
	Descoordinación motora																						
	Pérdida de tracción																						
	Perdida de reflejo																						
SNC	Perdida de jadeo																						
	Disminución de la actividad																						
	Disminución del miedo / sobresalto																						
Sedación	Disminución de la reactividad al tacto																						
	Disminución tono músculos /abdominales																						
	Retorciéndose																						
	Frecuencia respiratoria (4)																						
Dolor	Analgesia																						
	Convulsiones /tónica/ atónica/mixtas																						
	Temblor fino / fuerte en cuerpo																						
Excitación	Cola de straud																						
	Mayor actividad																						
	Sobresalto/ Saltar																						
	Aumento de miedo/mayor sobresalto.																						
	Mayor reactividad al tacto																						
	Aumento tono músculos/ abdominales																						
	Reacción de alarma																						
	Agresión																						
	Espasmos de cabeza																						
Estereotipia	Estereotipias movimiento de la cabeza																						
	Estereotipias masticando																						
	Estereotipias olfateando																						
	Rascarse																						
	Fasciculaciones																						
Automático	Ópticos: Ptosis palpebral																						
	Óptico: Exoftalmia / Enoftalmía																						
	Óptico: Miosis/ midriasis																						
	Óptica: Nistagmos																						
	Defecación/ Diarrea																						
	Reflejo de la Micción																						
	Secreción: Salivación																						
	Secreción: Lagrimeo																						
	Orejas: Pálidas																						
	Orejas: Hiperemia																						
	Orejas: Cianosis																						
	Piloerección																						
	Hipotermia / Hipertermia																						
Subjetiv	Agresivo																						
	Pasivo																						
	Temeroso																						
otras obs.	Muerte /Necropsia																						

Validado por observadores.

ANEXO B: Formato de recolección de datos del ensayo de toxicidad aguda

ANÁLISIS HEMATOLÓGICO

Especie:**Sexo:**.....**N°**.....

Sustancia administrada:

Vía de administración:

Dosis límite administrada:

Dimensión:

Tipo de muestra:

Formato de recolección de datos de análisis hematológico

Hemograma completo						
Células sanguíneas	V.N. Hembra	V.N. Macho	Resultado	Normal	Disminuido	Alterado
HEMATOCITO						
Nro. LEUCOCITO						
VALORES RELATIVOS						
Neutrófilos						
Monocitos						
Eosinófilos						
Linfocitos						
VALORES ABSOLUTOS						
Neutrófilos						
Monocitos						
Eosinófilos						
Linfocitos						

Leyenda: Normal (-), Disminuido (+), Alterado (++)

Observaciones:

ANEXO C: Formato de recolección de datos del ensayo de toxicidad aguda.

ANÁLISIS DE ANATOMOPATOLÓGICO.

Especie:**Sexo:**.....**Nro.**.....

Sustancia:

Vía de administración:

Dosis límite administrada:

Dimensión:

Tipo de muestra:

Formato de recolección de datos observación macroscópica

ÓRGANOS DE RATA HEMBRA	GRUPO CONTROL	GRUPO EXPERIMENTAL	ÓRGANOS DE RATA MACHO	GRUPO CONTROL	GRUPO EXPERIMENTAL
Cerebro			Cerebro		
Pulmón			Pulmón		
Corazón			Corazón		
Hígado			Hígado		
Estómago			Estómago		
Bazo			Bazo		
Riñón			Riñón		
Ovario			Testículo		

Leyenda: Normal (-), leve (+), moderado (++), alterado (+++)

ANÁLISIS MICROSCÓPICA CON TÉCNICAS HISTOPATOLÓGICO

Formato de recolección de datos observación microscópica

ÓRGANOS DE RATA HEMBRA	GRUPO CONTROL	GRUPO EXPERIMENTAL	ÓRGANOS DE RATA MACHO	GRUPO CONTROL	GRUPO EXPERIMENTAL
Cerebro			Cerebro		
Pulmón			Pulmón		
Corazón			Corazón		
Hígado			Hígado		
Estómago			Estómago		
Bazo			Bazo		
Riñón			Riñón		
Ovario			Testículo		

Leyenda: Normal (-), leve (+), moderado (++), severo (+++)

ANEXO 3: CERTIFICACIÓN DE VALIDEZ DE CONTENIDO DE LOS INSTRUMENTOS

A: TÍTULO DE INVESTIGACIÓN: EVALUACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”

N°	DIMENSIONES /ítems	Pertinencia ¹		Relevancia ²		Claridad ³		Sugerencia
		Si	No	Si	No	Si	No	
	VARIABLE 1: Extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.							
	DIMENSIÓN 1: Disolución del extracto.	Si	No	Si	No	Si	No	
1	Solubilidad.	x		x		x		
	DIMENSIÓN 2: Identificación de metabolitos	Si	No	Si	No	Si	No	
2	Coloración (flavonoides)	x		x		x		
3	Precipitación (alcaloides)	x		x		x		
	VARIABLES 2: Toxicidad aguda.	x		x		x		
	DIMENSIÓN 1: Test de Irwin.	Si	No	Si	No	Si	No	
4	Leve	x		x		x		
5	Moderado	x		x		x		
6	Grave	x		x		x		
	DIMENSIÓN 2: Parámetros hematológicos.	Si	No	Si	No	Si	No	
7	Normal	x		x		x		
8	Alterado	x		x		x		
9	Disminuido	x		x		x		
	DIMENSIÓN 3: Análisis anatomopatológico.	Si	No	Si	No	Si	No	
10	Macroscópico: Órganos (observación)	x		x		x		
11	Microscópico: Análisis de tejidos (histopatológico)	x		x		x		

Observaciones: Si existe suficiencia para recolectar datos.

Opinión aplicabilidad: Aplicable Aplicable después de corregir No aplica

Apellido y nombre del validador. Dr./Mg.: Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña. DNI: 07459338.

Especialidad del validador: Magíster en farmacología experimental.

Fecha: 25 de enero de 2022.

Firma del Experto Informante

ANEXO 3: CERTIFICACIÓN DE VALIDEZ DE CONTENIDO DE LOS INSTRUMENTOS

B: TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: EVALUACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattu norvegicus* Var “Holtzman”

N°	DIMENSIONES /ítems	Pertinencia ¹		Relevancia ²		Claridad ³		Sugerencia
		Si	No	Si	No	Si	No	
	VARIABLE 1: Extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.							
	DIMENSIÓN 1: Disolución del extracto.	Si	No	Si	No	Si	No	
1	Solubilidad.	x		x		x		
	DIMENSIÓN 2: Identificación de metabolitos	Si	No	Si	No	Si	No	
2	Coloración (flavonoides)	x		x		x		
3	Precipitación (alcaloides)	x		x		x		
	VARIABLES 2: Toxicidad aguda.	x		x		x		
	DIMENSIÓN 1: Test de Irwin.	Si	No	Si	No	Si	No	
4	Leve	x		x		x		
5	Moderado	x		x		x		
6	Grave	x		x		x		
	DIMENSIÓN 2: Parámetros hematológicos.	Si	No	Si	No	Si	No	
7	Normal	x		x		x		
8	Alterado	x		x		x		
9	Disminuido	x		x		x		
	DIMENSIÓN 3: Análisis anatomopatológico.	Si	No	Si	No	Si	No	
10	Macroscópico: Órganos (observación)	x		x		x		
11	Microscópico: Análisis de tejidos (histopatológico)	x		x		x		

Observaciones: Si existe suficiencia para recolectar datos.

Opinión aplicabilidad: Aplicable [x] Aplicable después de corregir [] No aplica []

Apellido y nombre del validador. Dr./Mg.: José Fernando Salvador Carrillo.

DNI: 46666639.

Especialidad del validador: Máster en ciencia con mención en Farmacología.

Fecha: 25 de enero de 2022.



Firma del Experto Informante.

ANEXO 3: CERTIFICACIÓN DE VALIDEZ DE CONTENIDO DE LOS INSTRUMENTOS

C: TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: EVALUACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”

N°	DIMENSIONES /ítems	Pertinencia ¹		Relevancia ²		Claridad ³		Sugerencia
		Si	No	Si	No	Si	No	
	VARIABLE 1: Extracto etanólico de las hojas de <i>Minquartia guianensis</i> Aubl “huacapú”.							
	DIMENSIÓN 1: Disolución del extracto.	Si	No	Si	No	Si	No	
1	Solubilidad.	x		x		x		
	DIMENSIÓN 2: Identificación de metabolitos	Si	No	Si	No	Si	No	
2	Coloración (flavonoides)	x		x		x		
3	Precipitación (alcaloides)	x		x		x		
	VARIABLES 2: Toxicidad aguda.	x		x		x		
	DIMENSIÓN 1: Test de Irwin.	Si	No	Si	No	Si	No	
4	Leve	x		x		x		
5	Moderado	x		x		x		
6	Grave	x		x		x		
	DIMENSIÓN 2: Parámetros hematológicos.	Si	No	Si	No	Si	No	
7	Normal	x		x		x		
8	Alterado	x		x		x		
9	Disminuido	x		x		x		
	DIMENSIÓN 3: Análisis anatomopatológico.	Si	No	Si	No	Si	No	
10	Macroscópico: Órganos (observación)	x		x		x		
11	Microscópico: Análisis de tejidos (histopatológico)	x		x		x		

Observaciones: Si existe suficiencia para recolectar datos.

Opinión aplicabilidad: Aplicable [x] Aplicable después de corregir [] No aplica []

Apellido y nombre del validador. Dr./Mg.: Nesquen José Tasavco Yataco. DNI: 21873096.

Especialidad del validador: Máster en ciencia con mención en Farmacología.

Fecha: 26 de enero de 2022.



Firma del Experto Informante.

ANEXO 4: Confiabilidad del Instrumento

Pruebas de normalidad de los parámetros hematológicos en *Rattus* de la cepa “Holtzman” tratadas con el extracto etanólico experimental.

Sexo		Shapiro-Wilk			
		Estadístico	gl	p valor	
Macho	Recuento Hematíes (m/ mm ³)	Control	0,94	5	0,636
		Experimental	0,49	10	0,000
	Hemoglobina (g/dL)	Control	0,98	5	0,953
		Experimental	0,73	10	0,002
	Hematocrito (%)	Control	0,98	5	0,928
		Experimental	0,74	10	0,003
	N° Leucocitos (mm ³)	Control	0,94	5	0,651
		Experimental	0,88	10	0,148
	Linfocitos (mm ³)	Control	0,94	5	0,637
		Experimental	0,91	10	0,304
	Monocitos (mm ³)	Control	0,99	5	0,984
		Experimental	0,93	10	0,478
	Neutrófilos (mm ³)	Control	0,89	5	0,382
		Experimental	0,97	10	0,853
Eosinófilos (mm ³)	Control	0,97	5	0,872	
	Experimental	0,91	10	0,287	
Hembra	Recuento Hematíes (m/ mm ³)	Control	0,98	5	0,941
		Experimental	0,91	10	0,284
	Hemoglobina (g/dL)	Control	0,98	5	0,919
		Experimental	0,98	10	0,938
	Hematocrito (%)	Control	0,99	5	0,967
		Experimental	0,98	10	0,941
	N° Leucocitos (mm ³)	Control	0,78	5	0,050
		Experimental	0,94	10	0,575
	Linfocitos (mm ³)	Control	0,89	5	0,366
		Experimental	0,97	10	0,885
	Monocitos (mm ³)	Control	0,77	5	0,043
		Experimental	0,85	10	0,059
	Neutrófilos (mm ³)	Control	0,91	5	0,469
		Experimental	0,92	10	0,378
Eosinófilos (mm ³)	Control	0,55	5	0,000	
	Experimental	0,86	10	0,084	

Fuente de los investigadores:

P valor < 0,05 indica no normalidad

ANEXO 5: Constancia de aprobación de comité de ética



COMITE INSTITUCIONAL DE ETICA PARA LA INVESTIGACIÓN

Lima, 11 de agosto de 2021

Investigador(a):
Julia Espinoza Rivera
Janet Servan Meléndez
Exp. N° 901-2021

Cordiales saludos, en conformidad con el proyecto presentado al Comité Institucional de Ética para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener, titulado: “Evaluación de Toxicidad aguda del extracto etanólico de las hojas de *Mimquartia Guianensis* Aubl “Huacapu” en *Rattus norvegicus* Var Holtzman”, el cual tiene como investigador principal a **Julia Espinoza Rivera** y **Janet Servan Meléndez**.

Al respecto se informa lo siguiente:

El Comité Institucional de Ética para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener, en sesión virtual ha acordado la **APROBACIÓN DEL PROYECTO** de investigación, para lo cual se indica lo siguiente:

1. La vigencia de esta aprobación es de un año a partir de la emisión de este documento.
2. Toda enmienda o adenda que requiera el Protocolo debe ser presentado al CIEI y no podrá implementarla sin la debida aprobación.
3. Debe presentar 01 informe de avance cumplidos los 6 meses y el informe final debe ser presentado al año de aprobación.
4. Los trámites para su renovación deberán iniciarse 30 días antes de su vencimiento juntamente con el informe de avance correspondiente.

Sin otro particular, quedo de Ud.,

Atentamente



Yenny Marisol Bellido Fuentes
Presidenta del CIEI-UPNW

ANEXO 6: Constancia de la Identificación botánica



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



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 255-USM-2019

LA JEFE (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 estéril), recibida de Julia Espinoza Rivera, estudiante de la Universidad Privada Norbert Wiener; ha sido estudiada y clasificada como *Minquartia guianensis* Aubl., y tiene la siguiente posición taxonómica; según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: SANTALES

FAMILIA: OLACACEAE

GENERO: *Minquartia*

ESPECIE: *Minquartia guianensis*

Nombre vulgar: "Huacapú"
Determinado por Mag. Hamilton Beltrán Santiago

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

Lima, 23 de agosto de 2019



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

JAC/ddb

ANEXO 7: Procesos de transformación de vegetal en extracto etanólico

Procedimiento de la extracción etanólica de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” para la obtención del extracto.



A: Selección, limpieza de hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”



B: Secado sobre papel Kraft a 40°, **C:** Trituración y pulverización, hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”



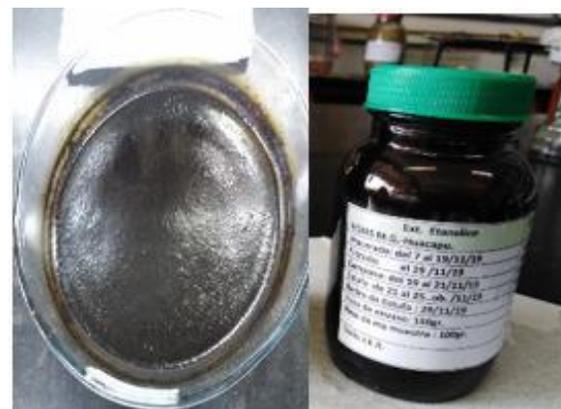
C: Trituración y pulverización, hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”



D: Pesado y macerado, hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”



B: Secado sobre papel Kraft a 40°, hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”



F: Extracto etanólico y almacenamiento de hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”

ANEXO 8: Fases de la evaluación de toxicidad aguda

Administrado el extracto etanólico la observación, extracción y análisis hematológica de *Rattus norvegicus* Var "Holtzman"



A: Observaciones del efecto tóxico del extracto etanólico durante 14 días.



B: Finalizada la evaluación. Extracción de sangre intracardiaca y cargado en los tubos con aditivo anticoagulante.



D: Homogeneizado en movimiento lento por unos segundos la muestra.



E: Colocados en gradilla en tubos de EDTA y rotulados con códigos de cada género.



LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO LA SALUD

PACIENTE: : EDAD: años

INDICACION Dr. (a) Particular: MUESTRA: Lengra

HEMOGRAMA COMPLETO

	RESULTADO	UNIDAD	REFERENCIAL
HEMATOCITO	41	%	37 - 49
Nº EROCIOS	7007	/mm ³	3800 - 5000
VALORES RELATIVOS			
NEUTROFILOS	82	%	57 - 74
MONOCITOS	0	%	2 - 7
ESQUINOFOS	0	%	0 - 5
LIFOCITOS	80	%	60 - 70
VALORES ABSOLUTOS			
NEUTROFILOS	5760	/mm ³	1500 - 4000
MONOCITOS	0	/mm ³	0 - 700
ESQUINOFOS	0	/mm ³	0 - 200
LIFOCITOS	5606	/mm ³	4000 - 10000

*Comentario:

F: Parámetros hematológicos e interpretación del especialista

ANEXO 9: Procedimiento de anatomopatológico

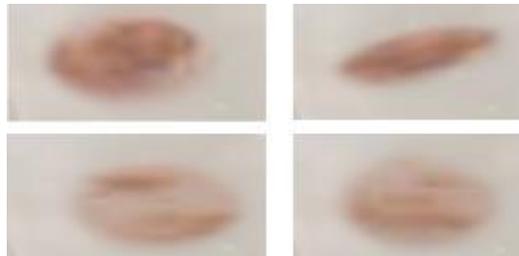
Técnicas a que se somete a los órganos de *Rattus norvegicus* Var "Holtzman" muestra tratado con extracto etanólico.



A: Evisceración y la extracción de órganos.



B: En recipientes la muestra biológica con solución fijadora y su respectivo código, (A) órgano de rata hembra, (B) órganos de rata macho.



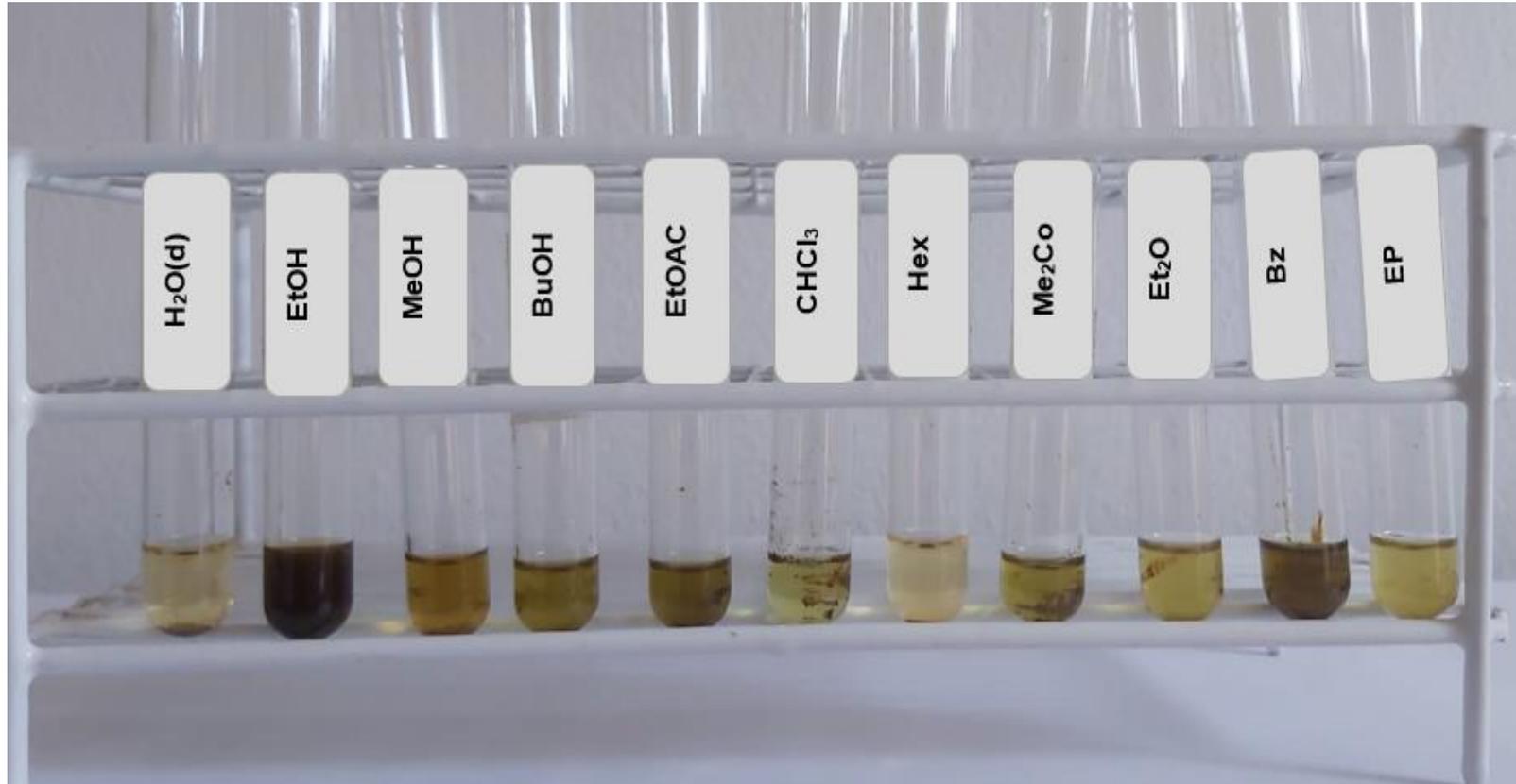
C: Técnicas histológicas: Bloques de parafina solidificado con la muestra.



D: Finalizado el montaje final para ser observado e interpretados por especialista.

ANEXO 10: Resultado de la solubilidad del extracto etanólico

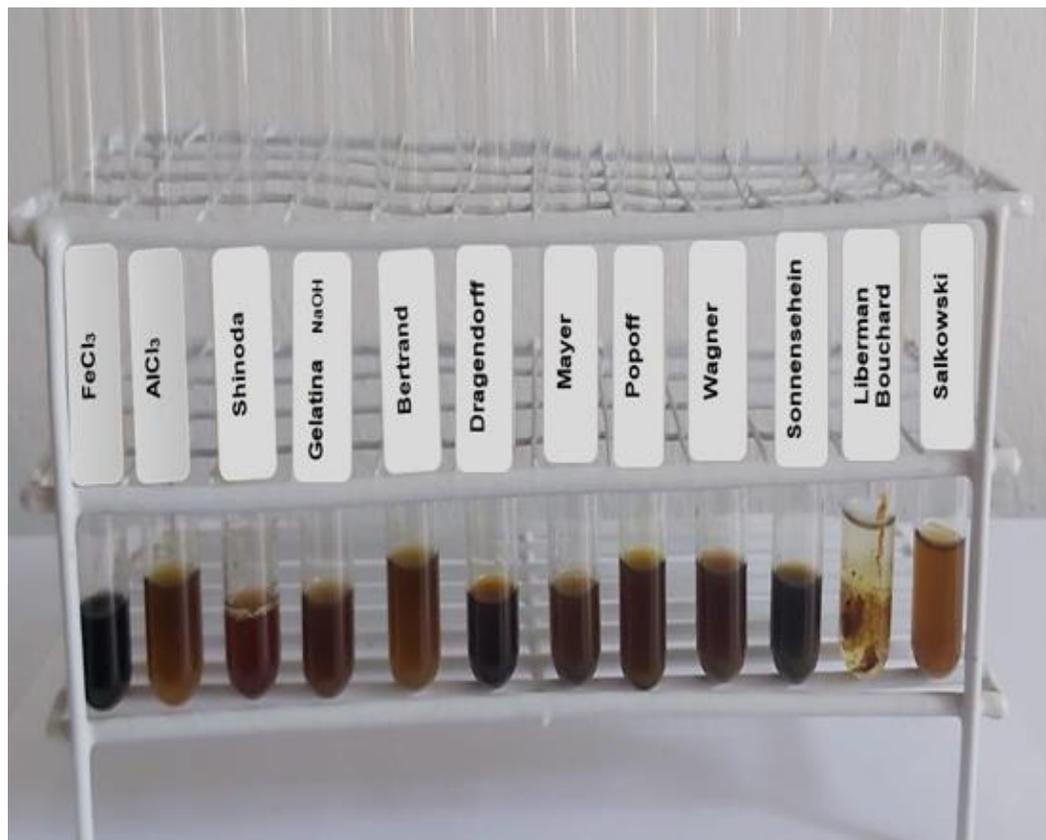
Prueba de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”.



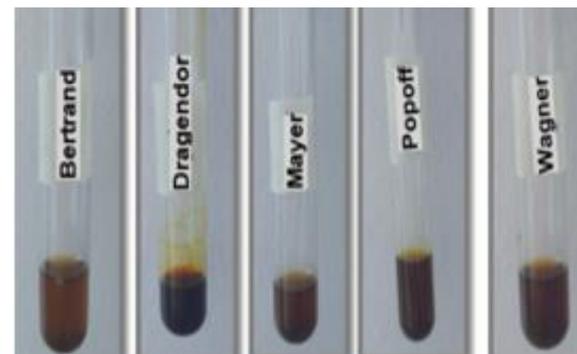
Comprobación de la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”.

ANEXO 11: Análisis cualitativo del extracto

Resultado de análisis cualitativo del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”



Comprobación de la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”.



Reacciones de precipitaciones de alcaloides



Reacción en luz UV de un flavonoide (un halo)

ANEXO 12: Informe del análisis hematológico

Los resultados del análisis hematológico tratados con extracto etanólico en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

INFORME DE LABORATORIO

NUMERO : 1

HEMOGRAMA COMPLETO

		HEMBRAS	MACHOS
HEMATOCRITO	41 %	30.1 - 45.0 %	32.7 - 46.5 %
N ^o LEUCOCITOS	7600 /mm ³	2880 - 10.470 /mm ³	3840 - 12.960 /mm ³
VALORES RELATIVOS			
NEUTROFILOS	80 %	0 - 76.21 %	0 - 79.44 %
MONOCITOS	0 %	0.2 %	0.2 %
EOSINOFILOS	0 %	0.2 %	0.2 %
LINFOCITOS	40 %	85.02 - 98.94 %	82.67 - 97.40 %
VALORES ABSOLUTOS			
NEUTROFILOS	4560 /mm ³	0 - 7897 /mm ³	0 - 2519 /mm ³
MONOCITOS	0 /mm ³	0 - 209 /mm ³	0 - 259 /mm ³
EOSINOFILOS	0 /mm ³	0 - 209 /mm ³	0 - 259 /mm ³
LINFOCITOS	3040 /mm ³	8.699 - 10.365 /mm ³	10.714 - 12.623 /mm ³

*Comentario:

AUTORIZADO POR EL MINSA N°238-2014-DESP-JISA II LS

BIOANALÍZATE
LABORATORIO CLÍNICO

Resultado hematológico del grupo piloto tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” en *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO LA SALUD

HEMOGRAMA COMPLETO

PACIENTE : 1

INDICACION DE LA PATICIA :

EDAD : años

MUESTRA : sangre

		HEMBRAS	MACHOS
HEMATOCRITO	41 %	30.1 - 45.0 %	32.7 - 46.5 %
N ^o LEUCOCITOS	7600 /mm ³	2880 - 10.470 /mm ³	3840 - 12.960 /mm ³
VALORES RELATIVOS			
NEUTROFILOS	80 %	0 - 76.21 %	0 - 79.44 %
MONOCITOS	0 %	0.2 %	0.2 %
EOSINOFILOS	0 %	0.2 %	0.2 %
LINFOCITOS	40 %	85.02 - 98.94 %	82.67 - 97.40 %
VALORES ABSOLUTOS			
NEUTROFILOS	4560 /mm ³	0 - 7897 /mm ³	0 - 2519 /mm ³
MONOCITOS	0 /mm ³	0 - 209 /mm ³	0 - 259 /mm ³
EOSINOFILOS	0 /mm ³	0 - 209 /mm ³	0 - 259 /mm ³
LINFOCITOS	3040 /mm ³	8.699 - 10.365 /mm ³	10.714 - 12.623 /mm ³

*Comentario:

LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO LA SALUD
LABORATORIO CLINICO LA SALUD
LABORATORIO CLINICO LA SALUD
LABORATORIO CLINICO LA SALUD

Resultado de análisis hematológico de *Rattus* cepa “Holtzman” del grupo de experimental tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú”.

ANEXO 13: Los órganos diana de *Rattus norvegicus* Var “Holtzman”.

Órganos con mayor irrigación de vasos sanguíneos

Cerebro:	Las sustancias cruzan las barreras hematoencefálicas a nivel cerebral mediante una difusión simple. Algunos actúan sobre los neurotransmisores y alteran funciones de la conducta. La toxicidad aguda se manifiesta mediante cefalea, convulsiones y estado de inconsciencia ⁽⁴³⁾ .	
Hígado:	Es probable que experimente daños o inflamación debido a la exposición a ciertas sustancias. A causa de las funciones de almacenamiento y biotransformación que recibe por el torrente sanguíneo a través del sistema portal ⁽⁵¹⁾ .	
Riñón:	Órgano que es blanco de las sustancias debido a la reabsorción del agua un 99%. Los tóxicos pueden alcanzar una concentración 100 veces mayor que la sangre y produce daño al glomérulo ⁽⁵⁵⁾ .	
Corazón	Las sustancias producen efecto, tensión vascular y resultado del estímulo tóxico en cuanto a los cardiomiocitos con severidad, desencadena una cascada de procesos intracelular, muerte celular y necrosis. Pueden producir un shock en caso de los alcaloides ⁽⁵²⁾ .	
Pulmón	Se trata de los órganos que son propensos a lesiones debido a la inhalación aguda de sustancias tóxicas. Dependerá según la solubilidad de la sustancia en la sangre para la acción tóxica y excreción ⁽⁸⁴⁾ .	
Estómago	El órgano con mayor frecuencia que ingresan sustancias en pruebas o xenobióticos tóxicos; ingresando al estómago y continúa hacia el intestino delgado, donde la absorción es muy rápida ⁽⁷⁴⁾ .	
Bazo	Parte del sistema linfático, su función disminuye cuando se produce una inflamación por un agente extraño de producir linfocitos, filtrar, almacenar, destruir células sanguíneas viejas ⁽⁵⁴⁾ .	
Órgano Repro-ductor ♂	Puede producir o aumentar la frecuencia de efectos negativos en la descendencia. Esto tiene un impacto en la capacidad del reproductor masculino ⁽⁵⁴⁾ .	
Órgano Repro-ductor ♀	El paso de las sustancias tóxicas por la membrana de la placenta que determina los factores: El peso molecular, el coeficiente de partición lípido/agua, el grado de ionización o pKa, y la unión a las proteínas, entre otros factores ⁽⁸⁴⁾ .	

Nota: Fotografías de los investigadores.

ANEXO 14: ANÁLISIS ANATOMOPATOLÓGICO DE ÓGANOS DE *Rattus norvegicus*
Var “Holtzman” EN HEMBRAS Y MACHOS

RATAS HEMBRA (H): Obsevación macroscópica de órganos de grupo control, tratado con agua destilada(d) y **grupo tratado**, experimentado con el extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg.

Órganos de grupo control

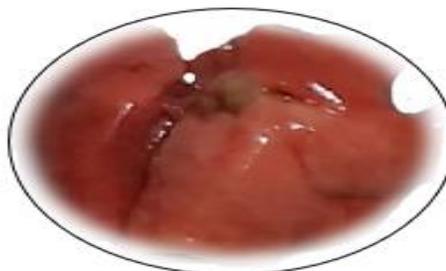
Órganos de grupo experimental



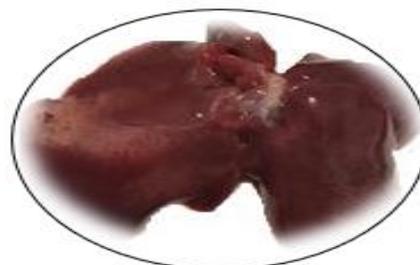
H-a.
Cerebro
Normal



H-b.
Pulmón
Normal



H-c.
Hígado
Normal



H-d.
Riñón
Normal



Órganos de grupo control



H-e.
Corazón
Normal



H-f.
Estómago
Normal



H-g.
Bazo
Normal



H-h.
Ovario
Normal

Órganos de grupo experimental



RATA MACHO (M): Observación macroscópica de órganos de grupo control, tratado con agua destilada(d) y grupo tratado, experimentado con el extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg.

Órganos de grupo control

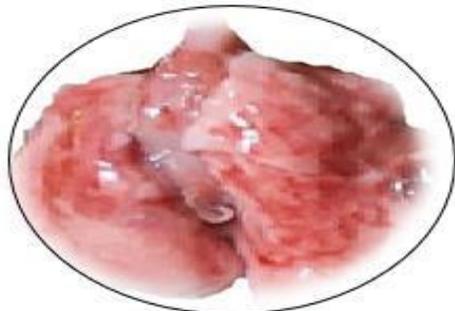
Órganos de grupo experimental



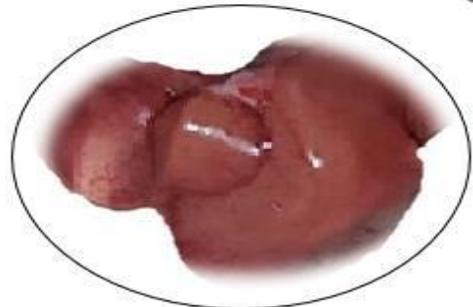
**M-a.
Cerebro**
Normal



**M-b.
Pulmón**
Normal



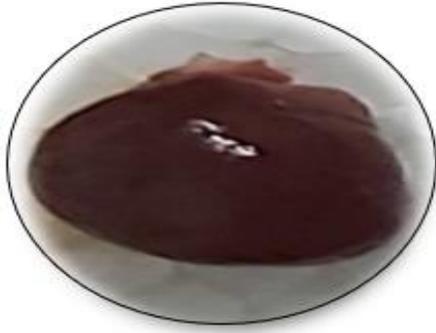
**M-c.
Hígado**
Normal



**M-d.
Riñón**
Normal



Órganos de grupo control



M-e.
Corazón
Normal



M-f.
Estómago
Normal

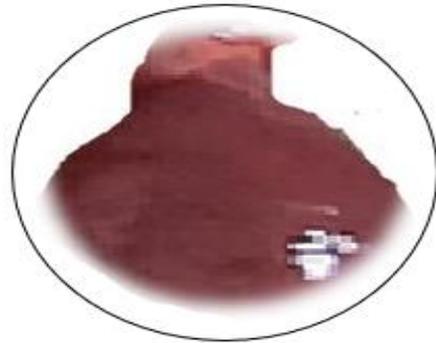


M-g.
Bazo
Normal

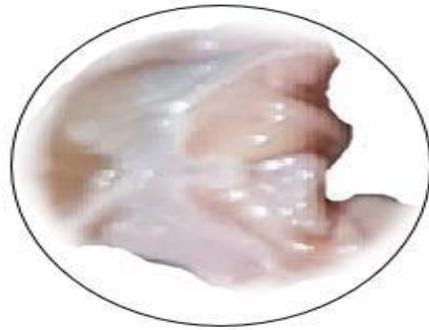


M-h.
Testículo
Normal

Órganos de grupo experimental



M-e.
Corazón
Normal



M-f.
Estómago
Normal



M-g.
Bazo
Normal



M-h.
Testículo
Normal

ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO DE ÓRGANOS DE *Rattus norvegicus* Var “Holtzman” EN HEMBRAS Y MACHOS

RATAS HEMBRAS (H): Grupo control, tratado con agua destilada(d) y **grupo tratado**, experimentado con el extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”

H-a. Corte histopatológico del cerebro

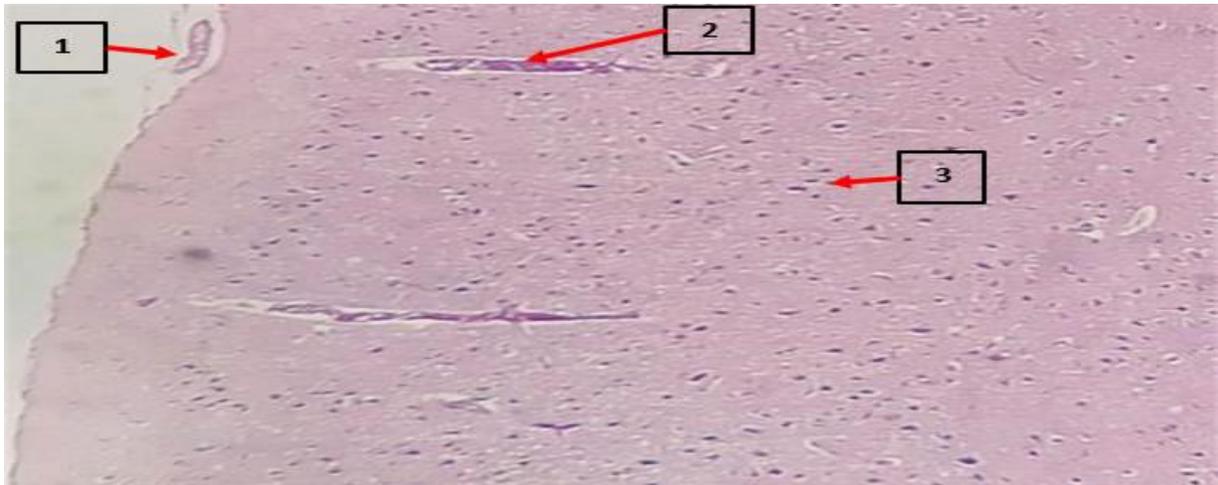


Figura 1: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Cerebro.** En esta figura se visualiza. **H-a. Piamadre (1), vasos sanguíneos (2) y neuronas (3).** H&E. Aumento 40x. Se observa la piamadre, los vasos sanguíneos y la célula neuronal histológicamente sin alteración.

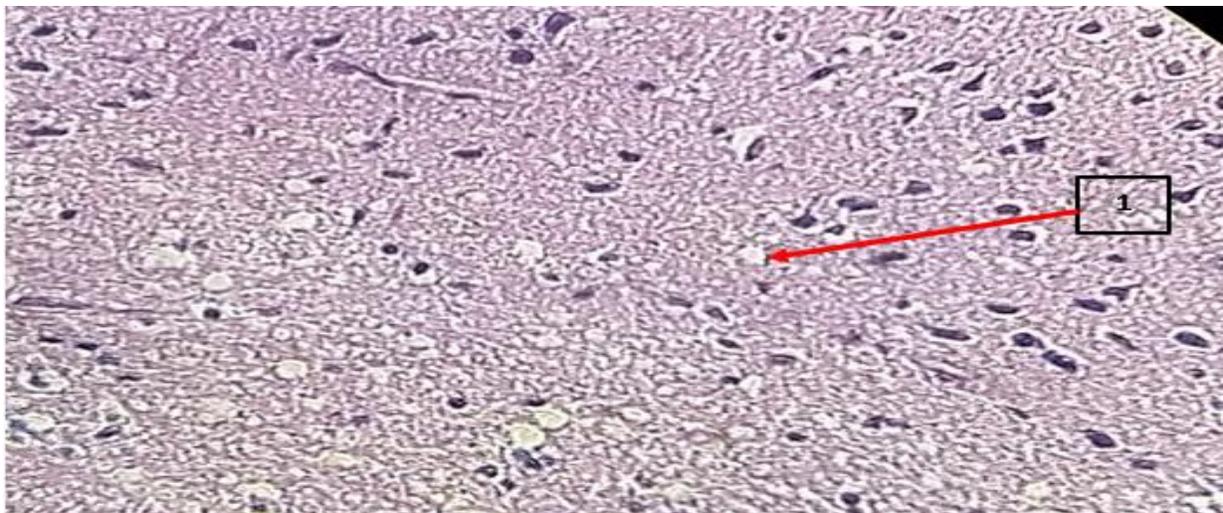


Figura 2: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Cerebro.** En esta figura se visualiza. **H-a. Edema intersticial (1).** H&E. Aumento 40x. Se observa edema por cese de función celular sin presentar lesiones.

H-b. Corte histopatológico del pulmón

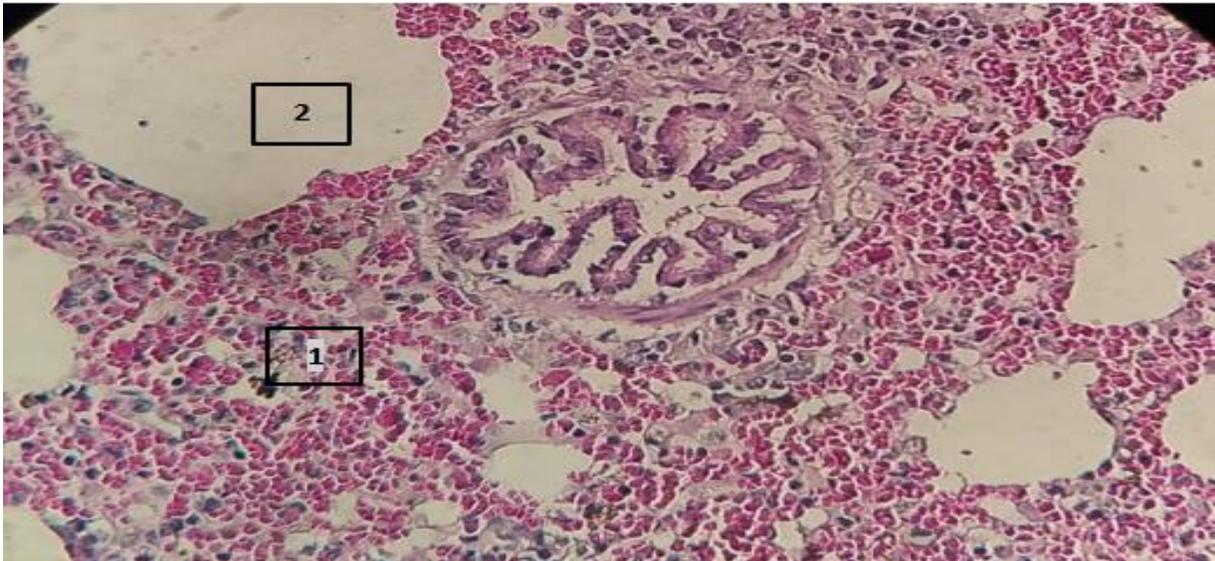


Figura 3: Grupo control con H₂O (d) 1 mL/100 g. **Pulmón.** En esta figura se visualiza. **H-b. Vasos peri alveolares (1) y enfisema alveolar (2).** H&E. Aumento 40x. Se observa congestión de vasos peri alveolares y dilatación alveolar relacionada con otros factores. Histológicamente alteración leve.

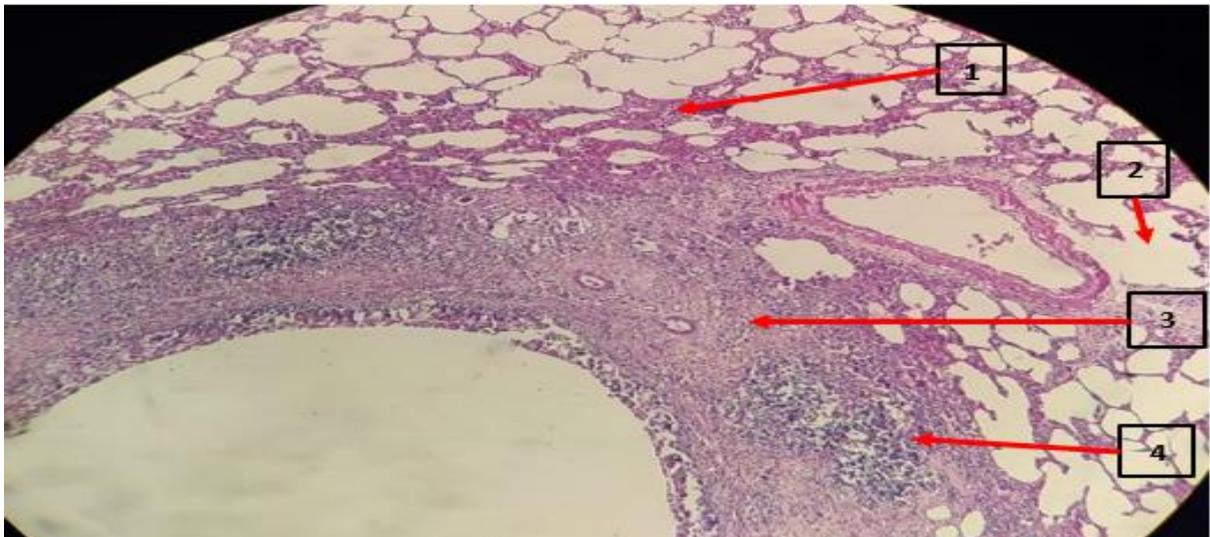


Figura 4: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Pulmón.** En esta figura se visualiza. **H-b. Peri alveolar (1), enfisema alveolar (2) peri bronquitis (3) e hiperplasia linfoide peri bronquial (4).** H&E. Aumento 40x. Se observa congestión e inflamación asociadas a otras enfermedades crónicas o factores propios de la especie. No presenta lesiones.

H-c. Corte histopatológico del hígado

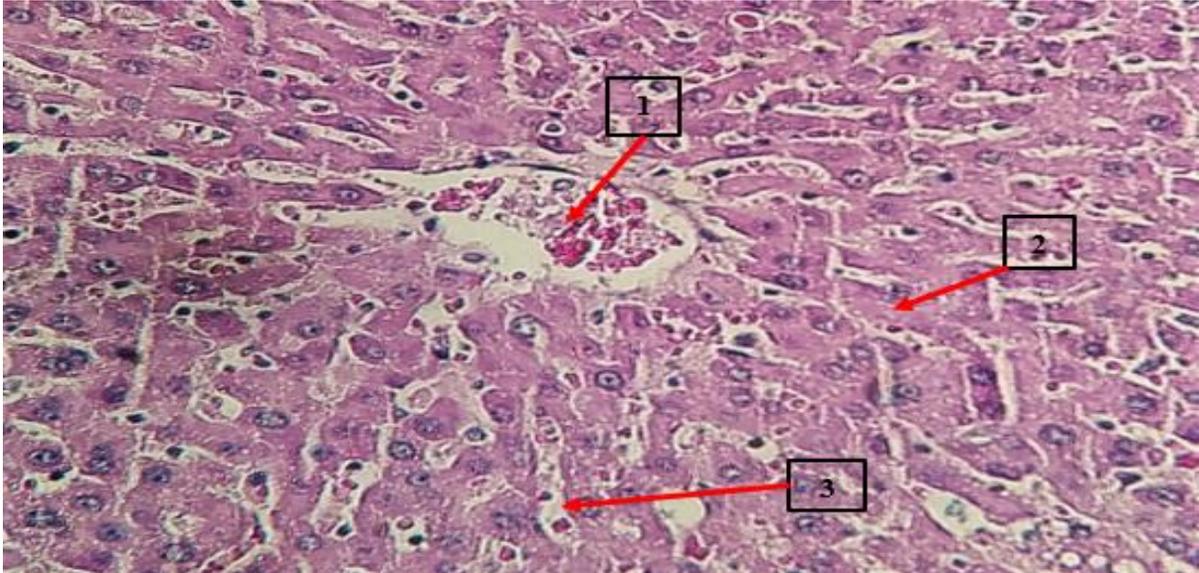


Figura 5: Grupo control (H₂O (d) 1 mL/100 g). **Hígado.** En esta figura se visualiza. **H-c. Vena centrolobulillar (1), cordones de hepatocitos (2) y sinusoides hepáticas (3).** H&E. Aumento 40x. Se observa la estructura del hígado conservado. Histológicamente normal.

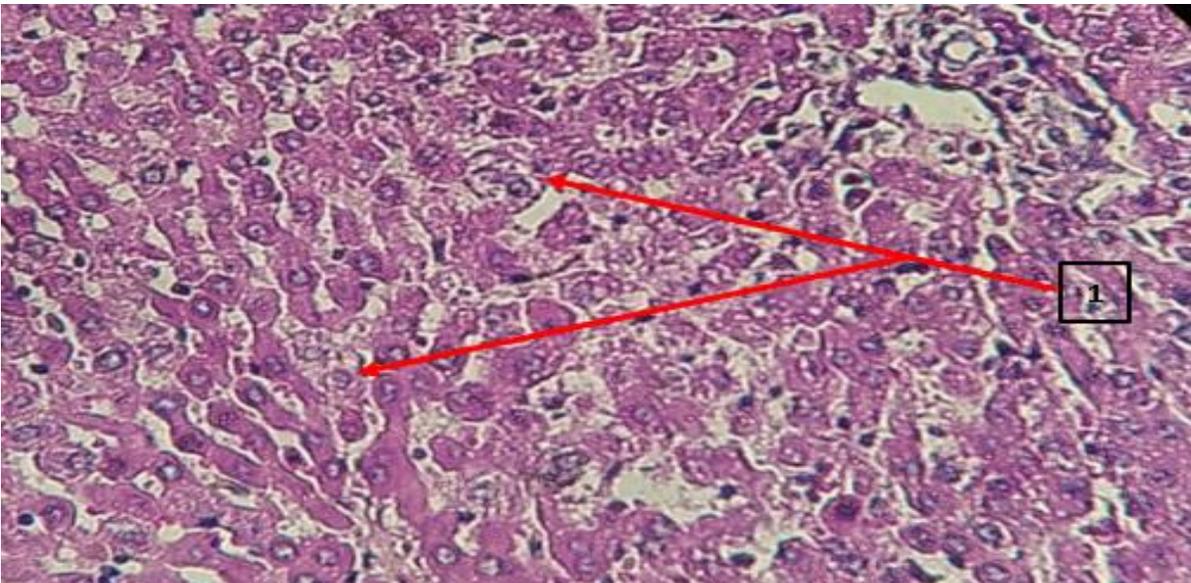


Figura 6: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Hígado.** En esta figura se visualiza. **H-c. Degeneración hidrópica de hepatocitos (1).** H&E. Aumento 40x. Se observa hepatitis, asociado a infección bacteriana, por consiguiente, no presenta lesión.

H-d. Corte histopatológico del estómago

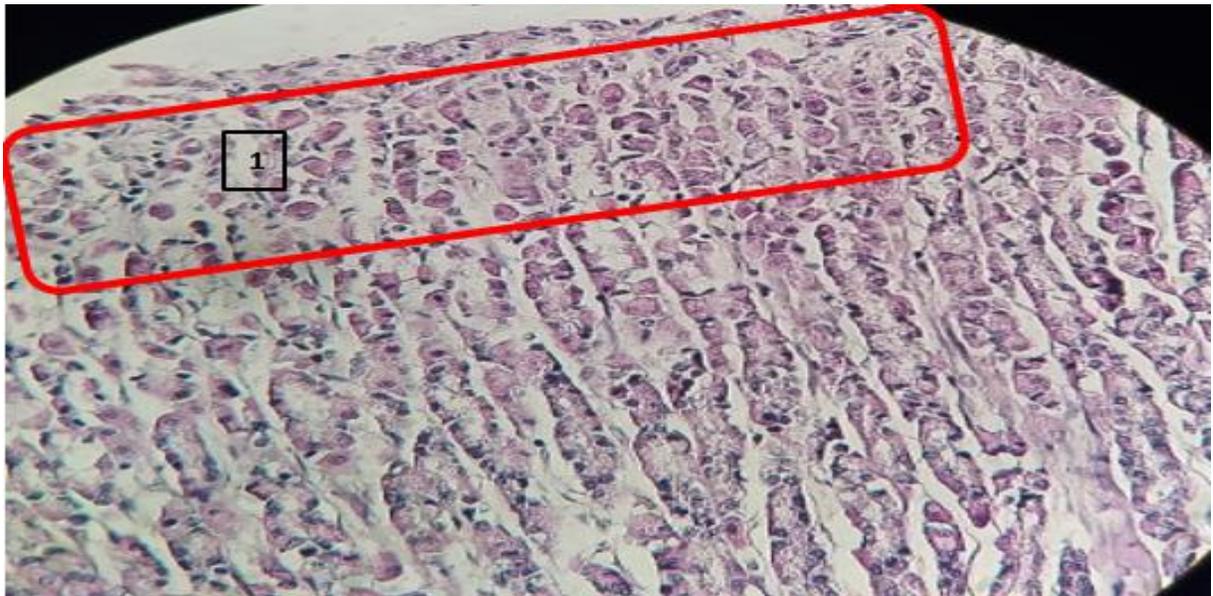


Figura 7: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Estómago.** En esta figura se visualiza. **H-d. Grupos de células superficiales (1).** H&E. Aumento 40x. Se observa células en autólisis por cese de función con tendencia a perder sus características celulares. Histológicamente normal.

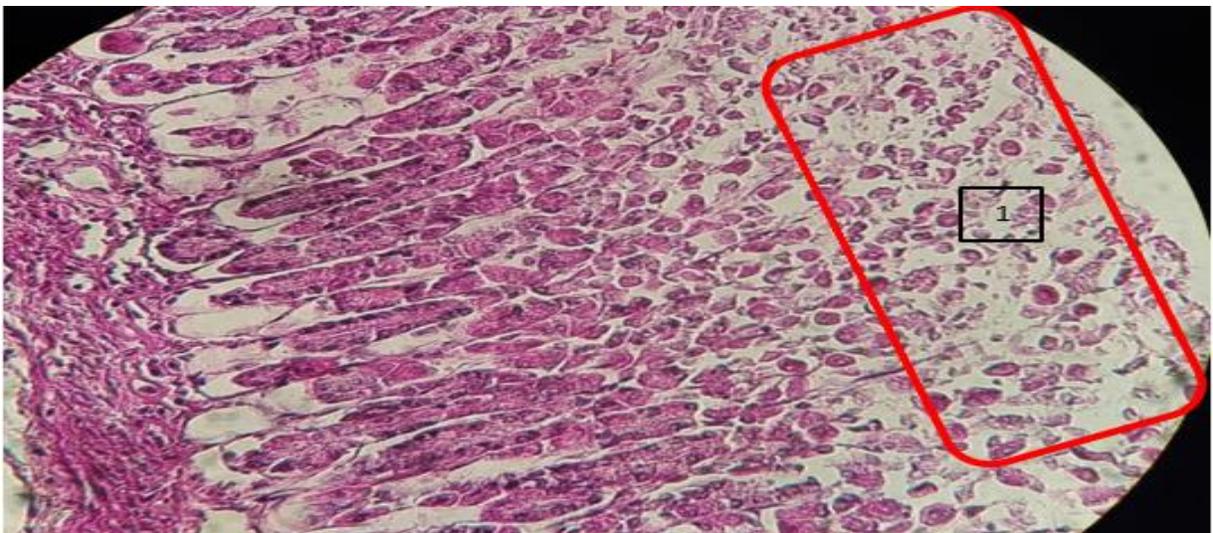


Figura 8: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Miquartia guianensis* Aubl "huacapú" a una dosis 2000 mg/kg. **Estómago.** En esta figura se visualiza. **H-d. Autólisis de las células superficiales (1).** H&E. Aumento 40x. Se observa células en estado de autólisis y desordenadas por cese de funciones y pierden su característica celular. No presenta lesiones en su estructura.

H-e. Corte histopatológico del riñón

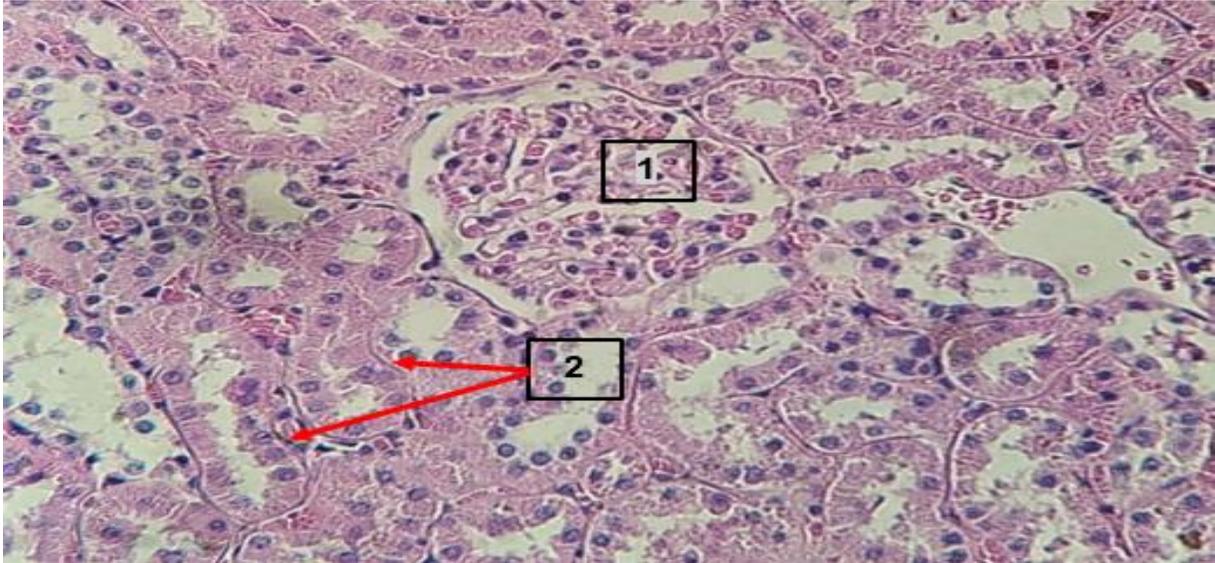


Figura 9: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. Riñón. En esta figura se visualiza. **H-e. Glomérulos renales** (1) y **epitelio tubular** (2). H&E. Aumento 40x. Se observa degeneración hidrópica del epitelio tubular por cese de función. Histopatológicamente natural.

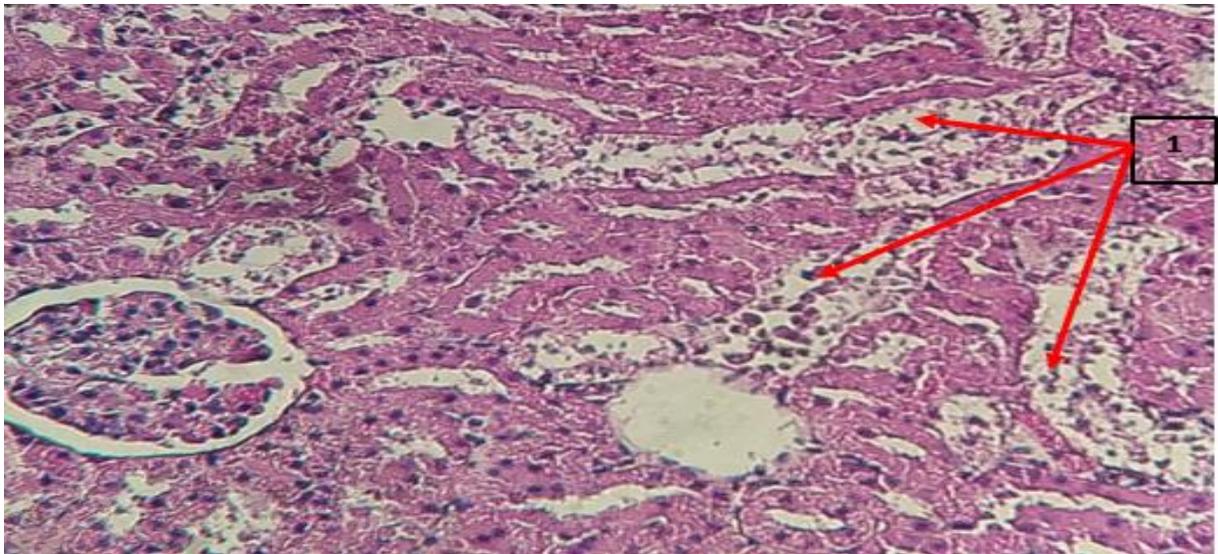


Figura 10: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Riñón.** En esta figura se visualiza. **H-e. Degeneración hidrópica del epitelio tubular** (1). H&E. Aumento 40x. Se observa degeneración hidrópica del epitelio tubular por cese de función. No presenta lesiones en la estructura del epitelio.

H-f. Corte histopatológico del corazón

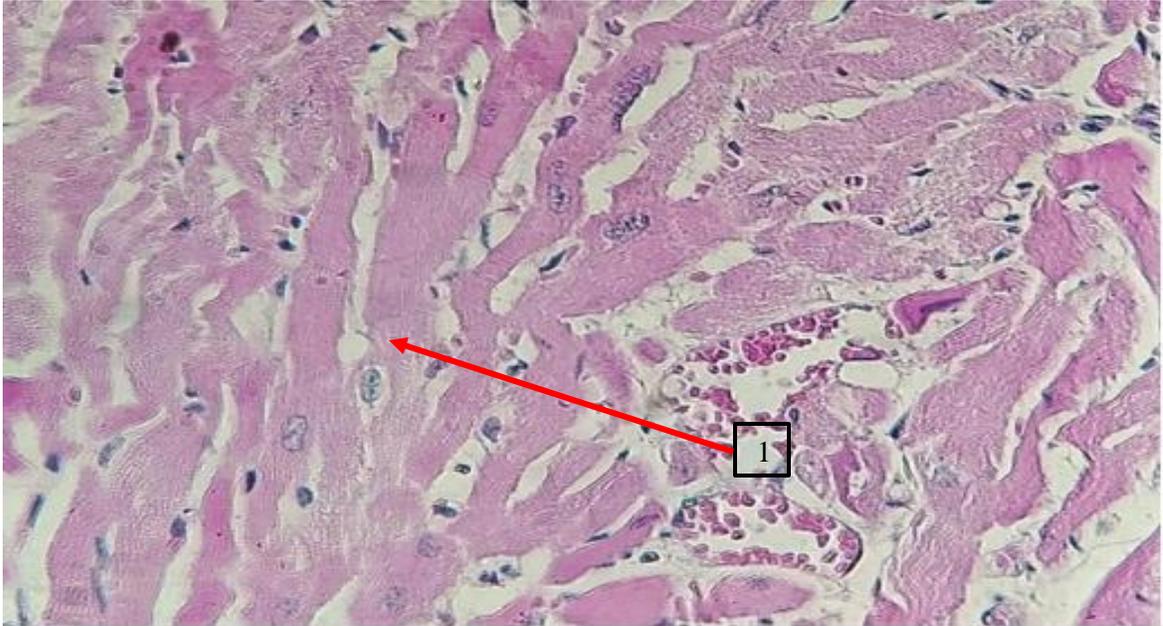


Figura 11: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Corazón.** En esta figura se visualiza. **H-f. Disco intercalar (1).** H&E. Aumento 40x. Se observa fibras cardiacas estriadas de núcleo central y presenta sus características normales.

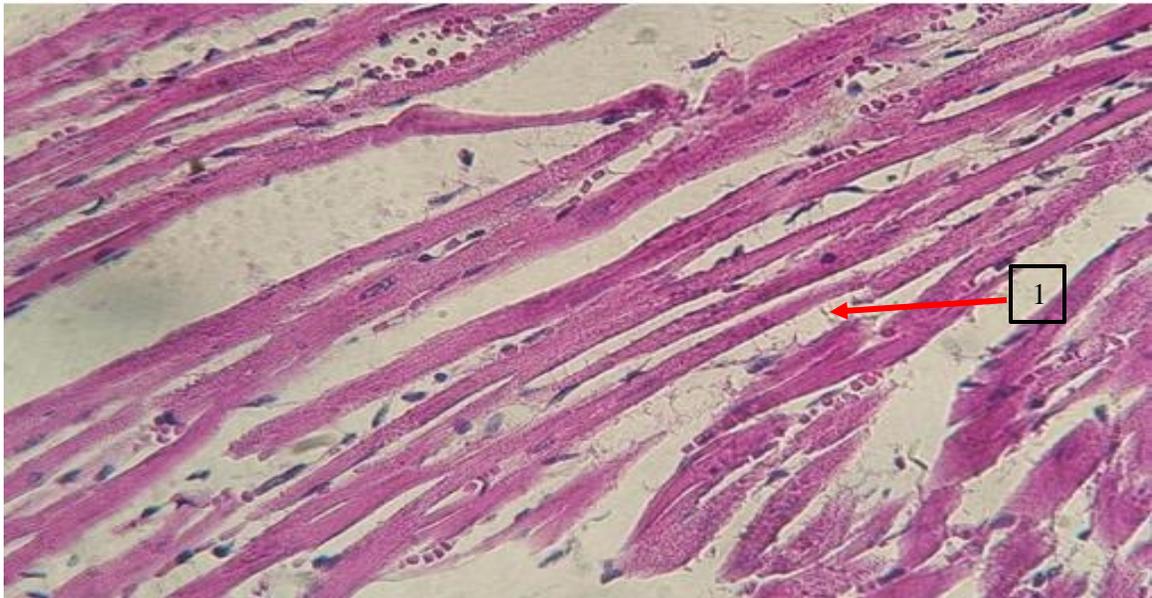


Figura 12: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Corazón.** En esta figura se visualiza. **H-f. Disco intercalar (1).** H&E. Aumento 40x. Se observa el tejido cardiaco sin lesiones.

H-g. Corte histopatológico del bazo

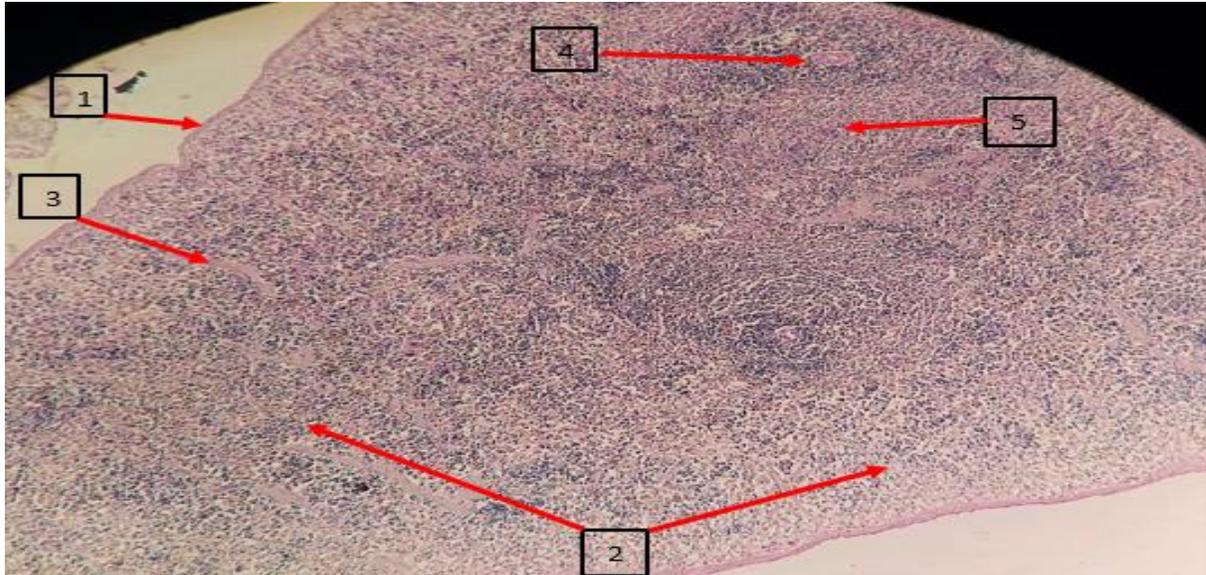


Figura 13: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Bazo.** En esta figura se visualiza. **H-g. Tejido conectivo denso no modelado (1), parénquima (2), tabique (3), vaina linfática periarterial (4) y nódulo de malphigy (5).** H&E. Aumento 40x. Se observa el parénquima que compone dos elementos en pulpa blanca y roja histológicamente estructura normal.

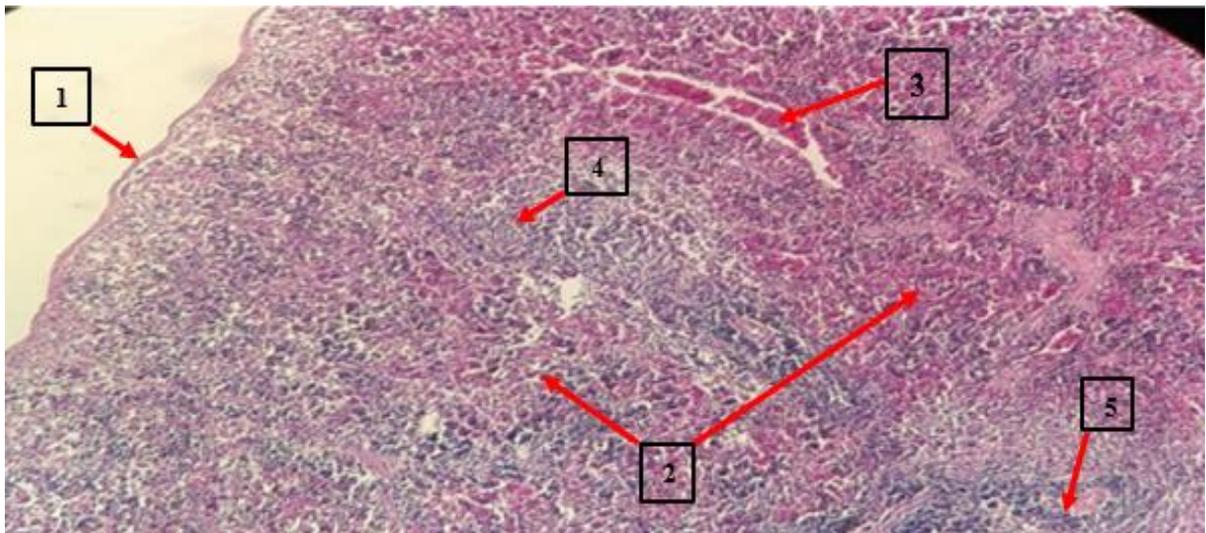


Figura 14: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl "huacapú" a una dosis 2000 mg/kg. **Bazo.** En esta figura se visualiza. **H-g. Tejido conectivo denso no modelado (1), parénquima (2), tabique (3), nódulo de malphigy (4) y Vaina linfática periarterial (5).** H&E. Aumento 40x. Se observa el parénquima que compone dos elementos en pulpa blanca y roja de estructura conservada.

H-h. Corte histopatológico del ovario

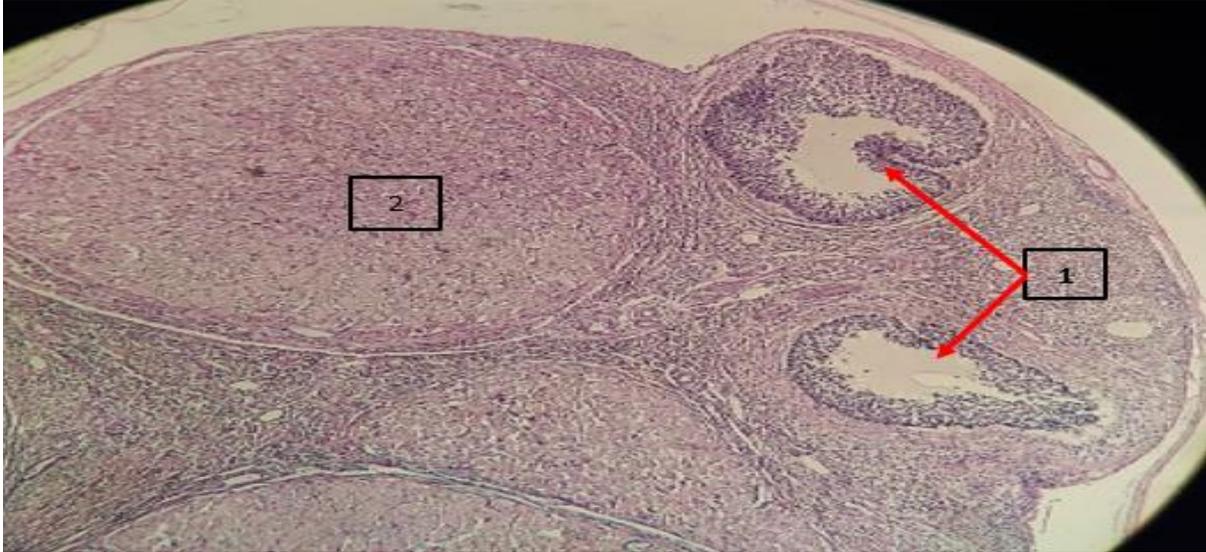


Figura 15: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Ovario:** En esta figura se visualiza. **H-h. Folículos ováricos (1) y cuerpo lúteo (2).** H&E. Aumento 40x. Se observa el folículo en etapa degenerativa y el folículo transformado cuerpo lúteo de aspecto de una maza, histológicamente normal.

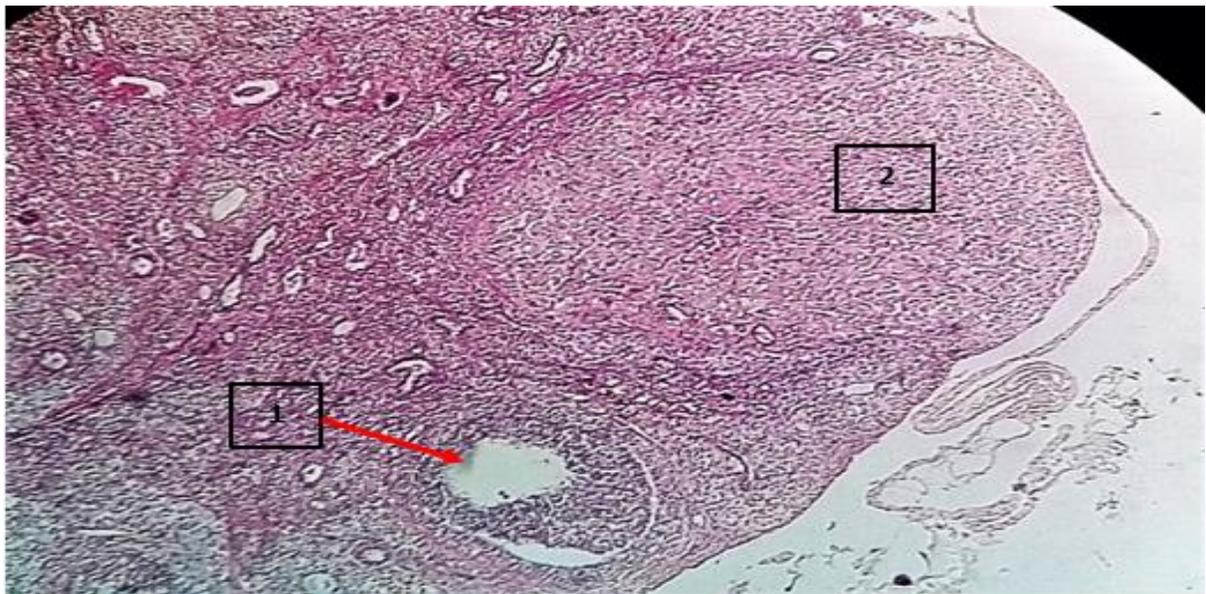


Figura 16: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Ovario:** En esta figura se visualiza. **H-h. Folículo (1) y cuerpo lúteo (2).** H&E. Aumento 40x. Se observa en la corteza del ovario, folículo en desarrollo y el folículo transformado en una maza denominado cuerpo lúteo sin alteraciones ni lesión.

RATAS MACHO (M): Grupo control, tratado con agua destilada(d) y **grupo tratado**, experimentado con el extracto etanólico de las hojas *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú”

M-a. Corte histopatológico del cerebro

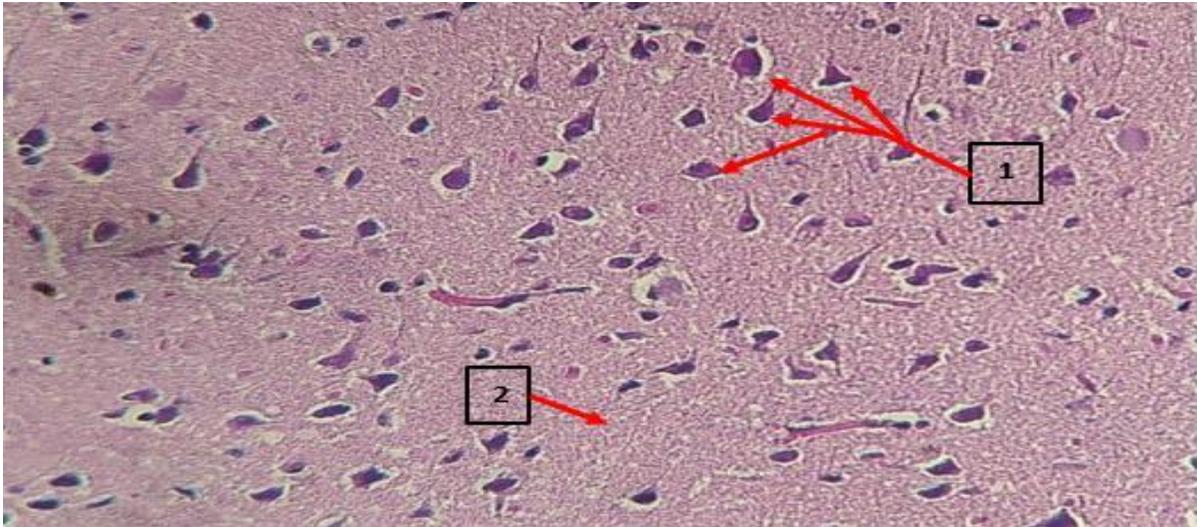


Figura 1: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Cerebro.** En esta figura se visualiza. **M-a. Neuronas** (tinción azul oscuro) (1) y **neurópilo** (2). H&E. Aumento 40x. Se observa en la sustancia gris las neuronas en autólisis y neurópilo entremezclado de células neuronales y gliales por degeneración por cese de funciones. Histológicamente normal.

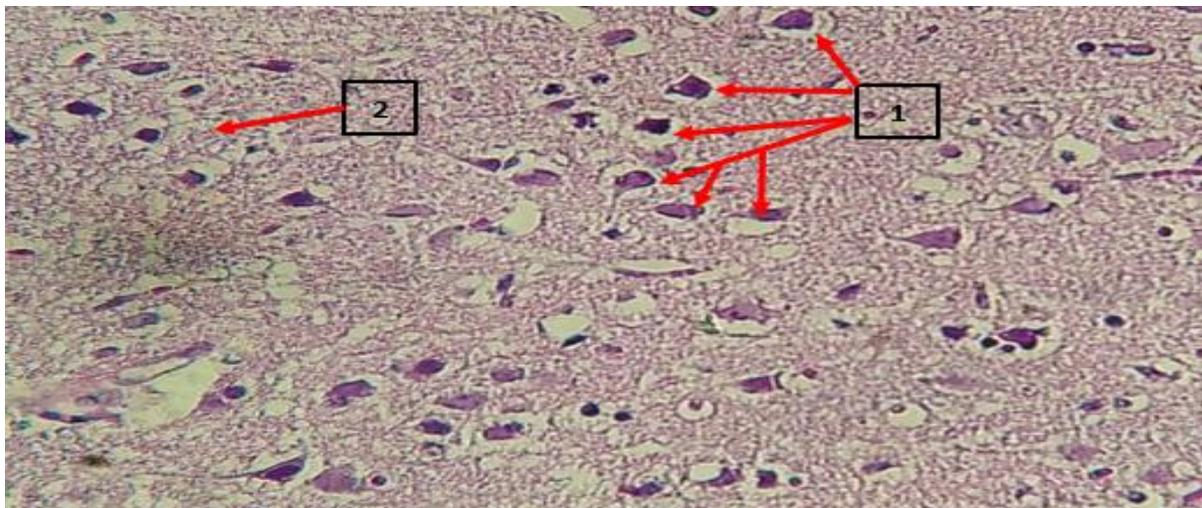


Figura 2: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minquartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Cerebro.** En esta figura se visualiza. **M-a. Neurona** (tinción azul oscuro) (1) y **neurópilo** (2). H&E. Aumento 40x. Se observa neuronas en autólisis y el neurópilo muestra espacios vacuolares, histológicamente presenta edema por cese de función celular y no presenta lesiones.

M-b. Corte histopatológico del pulmón

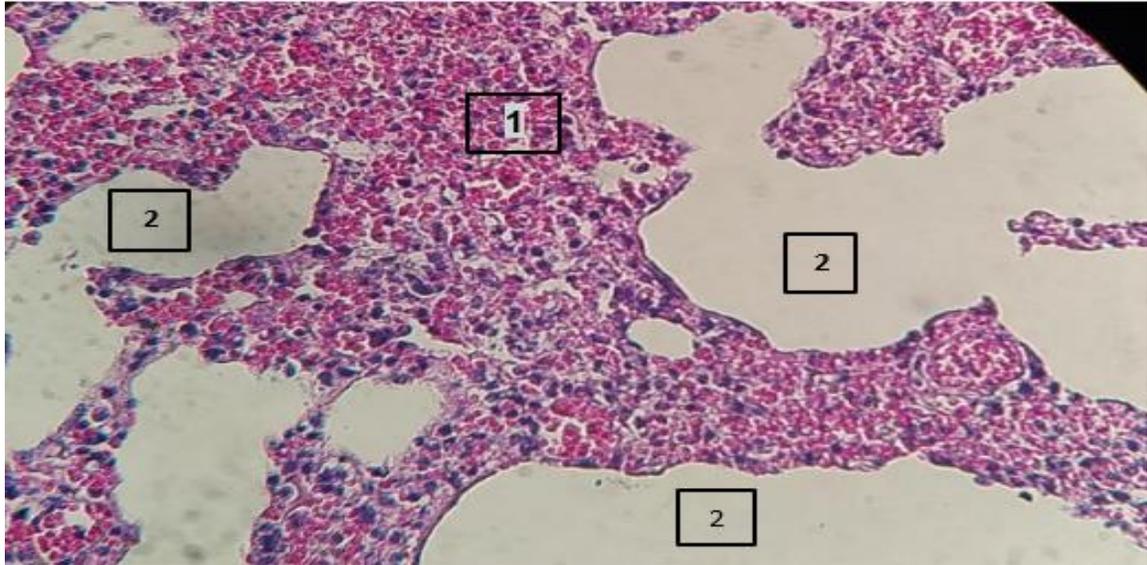


Figura 3: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Pulmón.** En esta figura se visualiza. **M-b. Vasos peri alveolares (1) y enfisema (2).** H&E. Aumento 40x. Se observa engrosado y dilatación alveolar (enfisema) relacionado con infección bacteriana en lo cual presenta alteración leve.

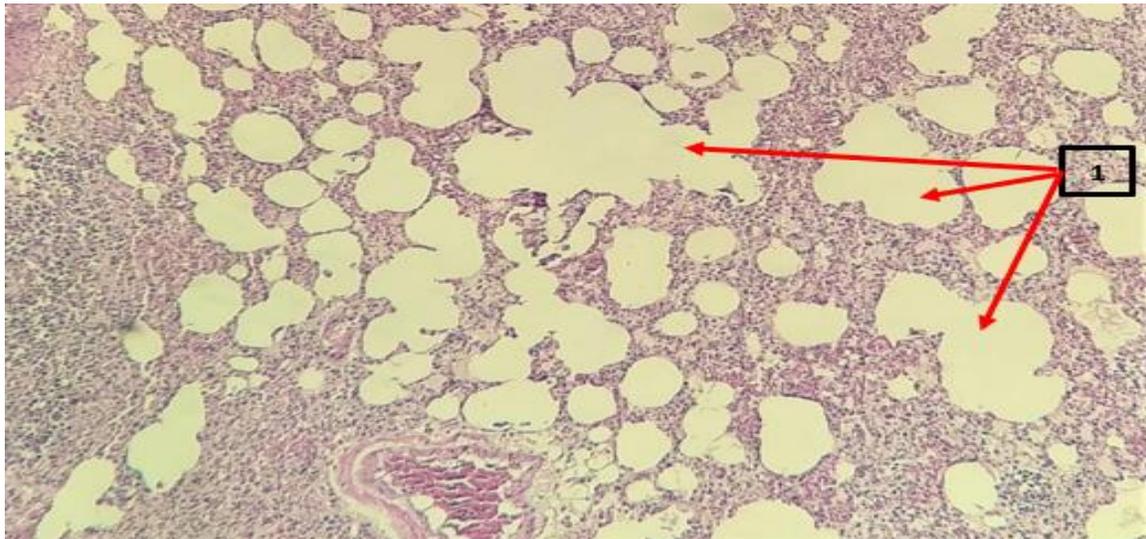


Figura 4: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minqartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Pulmón.** En esta figura se visualiza. **M-b. Enfisema alveolar (1).** H&E. Aumento 40x. Se observa el alveolo dilatado que está relacionado con las infecciones bacterianas y también con enfermedades crónicas. Histológicamente no presenta lesiones.

M-c. Corte histopatológico del hígado

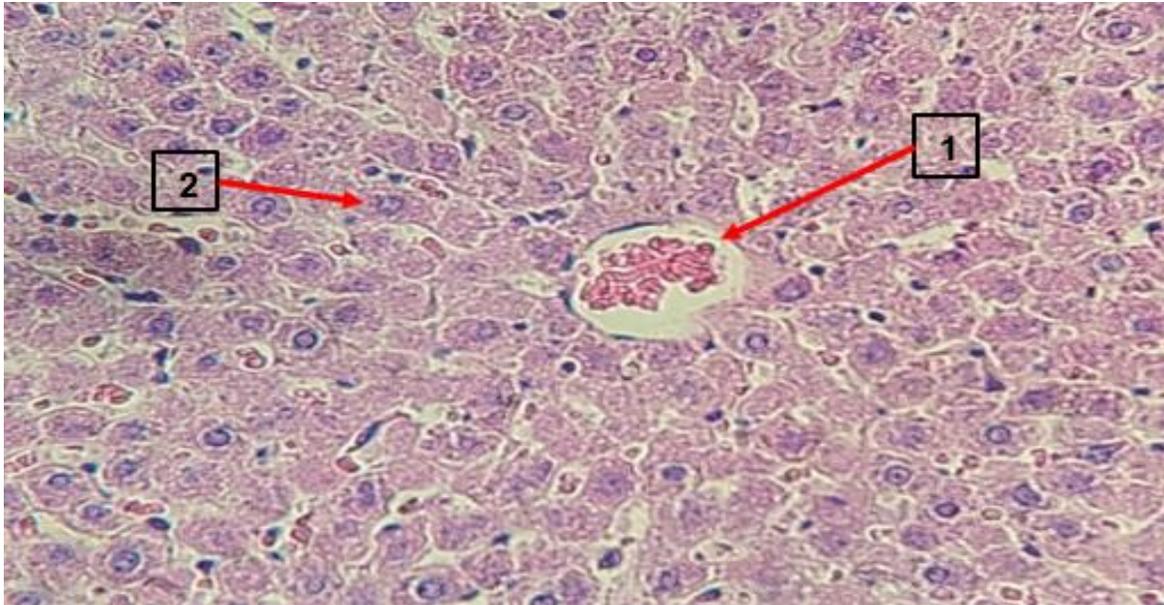


Figura 5: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Hígado.** En esta figura se visualiza. **M-c. Vena centrolobulillar (1) y Hepatocitos (2).** H&E. Aumento 40x. Se observa la vena centrolobulillar presenta estructura conservada, histológicamente hepatosis aguda de origen, múltiples factores.

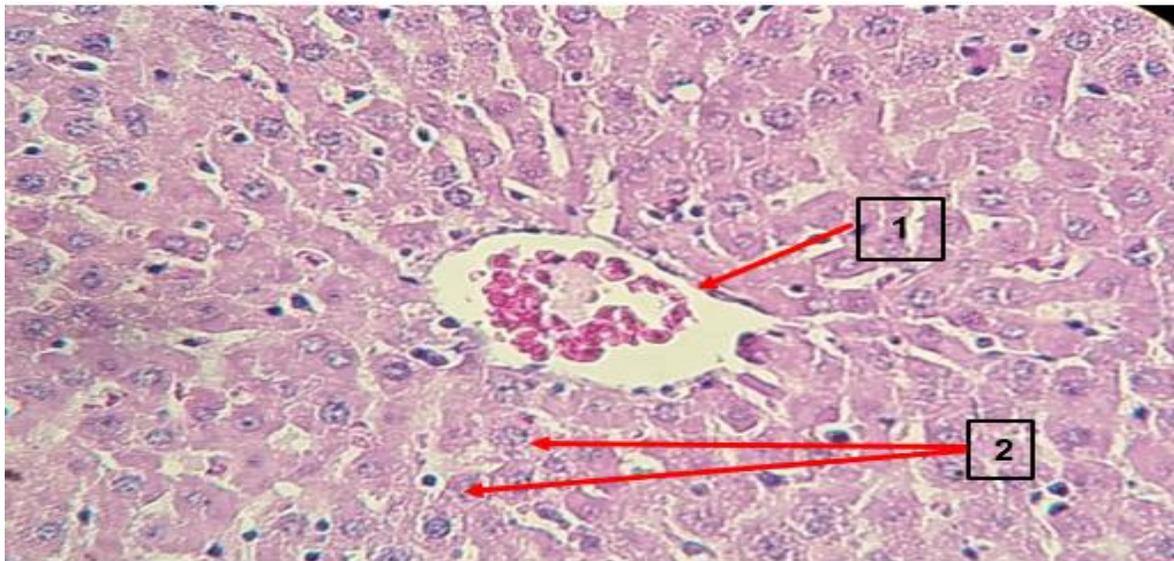


Figura 6: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Hígado.** En esta figura se visualiza. **M-c. Vena centrolobulillar (1) y hepatocitos (2).** H&E. Aumento 40x. Se observa la estructura del tejido de hígado conservado, no presenta histológicamente lesiones.

M-d. Corte histopatológico del estómago

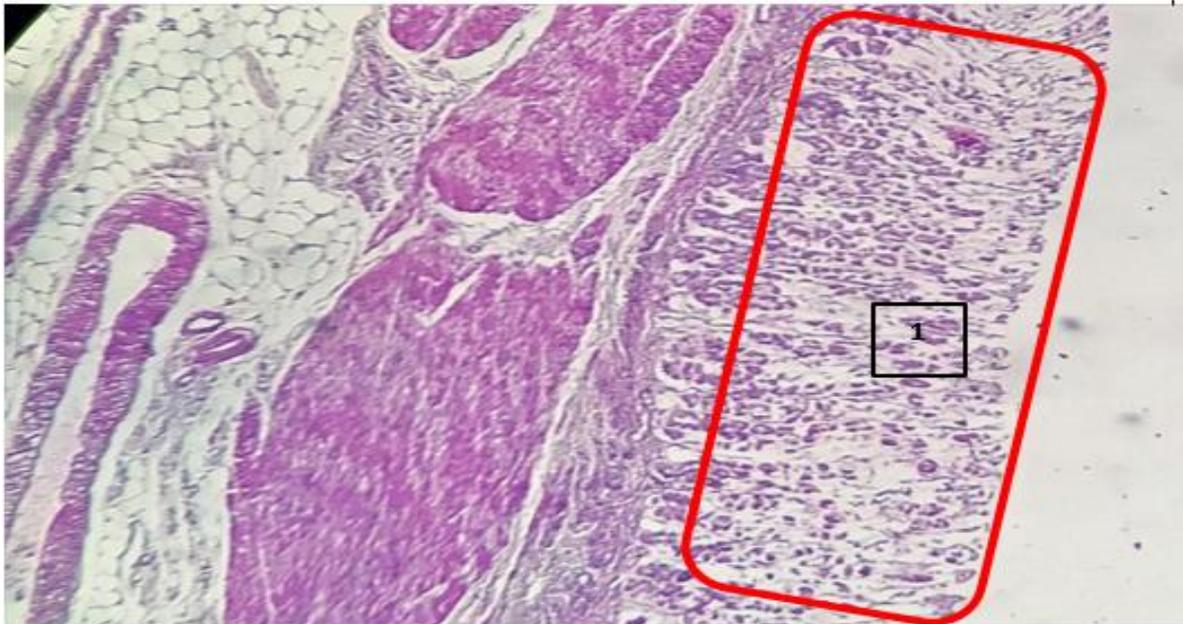


Figura 7: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Estómago.** En esta figura se visualiza. **M-d. Células superficiales (1).** H&E. Aumento 40x. Se observa un grupo de células superficiales en autólisis de la mucosa superficial por cese de funciones histológicamente normal.

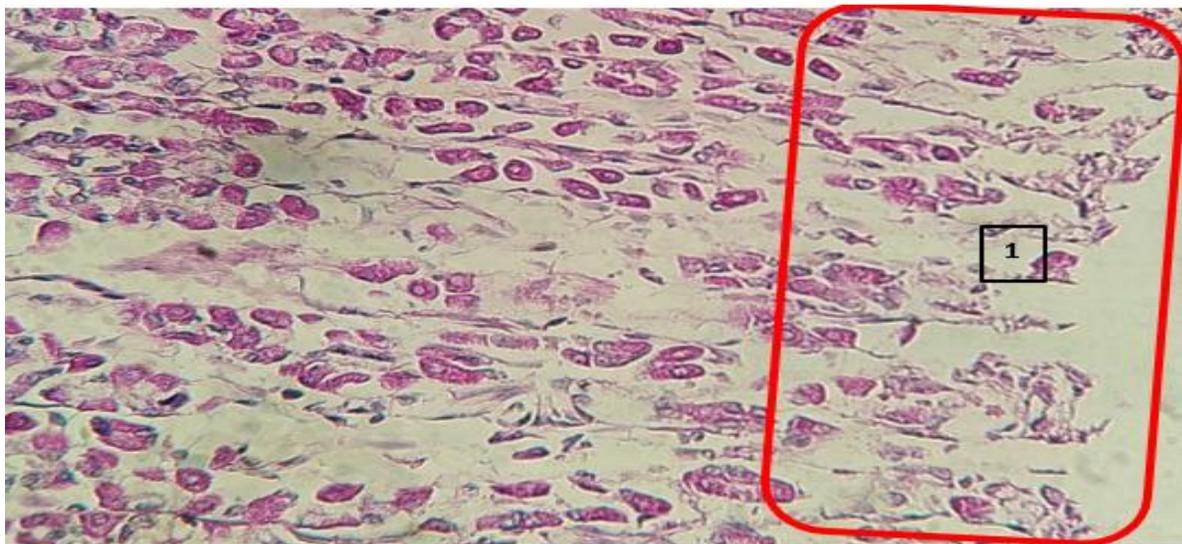


Figura 8: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Estómago.** En esta figura se visualiza. **M-d. Grupo de células en la mucosa superficiales (1).** H&E. Aumento 40x. Se observa las células en autólisis desprendiéndose, lo cual pierde su característica por cese de función e histológicamente no presenta lesión.

M-e. Corte histopatológico del riñón

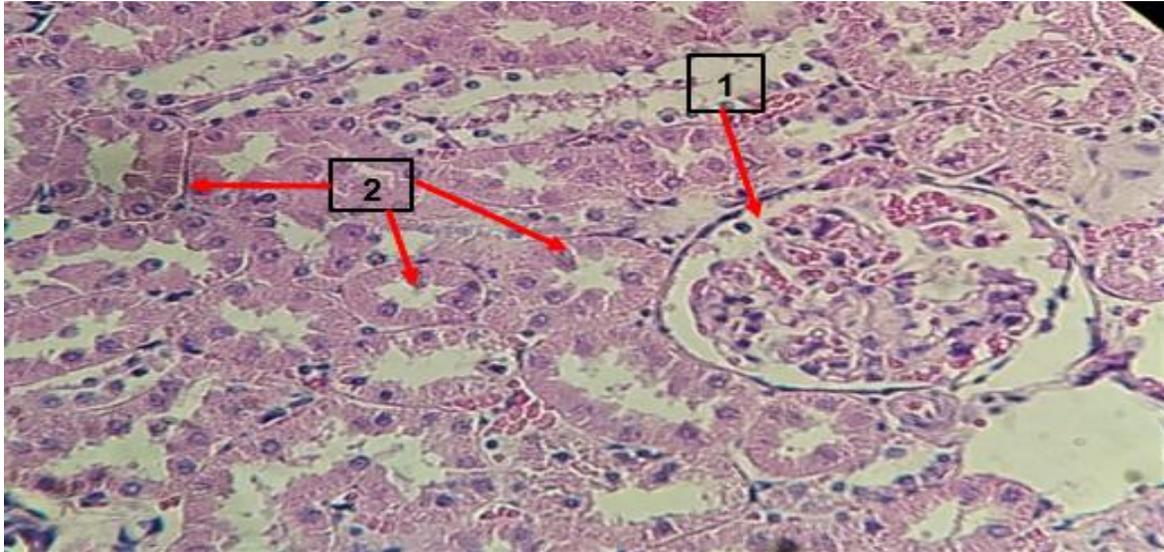


Figura 9: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Riñón.** En esta figura se visualiza. **M-e. Glomérulo renal (1) y epitelio tubular (2).** H&E. Aumento 40x. Se observa conservado su estructura, el glomérulo, el epitelio tubular, presentando necrosis a diversos procesos de patógenos propios de la especie.

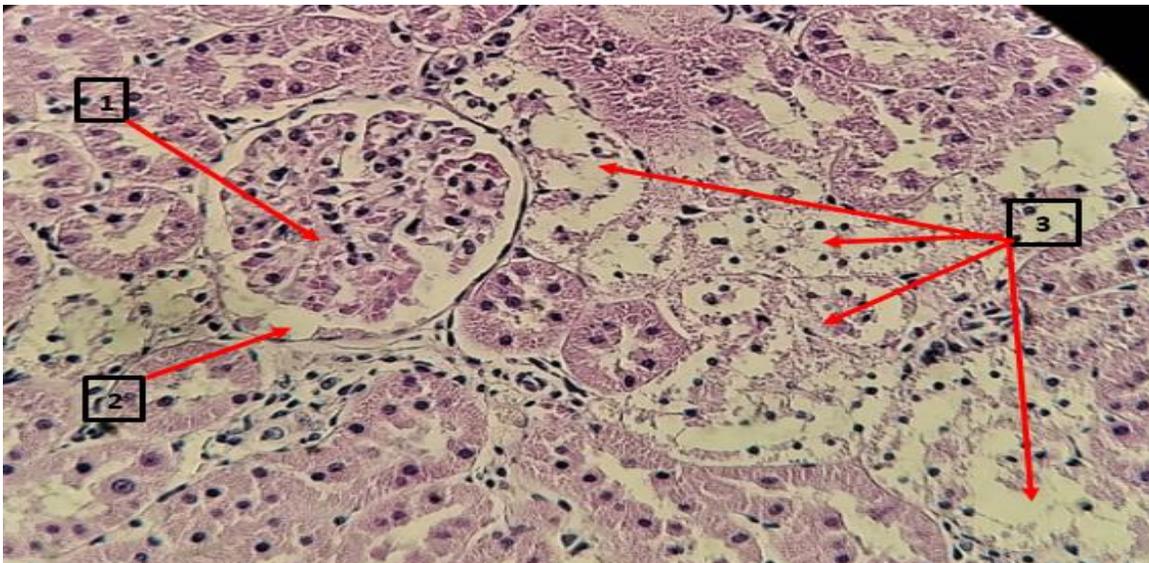


Figura 10: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Miquartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Riñón.** En esta figura se visualiza. **M-e. El glomérulo (1), cápsula de bowman (2) y epitelio tubular (3).** H&E aumento 40x. Se observa el glomérulo conservado, cápsula de bowman conservado y epitelio tubular presentando nefrosis aguda por diversos factores, como puede ser producto de diversos patógenos.

M-f. Corte histopatológico del corazón

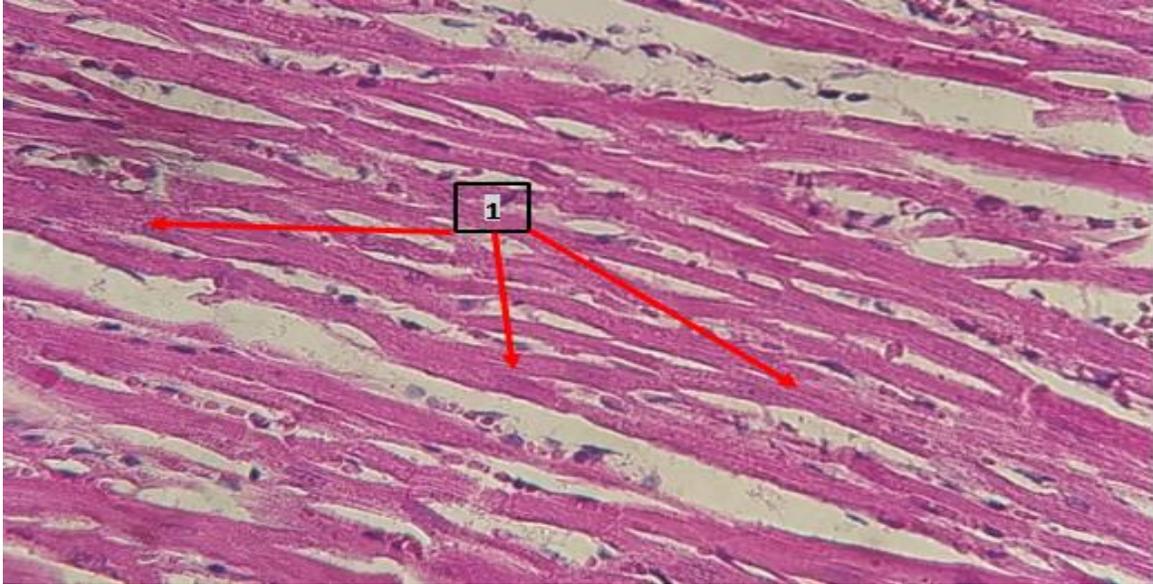


Figura 11: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Corazón.** En esta figura se visualiza. **M-f. El miocardio (1).** H&E aumento 40x. Se observa fibras musculares estriadas y presenta un núcleo central, histológicamente no presenta lesiones.

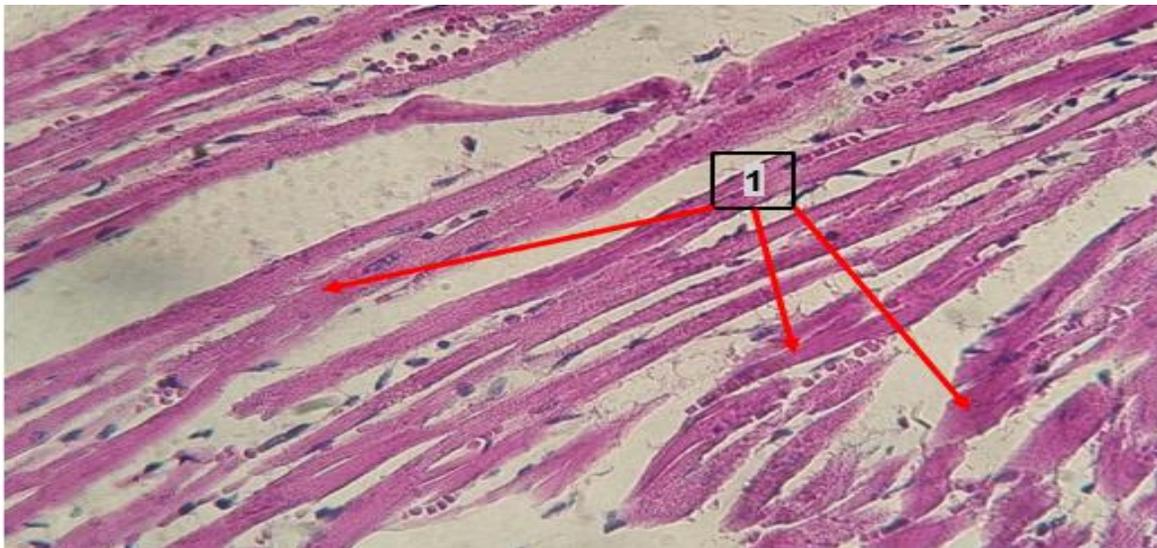


Figura 12: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Miquartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Corazón.** En esta figura se visualiza. **M-f. El miocardio (1).** H&E. Aumento 40x. Se observa las fibras musculares estriadas, conserva su característica por ser cortas, histológicamente no presenta lesiones.

M-g. Corte histopatológico del bazo

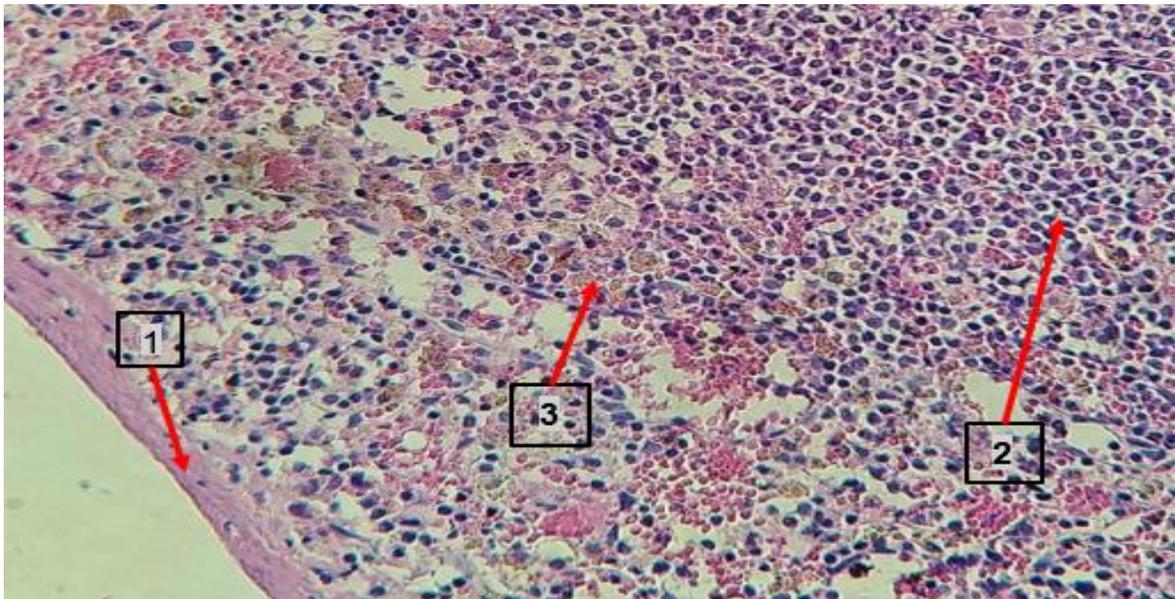


Figura 13: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Bazo.** En esta figura se visualiza. **M-g. Cápsula esplénica (1), nódulo de malphigy (2) y pigmentaciones de hemosiderina (3).** H&E. Aumento 40x. Se observa la cápsula, tejido fibroso, linfocitos de maphigy y hemosiderosis focal esplénica (pigmento férrico) por exceso de hierro, estructura normal.

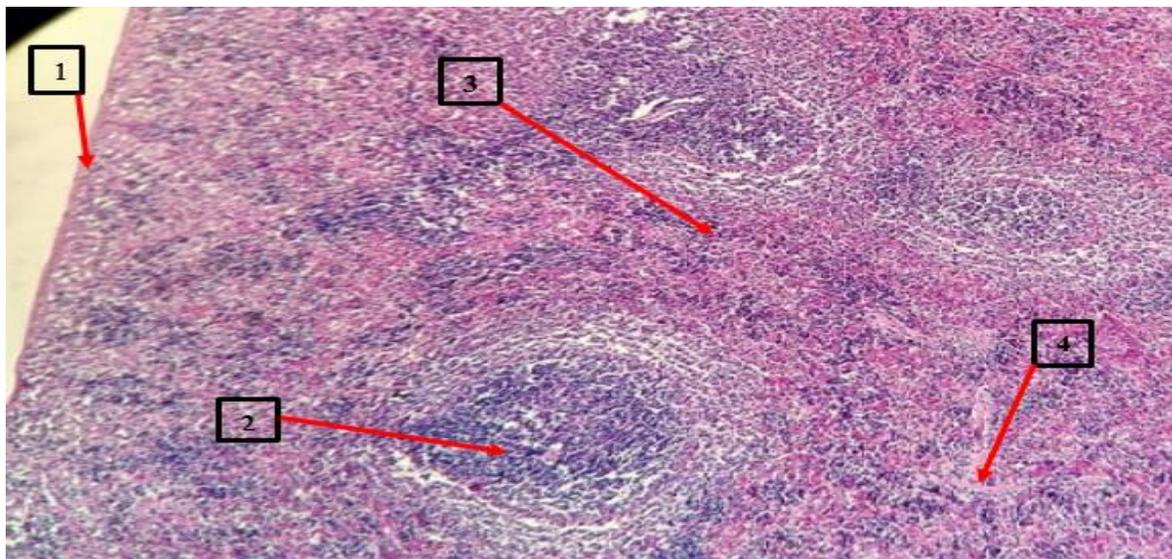


Figura 14: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Miquartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Bazo.** En esta figura se visualiza. **M-g. Tejido conectivo denso no modelado (1), vaina linfática periarterial (2), nódulo de malphigy (3) y tabique (4).** H&E. Aumento 40x. Se observa el parénquima dividido en pula blanca y roja y su estructura sin ninguna lesión.

M-h. Corte histopatológico del testículo

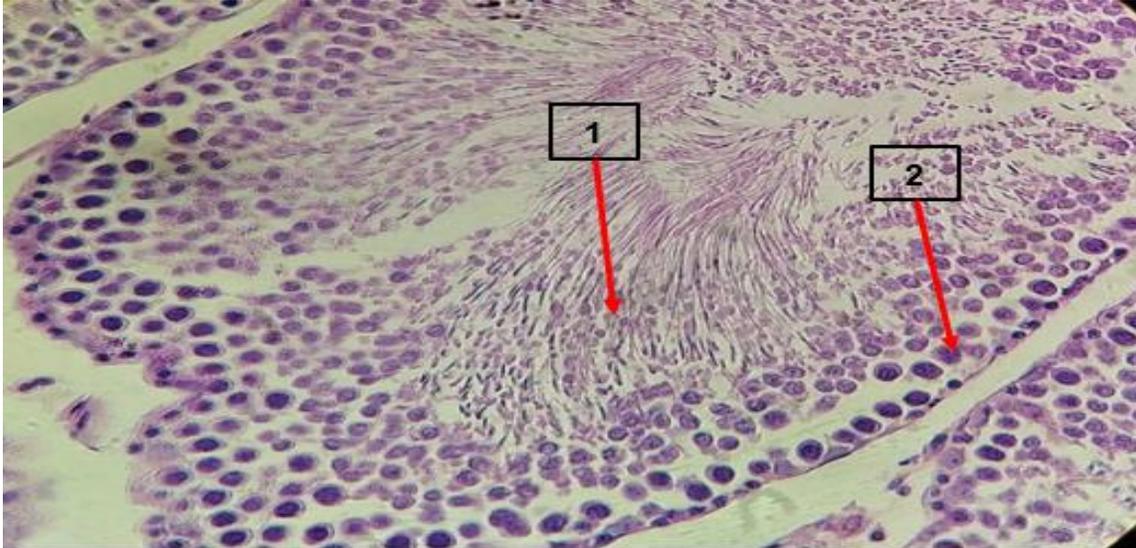


Figura 15: Grupo control H₂O (d) 1 mL/100 g. **Testículo.** En esta figura se visualiza. **M-h. Túbulos seminíferos (1) y espermatogonias (2).** H&E. Aumento 40x. Se observa tubulillo ordenado y también espermatozoides en el lumen del lobulillo en la periferia el lobulillo testicular, histológicamente el testículo en estado de espermatogénesis activa normal.

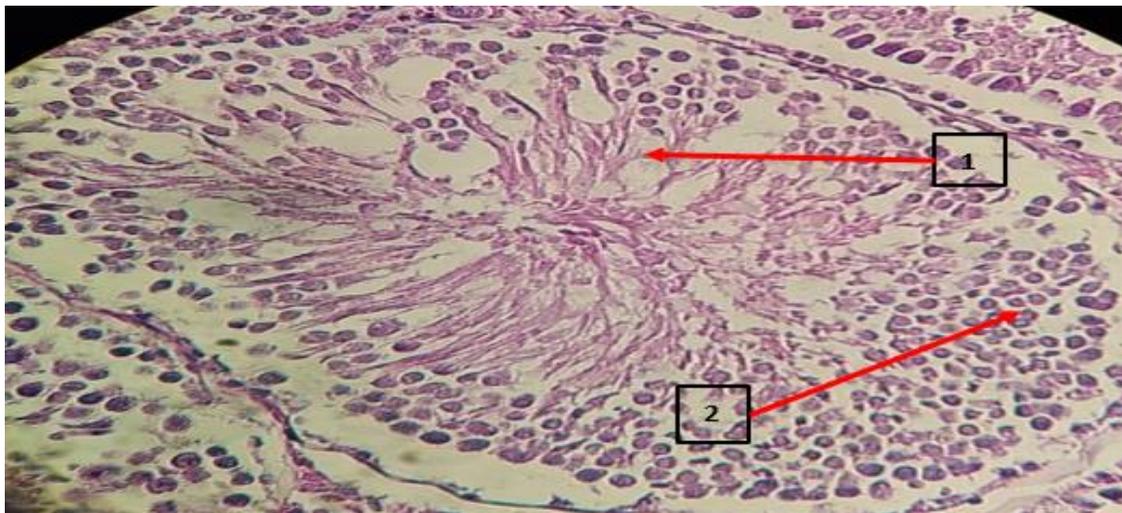


Figura 16: Grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Minuartia guianensis* Aubl “huacapú” a una dosis 2000 mg/kg. **Testículo.** En esta figura se visualiza. **M-h. Túbulo seminífero (1) y espermatogonias (2).** H&E. Aumento 40x. Se observa estructura organizada. Los espermatozoides al contorno del lobulillo testicular. La espermatogonia en estado espermatogénesis activa. Histológicamente no presenta lesión. Las evidencias muestran después de cese de función celular. En los resultados influyen diversos factores, desde la toma de muestra o enfermedad propia de la especie en estudio.

Reporte de similitud TURNITIN

● 9% de similitud general

Principales fuentes encontradas en las siguientes bases de datos:

- 9% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

FUENTES PRINCIPALES

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	repositorio.uwiener.edu.pe Internet	3%
2	docplayer.es Internet	<1%
3	hdl.handle.net Internet	<1%
4	repositorio.ucv.edu.pe Internet	<1%
5	redi.unjbg.edu.pe Internet	<1%
6	repositorio.unapiquitos.edu.pe Internet	<1%
7	cybertesis.unmsm.edu.pe Internet	<1%
8	ebin.pub Internet	<1%
9	repositorio.uladech.edu.pe Internet	<1%