

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



**DETERMINACIÓN DE LA BIOACTIVIDAD CITOTÓXICA IN VITRO DE
EXTRACTOS DE VEINTICINCO ESPECIES VEGETALES MEDIANTE EL
ENSAYO CON Artemia salina.**

Trabajo de Graduación

Presentado por:

AURA MARIA CAÑAS CUSTODIO

JESÚS GERARDO RAMÍREZ AVENDAÑO

ANA BEATRIZ VALLE PEÑA

Para optar al grado de:

Licenciado en Química y Farmacia

SEPTIEMBRE DE 2003

SAN SALVADOR - EL SALVADOR – CENTROAMÉRICA



©2004, DERECHOS RESERVADOS

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

<http://virtual.ues.edu.sv/>

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA

DOCTORA MARIA ISABEL RODRÍGUEZ

SECRETARIA GENERAL

LICENCIADA LIDIA MARGARITA MUÑOZ VELA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANO

LICENCIADA MARIA ISABEL RAMOS DE RODAS

SECRETARIA

LICENCIADA ANA ARELY CÁCERES MAGAÑA

ASESORA:

LICENCIADA RHINA ANTONIETA TOLEDO MENDOZA

JURADO:

DOCTORA GLORIA RUTH CALDERON

MAGÍSTER SCIENTIAE SONIA MARICELA LEMUS

LICENCIADO SALVADOR CASTILLO AREVALO

AGRADECIMIENTOS A:

NUESTRA ASESORA: Licenciada Rhina Antonieta Toledo Mendoza por guiar esta investigación de la mejor manera.

NUESTRO JURADO EXAMINADOR: Licenciado Salvador Castillo Arévalo, Master Sonia Maricela Lemus Y Doctora Ana Ruth Calderón por la paciencia y fineza demostrada en la realización de este trabajo.

A NUESTROS AMIGOS: por su cariño y todos aquellos momentos de alegrías y preocupaciones que compartimos juntos.

Aura María, Jesús Gerardo y Ana Beatriz

AGRADECIMIENTOS A:

ASOCIACIÓN DE PROMOTORES COMUNALES SALVADOREÑOS

(APROCSAL)

Por apoyar nuestra investigación y por la colaboración económica, bibliográfica y técnica
brindada durante el desarrollo de este trabajo.

Sinceramente:

Aura María, Jesús Gerardo y Ana Beatriz.

AGRADECIMIENTO A:

DIOS PADRE que siempre me ha guiado en mi camino, en todo momento de mi vida
¡Gracias por estar conmigo!

MI MADRECITA VIRGEN MARIA porque en ella siempre he encontrado un consuelo en
todo momento, y por llenar mi vida con su amor.

MIS PADRES Guillermo Cañas y Zoila Paz por su entrega, sacrificio y estar siempre
conmigo en todo momento. Gracias Dios por regalármelos.

MIS HERMANOS Guillermo, Tania, Maricela y Mónica por todo su cariño, comprensión
y apoyo

TIA TIVE por todo el cariño que me ha brindado en todo momento de mi vida

MI CUÑADO Chamba por toda su colaboración y apoyo. Gracias

MI PEQUEÑO SOBRINO Eduardo Salvador porque con su llegada nos ha hecho feliz a
todos.

TODOS MIS AMIGOS que me han brindado todo su cariño incondicional Misthi, Bea,
Gerardo, Kenia y Rhina. Gracias Dios por regalarme amigos que me demuestran su
amistad.

MI COMUNIDAD por enseñarme y permitirme crecer en la fe; por darme todo el apoyo y por cada una de sus oraciones

LICENCIADA DE SALGADO Y PATY ESCOBAR por el interés, confianza y preocupación durante toda la carrera, haciendo más fácil el camino. Muchas Gracias.

Aura María

DEDICATORIA:

A DIOS TODOPODEROSO Y A LA VIRGEN SANTÍSIMA: por darme la fuerza espiritual, cuidarme e iluminarme para salir adelante.

A MIS PADRES: Manuel Adrián Ramírez y María Guadalupe Avendaño de Ramírez por brindarme su apoyo, amor y cariño incondicionalmente en todas las etapas de mi vida a quienes les dedico especialmente este triunfo obtenido ¡¡¡El triunfo es de ustedes!!! Gracias.

AMI ESPOSA: Ana Beatriz por ser la persona que amo. Gracias por todo tu amor, cariño, apoyo, paciencia, por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas; el esfuerzo es de ambos y seguiremos adelante siempre.

AMIS HIJOS: Rafael Antonio, Alejandra María y Adriana Beatriz por ser la alegría más grande de mi vida y el motivo de salir adelante a pesar de las adversidades que se presentan en mi vida.

A MIS QUERIDOS SUEGROS: por su apoyo incondicional, sus sabios consejos, su amor y cariño. Gracias.

A MIS HERMANOS: Manuel Adrián, María Guadalupe y Atilio José Armando por ser parte importante de mi vida.

A MIS ABUELITAS: Mamá Tina, Abuelita Esther y Abuelita Blanqui por amarme siempre y desearme lo mejor para mi.

A TODA MI FAMILIA: Barrera Cornejo, Abarca Ochoa, Avendaño Ramírez, Ramírez Alfaro por brindarme su apoyo y cariño. Gracias.

A MIS CUÑADOS: que de una u otra forma me dieron su apoyo. Gracias

A MI COMPAÑERA Y AMIGA: Aura María con mucho cariño, porque juntos superamos todos los obstáculos hasta alcanzar nuestras metas.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES a las familias Cañas Custodio y Escalante Cañas por su colaboración, dedicación y su tiempo brindado. Gracias

Jesús Gerardo

DEDICATORIA:

A DIOS TODOPODEROSO Y A LA VIRGEN SANTÍSIMA: por guiarme por el buen camino, cuidarme e iluminarme a lo largo de la vida.

A MIS PADRES: Miguel Alvaro Valle y Ana Luz Peña de Valle, por brindarme su apoyo, amor, cariño y por el esfuerzo y sacrificio que realizaron para poder terminar mi carrera. ¡¡¡El triunfo es de ustedes!!! Gracias.

AMI ESPOSO: Jesús Gerardo por ser la persona que amo. Gracias por todo tu amor, cariño, apoyo, paciencia, por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas; el esfuerzo es de ambos y seguiremos adelante siempre.

AMIS HIJAS: Alejandra María y Adriana Beatriz por ser la alegría más grande de mi vida; porque son el aliento para la realización de mis metas. Las quiero mucho.

A MIS QUERIDOS SUEGROS: por su apoyo incondicional, sus sabios consejos, su amor y cariño. Gracias.

A MIS HERMANOS: por su apoyo brindado y por ser parte importante de mi vida.

A TIA GLORIA: por brindarme su apoyo y dedicación en el transcurso de la carrera.

A MIS ABUELITAS: Ella y Elena por pensar siempre en mi y desearme todo lo mejor.
Gracias

A MIS CUÑADOS: que de una u otra forma me dieron su apoyo. Gracias

A MI COMPAÑERA Y AMIGA: Aura María con mucho cariño, porque juntas superamos todos los obstáculos hasta alcanzar nuestras metas.

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES a las familias Cañas Custodio y Escalante Cañas por su colaboración, dedicación y su tiempo brindado. Gracias

Ana Beatriz.

INDICE GENERAL

	Pág.
Resumen	vii
Introducción.....	ix
Capítulo I: Marco Teórico	1
1.1 Monografía de Especies Vegetales.....	2
1.1.1 <u>Aloe vera</u> (sábila)	2
1.1.2 <u>Anacardium occidentale</u> (marañón)	6
1.1.3 <u>Carica papaya</u> (papayo)	11
1.1.4 <u>Cassia fístula</u> (caña fístula)	15
1.1.5 <u>Cinnamomun zeylanicum</u> (canela)	18
1.1.6 <u>Spondias purpúrea</u> (jocote)	21
1.2 Bioensayo.....	24
1.2.1 Concepto y clasificación.....	24
1.2.2 Generalidades de la <u>Artemia salina</u>	24
1.2.3 Ciclo de vida de la <u>Artemia salina</u>	27
1.2.3.1 Cistos.....	27
1.2.3.2 Nauplios.....	27
1.2.3.3 Juveniles.....	27
1.2.3.4 Adultos.....	27
1.2.4 Condiciones óptimas del medio de cultivo de la <u>Artemia salina</u>	28
1.2.4.1 Salinidad.....	28

1.2.4.2 Temperatura	28
1.2.4.3 pH.....	28
1.2.4.4 Oxígeno Disuelto.....	28
1.2.5 Citotoxicidad.....	29
1.3 Generalidades de Metabolitos Secundarios de las plantas.....	30
1.3.1 Alcaloides.....	30
1.3.2 Glicosidos Cardiotónicos.....	31
1.3.3 Glicosidos Saponínicos.....	32
1.3.4 Flavonoides.....	32
1.3.5 Sesquiterpenlactonas.....	33
1.3.6 Glicósidos Antraquinónicos.....	34
1.3.7 Taninos.....	34
Capítulo II: Parte experimental	37
2.1 Recursos materiales.....	38
2.2 Animal de experimentación.....	39
2.3 Componente del medio de cultivo de <u>Artemia salina</u>	39
2.4 Metodología.....	39
2.4.1 Recolección y preparación de material vegetal.....	39
2.4.2 Obtención de extractos crudos.....	41
2.4.3 Análisis fitoquímico preliminar.....	41
2.4.4 Bioensayo con <u>Artemia salina</u>	49

2.4.4.1 Preparación del medio de cultivo (agua del mar)	49
2.4.4.2 Preparación de los nauplios.....	49
2.4.4.3 Preparación de las muestras.....	50
2.4.4.4 Preparación del blanco.....	51
2.4.4.5 Preparación de la solución patrón.....	51
2.4.4.6 Bioensayo.....	51
2.4.4.7 Lectura de los resultados.....	55
2.4.4.8 Cálculos de la concentración media (LC ₅₀)	55
2.4.4.9 Programa de cálculo PROBIT para computadora.....	56
Capítulo III: Resultados y análisis de resultados	57
Capítulo IV: Conclusiones	76
Capítulo V: Recomendaciones	78
Bibliografía.....	80
Anexos	

INDICE DE FIGURAS

Figura	Pág
1: <u>Aloe vera</u>	2
2: <u>Anacardium occidentale</u>	6
3: <u>Carica papaya</u>	11
4: <u>Cassia fistula</u>	15
5: <u>Cinnamomum zeylanicum</u>	18
6: <u>Spondias purpúrea</u>	21
7: Ciclo de Vida de la <u>Artemia salina</u>	28
8: Diagrama de Microplatos utilizado en el bioensayo con <u>Artemia salina</u> ...	52
9: Diagrama de Diluciones Geométricas desde 1000 μ g/mL hasta 7.81 μ g/mL	53
10:Diagrama de Diluciones Geométricas desde 100 μ g/mL hasta 0.781 μ g/mL	54
11:Diagrama de Diluciones Geométricas desde 10 μ g/mL hasta 0.0781 μ g/mL	54

INDICE DE ESQUEMAS

Esquema	Pág
1: Ensayos para determinar Alcaloides.....	42
2: Ensayos para determinar Antraquinonas.....	43
3: Ensayos para determinar Glicósidos Saponínicos.....	44
4: Ensayos para determinar Glicósidos Cardiotónicos.....	45
5: Ensayos para determinar Glicósidos Flavonoides.....	46
6: Ensayos para determinar Sesquiterpenlactonas.....	47
7: Ensayos para determinar Taninos.....	48

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág
1: Especies vegetales en estudio.....	40
2: Resultado de pruebas Fitoquímicas Preliminares para Saponinas y Flavonoides.....	58
3: Resultado de pruebas Fitoquímicas Preliminares para Glicósidos Cardiotónicos y Antraquinonas.....	59
4: Resultado de pruebas Fitoquímicas Preliminares para Taninos.....	60
5: Resultado de pruebas Fitoquímicas Preliminares de Sesquiterpnlactonas y Alcaloides.....	61
6: Resumen de pruebas Fitoquímicas	62
7: Porcentaje de pruebas Fitoquímicas obtenidas experimentalmente.....	63

INDICE DE TABLAS

Tabla	Pág
1: Porcentaje de mortalidad promedio de <u>Artemia salina</u> utilizando extractos de 6 especies vegetales a diferentes concentraciones.....	65
2: Porcentaje de mortalidad promedio de Artemia salina utilizando extractos de 6 especies vegetales a diferentes concentraciones.....	66
3: Porcentaje de mortalidad promedio de Artemia salina utilizando extractos de 6 especies vegetales a diferentes concentraciones.....	67
4: Porcentaje de mortalidad promedio de Artemia salina utilizando extractos de 6 especies vegetales a diferentes concentraciones.....	68
5: Porcentaje de mortalidad de la Artemia salina causado por Muntigia calabura.....	70
6: Porcentaje de mortalidad de la Artemia salina causado por Ipomoeba batata.....	71
7 Porcentaje de mortalidad de la Artemia salina causado por Simarouba glauca.....	72
8: Porcentaje de mortalidad de la Artemia salina causado por Spondia purpúrea.....	73

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica	Pág
1: Gráfica de línea que representa el porcentaje de mortalidad de <u>Artemia salina</u> utilizando <u>Muntigia calabura</u> basado en la tabla 5.....	70
2: Gráfica de línea que representa el porcentaje de mortalidad de Artemia salina utilizando Ipomoea batata basado en la tabla 6.....	71
3: Gráfica de línea que representa el porcentaje de mortalidad de Artemia salina utilizando Simarouba glauca basado en la tabla 7.	72
4: Gráfica de línea que representa el porcentaje de mortalidad de Artemia salina utilizando Spondia purpúrea basado en la tabla 8.....	73

INDICE DE ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
cm	Centímetro
DL₅₀	Dosis Letal Media
g	Gramos
g/día	Gramos por día
g/Kg	Gramos por Kilogramo
g/L	Gramos por litro
HCl	Ácido Clorhídrico
H₂SO₄	Ácido Sulfúrico
KOH	Hidróxido de Potasio
L	Litros
LC₅₀	Concentración Letal Media
mts	Metros
mL	Mililitros
mm	Milímetros
msnm	Metros sobre el nivel del mar
Fig	Figura
hrs	Horas
CIM	Concentración intramuscular
Pág	Página
1N	Uno normal
ppm	partes por millón
S	Siglo
ADN	Ácido Desoxirribonucléico
μL	Microlitro
Sln	Solución

RESUMEN

Con el fin de determinar la bioactividad citotóxica de extractos de veinticinco especies vegetales que son utilizados popularmente en el país, se ha realizado un bioensayo con Artemia salina utilizando el “Método de los Micropozos”.

Para la determinación de la bioactividad citotóxica, se realizó una Investigación Bibliográfica para obtener información necesaria de las especies vegetales en estudio así como la monografía de seis especies: Aloe vera (sábila), Anacardium occidentale (marañón), Carica papaya (papaya), Acacia fístula (caña fístula), Cinnamomum zeylanicum (canela) y Spondias purpúrea (jocote).

Además de la Investigación Bibliográfica se desarrolló una Investigación de Campo que permitiera la comprobación de información recopilada. Para esta investigación se recolectaron las especies vegetales y se hicieron análisis de laboratorio.

Los análisis de laboratorio consistieron básicamente en dos:

- a) **Análisis Fitoquímico Preliminar** que por medio de extractos etanólicos, permite identificar la presencia de los diferentes metabolitos extraídos de las especies vegetales en estudio.
- b) **Bioensayo** se basa en exponer los nauplios de Artemia salina a diferentes concentraciones de extractos vegetales. Una vez expuesta la Artemia salina a cada uno de los extractos vegetales en estudio, se cuantifica en cada una de las concentraciones el número de nauplios muertos y vivos, definiendo así la toxicidad de las plantas.

Los resultados se incorporan a un programa de computadora o pruebas de Finney que mediante una fórmula de regresión lineal simple determina los valores de la concentración letal 50 (LC₅₀); si los valores son menores de 1000 ppm la especie

vegetal analizada se considera teóricamente con actividad tóxica. Por ejemplo, los resultados obtenidos con los extractos de Ipomoea batata (camote) Muntigia calabura (capulín) y Simarouba glauca (aceituno) presentaron LC_{50} de 6426.66, 1701.13 y 7571.39 respectivamente; por lo tanto no son citotóxicos sobre la Artemia salina. De igual forma se analizaron el resto de extractos vegetales.



INTRODUCCIÓN

En El Salvador existen diversos tipos de especies vegetales que han servido como alternativa medicinal para aliviar y sanar diferentes tipos de enfermedades. Sin embargo se desconoce si al ser suministrados causan algún daño al organismo. Es por ello que se realizó una investigación que determina la citotoxicidad de extractos de especies vegetales a diferentes concentraciones, con sus correspondientes ensayos fitoquímicos; dicha investigación forma parte de un macroproyecto cuyo nombre es “Determinación de la bioactividad mediante bioensayos simples” dicha información será proporcionada por una serie de bioensayos entre los cuales se encuentra el de Artemia salina.

El estudio usando Nauplios de Artemia salina como las demás pruebas realizadas son de suma importancia, ya que muestran resultados que sirven de pauta sobre la toxicidad o no de los extractos de las 25 plantas en las células humanas, lo anterior se evalúa por la reconocida similitud en el comportamiento de la Artemia salina con las células del ser humano, además por su fácil reproducción y manejo.

Este crustáceo presenta cuatro estadios en su ciclo de su vida como son: cistos, nauplios, juveniles y adultos, lo que facilita su manejo, y puede permanecer en estado latente de cistos secos. Evidentemente este estudio es importante realizarlo ya que sin importar si las plantas son seguras o no, las personas las están empleando para diversos tipos de síntomas o enfermedades.

Este estudio abarca monografías de seis especies vegetales: Aloe vera (sábila), Anacardium occidentale (marañón), Carica papaya (papayo), Cinnamomun zeylanicum (canela), Cassia fístula (caña fístula), Spondias purpúrea (jocote) seleccionadas según su uso popular.

Para determinar la toxicidad o no de las especies vegetales en estudio se recolectaron muestras y se les realizó pruebas de laboratorio consistentes en Análisis Fitoquímico y Bioensayos.

De igual forma se incluyen los procedimientos desarrollados en la investigación de metabolitos secundarios mediante el ensayo fitoquímico preliminar de los veinticinco extracos; los resultados obtenidos durante todo el proceso y la conclusión sobre la toxicidad de cada una de las especies vegetales analizadas.

CAPITULO I
MARCO TEÓRICO

1. MARCO TEÓRICO

1.1 MONOGRAFÍAS DE ESPECIES VEGETALES

1.1.1 Aloe vera

FAMILIA

Liliáceas

NOMBRES COMUNES.

sábila, zábila, acíbar y spicata.



Fig. 1 Aloe vera

HABITAT Y DISTRIBUCIÓN

Planta nativa de la región mediterránea, particularmente del norte de África o la parte alta del Nilo, se cultiva a grandes alturas de 400 a 2500 msnm. Introducida en América donde es cultivada abundantemente en la cuenca del caribe. En El Salvador es cultivada en la zona oriental y en la zona norte del país.¹

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Planta acaule, produce grandes estolones. Hojas finamente lanceoladas, 30-60 cm de longitud, turgente, verde claro, márgenes con dientes espinosos separados; escapo robusto, hasta un metro de largo, contiene algunas escalas distantes. Racimos florales 10-30 cm de largo densos, bracteadas lanceoladas u ovaladas, mas largos que los pedicelos. Flores amarillas, 2.5 cm de largo.¹

HISTORIA

La planta era ampliamente conocida por egipcios, asirios y chinos. Los griegos hacia el siglo IV A.C. extraían su jugo que al procesarse llamaban acíbar, se dice que Alejandro Magno envió colonos griegos a sus colonias insulares solo para preservar y cultivar la planta. Dioscorides describe el uso de la planta y de los acíbares como purgante para curar heridas, infecciones de la boca y diversas llagas, en Inglaterra era conocida desde el siglo X.⁽¹⁾

COMPOSICIÓN QUÍMICA

Estudios realizados en laboratorios y universidades encontraron que el líquido que segregan las hojas al ser cortadas, puestas al fuego para que se evapore nos da un residuo llamado “aloe” o acíbar que es donde se encuentra la “aloína”, responsable de las acciones curativas de la planta.¹⁴

La hoja contiene glicósidos antroquinónicos (aloína, isobarbaloina o aloe-emodina). La pulpa (96-99%) contiene varios carbohidratos en composición y concentración muy variable (arabinosa, galactosa, glucosa, y xilosa), así como enzimas (amilasa); resinas (resinotanoles con ácido p- hidroxicinnamico), saponinas, ácidos aloético, crisamínico crisofánico, galacturónico y urónico, homonataloina, aloesina, aloesona. Al hidrolizarse la barboloina produce aloe-emodina y D-arabinosa.

El jugo liofilizado contiene calcio (4.7%), sodio (1.4%), potasio(6.6%), cloruro (1.2%). El extracto acuoso acetónico de hojas contiene 20 aminoácidos comunes (ácido aspártico y glutámico, arginina, serina histidina), así como lupeol, colesterol, camposterol y B-sitosterol¹.

FARMACOLOGÍA

Estudios antibacterianos demuestran que el extracto acuoso liofilizado tiene actividad contra bacterias (*Corynebacterium*, *Salmonella*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*), aunque en estudios clínicos no se demostró este efecto en *Escherichra coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, así como tampoco en compuestos aislados (aloe-emodina, ácido crisofánico).

El extracto de las hojas tiene actividad contra *Mycobacterium tuberculosis*.

Estudios farmacológicos en ratas a las que se produjo quemaduras por radiación demuestran que el 64% de las tratadas con la gelatina tienen una mejoría en la tasa de curación 9.5 veces mayor que el grupo control, estudios posteriores no lograron demostrar este efecto. En un grupo de pacientes con úlceras péptica tratado con una emulsión de la planta se demostró una notable mejoría; el efecto se atribuye a la conservación de la pepsina, inhibición del ácido clorhídrico secretado y en general el efecto destoxicante.¹

USOS MEDICINALES TRADICIONALES

Sus hojas carnosas y gelatinosas son utilizadas por nuestra gente para los riñones, el hígado, la erisipela, úlceras en la piel, quemaduras, inflamaciones, caída de pelo y como purgante en el estreñimiento y además para tratar casos de alergia en la piel, barros y espinillas.¹³

ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Se le atribuye propiedades como purgante, para curar heridas. El principio activo responsable de las acciones curativas de la planta es la “aloína”.⁶

INDICACIONES TERAPEUTICAS

Como tónico, estomáquico, digestivo, colagogo y laxante, su uso oral está indicado en el tratamiento de dispepsia y estreñimiento. Se recomienda administrar una vez al día en ayunas durante un máximo de 15 días en dosis de 0.02-0.06g del polvo, 0.1-0.2g del extracto ó 1-3 mL de tintura 1:10 en etanol al 35%.

Como laxante está indicada una dosis de 0.1g/día y como purgante drástico 0.2-0.5 g/día, administrando una sola toma en la noche, tiene la ventaja de no perder su eficacia con el uso continuado, es particularmente útil para corregir el estreñimiento en la medicación con hierro.

Como emoliente está indicado en el tratamiento tópico de heridas, quemaduras, raspones y úlceras. Se recomienda aplicar en crema, pomada, ungüentos y otras formas de cosmética indicada.¹

TOXICOLOGÍA

Si bien es bastante inocuo, está contraindicado en el embarazo, menstruación, hemorroides, prostatitis y cistitis; en dosis elevadas (DL50 8g/Kg.) es tóxico, actúa como purgante drástico que produce cólicos, diarreas, hipotermias y debilidad general; los datos de su posible acción oxitócica y abortiva son contradictorias en modelos de ratas y cobayo. Los extractos acuoso y etanólico del jugo no son mutagénicos a Estaphylococcus typhimurium. De acuerdo con la literatura disponible no es tóxico a humanos o animales experimentales, aunque su uso prolongado en grandes dosis (Mayor de 1g/día) puede producir diarrea hemorrágica; la aloína puede ser irritante a la piel en altas concentraciones.¹

FAMILIA
Anacardiáceas
NOMBRE COMUN
Marañón

1.1.2 Anacardium occidentale.



Fig. 2 Anacardium occidentale.

HABITAT Y DISTRIBUCIÓN

Anacardium occidentale está presente en los trópicos, siendo naturalizado en muchos lugares, probablemente desde Costa Rica a Brasil y Ecuador. En América Central, esta especie es comúnmente conocida como marañón o jocote marañón.¹

Esta especie se desarrolla en climas y suelos drenantes, soportando algo de sal en mismos.

Es la planta que resiste muy bien la proximidad del mar.³²

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Árbol frutal, de mediano porte, flores irregulares, polígamas de receptáculo cóncavo, corola de 5 imbricados, ligeramente rosados, cáliz de 5 sépalos caducos, de 8-10 estambres dispuestos en dos verticilios, anteras fértiles. Hojas oblongas, muy obtusas y de regular largo, algo coriáceas, de un verde claro en su haz inferior, verde más oscuro en el superior,

alternas, en el principio en la extremidad de las ramas las hojas son rojizas. El fruto es un aquenio reniforme, de corteza dura plumiza, está sostenido por un receptáculo carnosos, periforme, jugoso y azucarado.¹

HISTORIA

El árbol es nativo del sureste de Asia y hoy se encuentra cultivado en los trópicos y subtropicos. En El Salvador está distribuido en la zona occidental del país.¹³

COMPOSICIÓN QUÍMICA

Las hojas contienen flavonoides y antocianinas, taninos, esteroides y triterpenos, glicósidos saponínicos; la corteza contiene flavonoides y antocianinas, taninos, esteroides y triterpenos; la raíz contiene lo mismo que la corteza.

El aceite contiene sustancias que causan dermatitis, tales como pentadecilfenol. La fruta verdadera contiene un aceite cáustico, el cardol y ácido anacárdico. Estos también son capaces de causar dermatitis. Se ha reportado la presencia de los siguientes compuestos en diferentes partes del árbol: acetofenona (-) – epiafzelequina, agathisflavona, a-amirina, anacardol, apigenina, alcohol araquidílico, ácido-p-hidroxibenzoico, cardonal, (-)-epicatequina, cicloartenol, n-eicosano, ácido gentisítico, leucocianidina, limoneno, kaempferol, naringenina, ácido procatéquico, Glicósidos de quercetina, derivados de resorcinol, robustaflavona, B-sitosterol, a-selineno, y vitamina C.¹

FARMACOLOGÍA

Se han reportado las siguientes actividades en las diferentes partes del árbol de Anacardium occidentale: actividad antifilarial (LC₅₀=25.0 ppm) antihipertensiva, antiinflamatoria, hipoglicémica, antimicrobiana en el aceite esencial y actividad

antitumoral, analgésica, antimicótica, , ictiotóxica y moluscicida en las hojas. Costa & Cavalcanti (1958), llevaron a cabo un estudio comparativo del efecto de la decocción y su filtrado de la parte interna de la corteza (fibra) de Anacardium occidentale sobre ratas adrenalectomizadas y ratas normales para comprobar el efecto hipoglucémico.

De la corteza de esta misma especie, macerada a 0-5 °C en ausencia de luz, se obtuvo un extracto con propiedades antihipertensivas.¹

Los extractos acuosos y etanólicos de la planta completa no son susceptibles contra las bacterias Escherichia coli y Staphylococcus áureas.¹³

USOS MEDICINALES TRADICIONALES .

En Cuba, la resina se usa para el tratamiento de resfriados. En Costa Rica, el jugo de la fruta se ha empleado en hemorragias nasales. El pericarpio del fruto verdadero o nuez contiene una sustancia negra corrosiva, que se usa para quemar verrugas. El cardol, uno de los principios activos del marañón, se usa internamente, en pequeñas cantidades y diluido, como vermífugo y en uso externo contra la lepra; también se emplea para cauterizar úlceras y verrugas.

En Panamá, se usa para la hipertensión, diarreas, afecciones en la garganta, en inflamaciones de las extremidades, y la diabetes. Además tiene uso como diurético. Para el alivio de la hipertensión y la diarrea se prepara una infusión con una taza de agua y 2 a 3 hojas de Anacardium occidentale 3 veces al día por vía oral. Para la garganta se come el fruto en ayunas. El refresco preparado del hipocarpio se usa como diurético. En la provincia de los Santos se usa el té de la corteza interior, para la diabetes. El hipocarpio se emplea para preparar dulces y jaleas.

En Colombia las semillas sin tostar, se utilizan en el tratamiento de la impotencia y como afrodisíaco. Los frutos son utilizados como expectorantes, antigripales y laxantes. El jugo se usa contra verrugas, lupus y el acné. Las hojas se emplean para tratar el escorbuto y las úlceras. La corteza de árbol como antidiabético y las flores como astringentes.

Los frutos son empleados como laxantes, expectorantes, anticatarrales y antigripales; y especialmente como expectorantes y béquicos en forma de jarabe. En los llanos Orientales de Colombia, donde comúnmente se le conoce con los nombres vulgares de merey y cujil, el zumo del pedúnculo verde se usa aplicado sobre las verrugas para erradicarlas. Este zumo ha sido empleado también contra el lupus, el acné y otras enfermedades de la piel; aplicado en una extensión regular es peligroso, ya que sobrevienen úlceras muy dolorosas y hasta gangrenas.

La decocción de las hojas a una dosis mínima, son embriagantes, son bastante eficaces para el tratamiento del escorbuto en las aftas y ulceraciones de la boca, la nuez tostada es un alimento rico en proteínas y grasas. La corteza, rica en tanino, se usa para el curtido de pieles; también se utiliza en té como remedio contra la diarrea, hinchazón de las articulaciones producida por la sífilis y contra la diabetes.¹

Administrado por vía oral se usa para combatir la tos rebelde, mal de orín y se como antidiabético, antidiarreico, astringente y vesicante.¹³

ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Según Swarnalakshmi (1981), la actividad antiinflamatoria de la (-) – epicatequina, aislada de Anarcadium occidentale fue estudiada en comparación con la fenilbutazona. La (-) – epicatequina, redujo significativamente el edema de las plantas de las ratas, inducido por la carragenina (74mg/Kg) de LD50 intraperitonealmente. Este compuesto, produjo también una significativa inhibición de la acumulación del fluido de la bolsa y la formación del tejido de granulación en el granuloma inducido por la carragenina, lo cual puede ser atribuido al decremento en la formación del tejido de granulación.

La (-) -epicatequina, fue también efectiva contra el granuloma en formas de bolas de algodón e indujo artritis crónica en ratas.

En 1991 se evaluó la actividad hipoglicémica de la corteza y se concluyó que con el extracto acuoso como en el extracto etanólico, suministrados en dosis únicas, a ratas normoglicémicas e hiperglicémicas (tratado con aloxano), no se observó descenso significativo en los niveles de glucosa en sangre.⁶

INDICACIONES TERAPEUTICAS

La decocción de la cáscara de la corteza del tallo, se toma una taza como agua de tiempo que se emplea contra la tos y tres tazas al día para el mal de orín.¹

TOXICOLOGÍA

Los extractos acuosos y etanólicos de la planta completa fueron poco tóxicos o inocuos para los peces del genero Poecilla.¹³

1.1.3. Carica papaya

<p>FAMILIA</p> <p>Caricáceas</p> <p>NOMBRE COMUN</p> <p>papaya</p>
--



Fig. 3 Carica papaya

HABITAT Y DISTRIBUCIÓN

Nativa de laderas bajas de los Andes orientales, la cuenca Amazónica y de Centro América en clima tropical húmedo en las alturas hasta 1,500 msnm.¹ En El Salvador está distribuida por casi toda la zona occidental.¹³

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Planta frutal perennifolia, dioica, 3-10 m de alto; tronco desnudo, hasta 30 cm de diámetro, grandes cicatrices foliares; látex fluido y lechoso; sistemas radical radial, hojas alternas y simples, sin estipulas, lámina palmatilobada, hasta 70 cm de diámetro, 7-13 lóbulos, verde pálidas. Inflorescencia masculina axilar, compuestas de racimos intermedios, multiramificados; flores masculinas suavemente perfumadas, cáliz pequeño, corola blanca, pistilo amarillo. Fruto variable, esférico a ovoide, 10-40 cm de diámetro, piel amarilla, savia lechosa, pulpa amarilla o anaranjada, dulce o insípida; cavidad central con numerosas semillas negras, casi globulares.¹

HISTORIA

Planta frutal nativa del trópico americano, donde era cultivada desde tiempos precolombinos; los antiguos indígenas solían envolver las carnes duras de animales de caza con las hojas del papayo, los que la suavizaba o bien cocían la carne con el fruto tierno con el mismo propósito. Los españoles le presentaron a los Reyes de España en 1535, la introdujeron en la República Dominicana en 1525 y a las Filipinas en 1550, de allí a la India, convirtiéndose en un cultivo tropical que incluso se ha naturalizado en varias regiones del planeta.⁶

COMPOSICIÓN QUÍMICA

La planta (en mayor concentración en el fruto) contiene una sustancia de naturaleza enzimática, denominada papaína. Además contiene fosfolípidos y aminoácidos libres. La hoja madura lleva también papaína y además un alcaloide denominado carpaína el cual es termolabil. Además contiene las sustancias pectina y papaína.¹

Las hojas contienen alcaloides, taninos. Las semillas contienen glicósidos (caricina, carpasemina, sinigrina), una enzima (mirosina), troapolina y 25% de un aceite con un bajo valor de yodo. La corteza contiene un pentalcohol (Xilitol) y saponosidos.¹³

FARMACOLOGÍA

Se le atribuye propiedad digestiva debido a la papaína que es el principal componente. Estudios farmacológicos demuestran que el extracto metanólico no tiene actividad antiinflamatoria en el edema de la oreja del ratón inducido por acetato de tetradecanoilforbol, el fruto tiene actividad hipoglicémica.

El extracto acetónico del látex pulverizado contiene un factor que acelera la coagulación sanguínea y otra que la previene.⁶

USOS MEDICINALES TRADICIONALES

El jugo o jarabe del fruto se usa por vía oral contra afecciones digestivas (constipado, diarrea, disentería, dispepsia, enteritis, parásitos intestinales) y respiratorias (asma, catarro, difteria, tos, tuberculosis), enfermedades venéreas, fiebre, hipertensión, oliguria y reumatismo. Las semillas secas molidas y el látex se usan como purgante contra parásitos intestinales, amebas. Las hojas en infusión o decocción se usan para afecciones cardíacas, digestivas (gastritis), respiratorias, hepáticas y malaria. El cocimiento de cogollos se usan para sacar las lombrices y el tratamiento del paludismo y la dispepsia. La maceración o infusión de raíz se usa para expulsar parásitos (áscaris), uretritis, sífilis y contener hemorragias. El jarabe de flores se usa para tratar ictericia, bronquitis y otras afecciones respiratorias. El látex por vía oral se usa para tratar esplenomegalia y parásitos intestinales (oxiuros, tricocéfalos, tenias), se usa tópicamente para matar niguas y tratar diversas infecciones dérmicas (eczema, erisipela, heridas, pecas, psoriasis, raspones, tineas, verrugas) induraciones, cáncer, y tumores; los sinapismos de la raíz ayudan a tratar los tumores del útero. ¹

INDICACIONES TERAPEUTICAS

Por su actividad digestiva y vermícida, el consumo del fruto o jugo y el polvo de semillas están indicados para el tratamiento de estreñimiento, parasitismo intestinal y diversa afecciones gastrointestinales. Pueden prepararse elixires, jarabes otras preparaciones con el mismo fin. El látex crudo o la papaína están recomendados para el tratamiento de estreñimiento y parásitos intestinales.

Tópicamente esta indicado el uso del fruto en el tratamiento de abscesos. ¹

TOXICOLOGÍA

Los extractos acuosos y etanólicos de hojas y cortezas (500ppm) son tóxicos a peces de género *Mollinesia*.¹³

El fruto verde y el exceso de semillas pueden ser abortivos; la raíz en enema se usa como abortivo; el látex fresco es irritante y vesicante sobre toda la mucosa ocular, pueda causar dermatitis y otras formas de alergia, el polen puede causar severas alergias respiratorias.

Por vía interna puede causar severa gastritis. El extracto acuoso de raíz (10mg/Kg.) administrado durante 14 días a ratones no presenta toxicidad aguda; la DL_{50} del extracto de semilla es mayor 10 mL/Kg en ratón. La papaína puede inducir enfisema y rinitis existen referencias que informan sobre su actividad teratogénica y embriotóxica en ratas, situación que deberá ser confirmada; DL_{50} es de 79 mg/Kg por vía intravenosa en ratón, 12mg/mL en rata, 15 mg/Kg en conejo y 16.7 mg/Kg en perro; la carpaína puede provocar parálisis temblores y depresión cardíaca.¹

1.1.4. Cassia fistula

FAMILIA

Caesalpiniaceae

NOMBRE COMUN

Caña fístula



Fig. 4 Cassia fístula

HABITAT Y DISTRIBUCIÓN

Nativo del sur de Asia tropical y Egipto, introducido en muchas áreas tropicales y subtropicales del mundo desde 400-1600 msnm; cultivado como rompevientos, como sombras de café o cacao y por sus frutos. En El Salvador se encuentra en la zona central del país.¹

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Árbol glabro, hasta 20 metros, ramas abiertas; estipuladas. Hojas grandes, pecíolo largo, foliolos 4-8 pares, gruesos, firmes, ovado o oblongo, 7-20 centímetros de largo. Racimos florados laxos, muchas flores 25-75 centímetros de largo pedicelos delgados, 1-5 centímetros de largo; sépalos ovales u oblongos, pulverulentos, 6-10 mm de largo; pétalos amarillos, 2-3 centímetros de largo. Legumbre cilíndrica, café oscuro o negruzca, hasta 50 centímetros de largo, indehiscente, pulpa olorosa y semillas horizontales.¹³

HISTORIA

Cultivada desde la antigüedad con fines medicinales, es citada por los grandes médicos de la antigüedad como Masarsjawi, Avisema y Abul Jalt; es citada en los antidotarios del siglo IX.

Los españoles la introdujeron a América, durante los primeros siglos de la colonia.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

La pulpa del fruto contiene Glicósidos Antraquinónicos y trazas de aceite volátil; la pulpa y las hojas contienen flavonoides, antraquinonas, alcaloides y taninos. Las flores contienen resina, fistulina. La madera no contiene glicósidos (barbaliona) y taninos. La corteza contiene taninos y hexacosanol. La raíz contiene taninos, flavofenoles y oxiantraquinonas.¹

FARMACOLOGÍA

Estudios antimicrobianos demuestran que los extractos acuoso y etanólico de las hojas, corteza y pulpa de la fruta son activos contra Staphylococcus aureus, Staphylococcus flexneri, Dysentteriae y Staphylococcus paratyphi y Escherichia coli.

Estudios farmacológicos demuestran que la infusión de las hojas no tienen actividad diurética en ratas de dosis de 1,000 mg/Kg. El polvo de semillas incorporado a la dieta produce una marcada hipoglucemia en ratas diabéticas por administración de oloxano; los conocimientos tradicionales de la India indican efectos antidiabéticos similares en humanos.¹

USOS MEDICINALES TRADICIONALES

Se usa como purgante suave, especialmente para niños, personas débiles. Además, se le usa para tratar la fiebre, la tos para purificar la sangre y para la debilidad general. Tradicionalmente se usa también para el estreñimiento y la indigestión.¹

AVTIVIDAD BIOLOGICA

El poder curativo de la caña fístula se debe básicamente a una sustancia que se llama resina (antraquinona) y ácido galáctico en la pulpa y en la hoja. Se le atribuyen propiedades como purgante, tiroidea, gastroenteritis, diarrea.

INDICACIONES TERAPEUTICAS

Por sus propiedades laxantes y catárticas está indicada por vía oral para combatir el estreñimiento en niños. La forma fitofarmacéuticas es: como infusión (10g/l), una taza antes de acostarse y otra en ayunas, la pulpa del fruto se recomienda como laxante (4-8 g/día) o purgante (20-30g/día)

Por vía tópica está indicado para el tratamiento de infecciones fúngicas de la piel en formas de cataplasma de hojas frescas o compresas de la infusión o decocción de 30-50 g/l o de la tintura 1:10 en etanol 35%.¹

TOXICOLOGÍA

Los extractos acuosos y etanólicos de la planta completa fueron poco tóxicos o inocuos para los peces del genero *Mollinesia*¹⁴.

1.1.5. Cinnamomum zeylanicum

FAMILIA

Lauraceae

NOMBRES COMUNES

Canela, canela de Ceylan, canelo.



Fig. 5 Cinnamomum zeylanicum

HABITAT Y DISTRIBUCIÓN

Nativa de Asia Tropical, cultivada en las regiones tropicales. Se cultiva en países cálidos cuyos inviernos no sean muy fríos, ya que esta planta no suele soportarlos. Es originaria de Ceilán, desde donde se exporta a los países europeos, incluida España.¹³

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Árbol que a veces alcanza 20 m. de altura. Su corteza es muy aromática y rojiza al interior, pálido por fuera, hojas grandes, opuestas, lustrosas ovaladas y lisas, flores pequeñas elipsoides, color púrpura oscuro.¹³

HISTORIA

La canela resulta del secado al sol de la corteza.

En los siglos XVI y XVII la canela es la única mercancía que los marineros pueden traer libremente de oriente.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

La corteza de la canela contiene alrededor 1-4% de aceite esencial, particularmente rico en cinamaldehído (65-90%) cariofelino, 1-linalol, 1- felandreno, p-cimeno y furfural.

Otros constituyentes evidenciados han sido; eugenol 4-10%, acetato de eugenol, alcohol cinámico y cinamilico, metil-eugenol, benzaldehido, cinalmaldehido, cinamil-acetato, taninos, azucares, cumarinas, goma, resina y dos dipertenos particulares : cinnzeilanina y cinnzeilanol¹.

FARMACOLOGÍA

Se han realizado estudios farmacológicos con el aceite esencial de la planta en sapos y conejos encontrándose que deprime el corazón y decrece la presión sanguínea de dichos animales.

Los extractos acuosos y etanólicos de corteza no tuvieron actividad inhibitoria para Escherichia coli, Staphylococcus aureus.¹

USOS MEDICINALES TRADICIONALES

Para dolores y cólicos abdominales y “sacar aires”, gripes, catarros y síntomas de éste, tales como la tos seca o tos con flema, “hervor de pecho”, fiebres asociadas o no al dolor de cabeza.

También se indica para la tosferina, dolores musculares cuando no se puede mover el miembro afectado, sensación de entumecimiento.³³

ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La corteza exhibe actividad antifúngica, antibacteriana, nematicida y anticonvulsiva. El cinemaldehído es sedante y antitérmico; el aceite esencial es antiviral, bactericida, larvicida fuertemente lipolítico, antibacteriano, antifúngico, anestésico local, citotóxico in Vitro, en modelo de leucemia L1210, estrogénico, relajante de la musculatura lisa, inhibe la síntesis de prostaglandinas; y, empleando en diluciones al 0.0125% actúa como repelente.³³

INDICACIONES TERAPEUTICAS

Calma el dolor de estómago, en especial cuando se trata de ciertas afecciones intestinales y que provocan diarrea. Hace sudar abundantemente por lo que se recomienda para bajar la fiebre y aliviar los catarros.³³

TOXICOLOGÍA

Los extractos acuosos y alcohólicos de esta parte de la planta inducen actividad mitogénica in vitro, en cultivo de tejidos de linfocitos, a la concentración de 50 µg/mL.-

El extracto acuoso de corteza al 1% (no así el extracto salino a la concentración de 0.66%) administrado por entubación gástrica en perros puede provocar irritación en la mucosa gástrica y actividad mutagénica en salmonella typhimurium, en concentración de 5-10 picolitros/placa.

1.1.6. Spondias purpúrea.

FAMILIA

Anacardiáceas

NOMBRES COMUNES

Jocote, jondura y ciruelo.



Fig. 6 Spondias purpúrea.

HABITAT Y DISTRIBUCIÓN

Nativo del sur de México hasta Panamá, aclimatado en Sur América y el Caribe en alturas hasta de 1700 msnm. En Guatemala se cultiva en Alta Verapaz, y Baja Verapaz, Chiquimula, Guatemala, El Progreso. En El Salvador se encuentran cultivos en la zona occidental del país¹³.

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Árbol de 12-15 metros de alto, ramas gruesas y esparcidas. Hojas alternas, deciduas, 10-20 centímetros de largo, compuestas; 9-25 folíolos elípticos o lanceolados, 2-9 centímetros de largo, finamente dentadas cerca del ápice, púrpura cuando jóvenes. Flores rojas o púrpuras en pequeños grupos, 1.25 centímetros de largo, cerca de las ramas cuando han caído las hojas. Frutos con pedúnculo corto, oblongos u ovoides, ápice dentado, 2-5 centímetro de

largo, rojo profundo, marrón o amarillos; cáscaras suave, gruesa, carnaza amarilla, jugosa, fibrosa, subácida. Semilla corchosa hendidura grande para el tamaño del fruto.¹

HISTORIA

Ximenez refiere que hay cerca de una veintena de variedades de este fruto del que se “alimentan pájaros y animales”. Al menos dos especies se usan indistintamente como jocote. Se dice que en cierta oportunidad y ante la escasez de alimentos, los conquistadores sobrevivieron con estos frutos; los españoles lo introdujeron en las Filipinas donde se naturalizo fácilmente.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

Las hojas son muy astringentes, por lo que deben contener cantidades considerables de taninos y polifenoles. La corteza, hojas y ramas contienen cárdenólicos, bufadienólico, taninos y polifenoles. La corteza contiene flavonoides y taninos. El fruto contiene varios aminoácidos como: lisina (316mg), metionina (178mg) y triptófano (57mg).

FARMACOLOGÍA

Estudios antimicrobianos demuestran que la tintura de hojas es activa contra bacterias patógenas (Staphylococcus aureus, Staphylococcus flexneri, Streptococcus pneumoniae) e inactiva contra Cándida Albicans, Escherichia coli y Vibrio cholerae; el mejor disolvente fue etanol y metanol, CIM 10 mg/mL para Staphylococcus flexneri y Staphylococcus pyogenes. Los extractos acuoso y etanólico son inactivos contra Escherichia coli y Staphylococcus aureus. Una pomada a base de la tintura de hojas redujo los días que tarda

en sanar un keratoconjuntivitis experimental inducida en el cobayo por Staphylococcus dysenteriae. El extracto, alcohólico es inactivo contra Entamoeba histolytica.¹

USOS MEDICINALES

Para infecciones oculares, el zumo de las hojas se usa contra aftosa. La infusión de la corteza como anticonceptivos.¹

ACTIVIDAD BIOLÓGICA

En la revisión de literatura realizada no se encontraron referencias sobre la relación entre la actividad farmacológica atribuida y la composición química.¹

INDICACIONES TERAPEUTICAS

Por su actividad antibiótica, antidiarreico y astringente esta indicado su uso para tratar diarrea, disentería y otras afecciones digestivas. Se recomienda administrar 3-4 veces al día en dosis de 2-5 g/taza en infusión o decocción, 1-3 mL de tintura 1.8 en etanol 35%.¹

TOXICOLOGÍA

Comer el fruto en grandes cantidades causa diarrea y disturbios gastrointestinales. Los extractos acuosos y alcohólicos (500ppm) no son tóxicos a peces del género Mollinesia. El extracto de hojas (12-13 mL) administrado a cobayos provoca aborto, aunque sin consecuencias en la salud de la hembra. En la revisión realizada no se encontraron referencias sobre su toxicidad.¹

1.2 BIOENSAYO

1.2.1 Concepto y Clasificación

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

Los bioensayos se clasifican en: ensayos in vitro y ensayos in vivo, atendiendo a que se empleen unidades celulares u organismos de animales respectivamente.¹⁷

Bioensayo in vitro

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

Bioensayos in vivo:

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

1.2.2 Generalidades sobre la Artemia salina

La Artemia salina es un pequeño organismo que vive en las aguas salobres e hipersalinas de todo el mundo. Es la presa viva más adecuada para la alimentación de los estadios post-

larvarios de muchas especies y crustáceos marinos. Y en su fase adulta resulta un aporte alimenticio interesante para multitud de invertebrados y peces que pueblan los acuarios.

Las ventajas que representa como alimento son:

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

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

Ventajas del Bioensayo con Artemia salina

La Artemia salina tiene varias características las cuales la hacen ideal para su uso en bioensayos, es decir, fácil manejo, por que mantiene un estado latente en forma de Cistos (huevecillos) secos los cuales pueden ser fácilmente almacenados, transportados, etc. La Artemia salina es adaptable a altos rangos de condiciones ambientales, no es selectivo en su alimentación debido a que es un animal puramente filtrador, es capaz de crecer a altas densidades (10,000 individuos por litro) tiene alta fecundidad y largo ciclo de vida.³⁴

Taxonomía de la Artemia salina

Clasificación

Phyllum: artrópoda

Clase : Crustácea

Subclase: Branquiopoda

Orden: Anostroca

Familia: Artemidae

Género: Artemia, Leach 1819

El nombre específico Artemia salina no es taxonómicamente válida en la actualidad. Experiencias de cruzamiento entre diferentes poblaciones de Artemia salina han demostrado el aislamiento reproductivo de algunos grupos poblacionales. Y esto ha llevado al reconocimiento de especies hermanas a las que se les han dado nombres diferentes. Entre las cepas bisexuales de Artemia salina (poblaciones compuestas por ejemplares machos y hembras), se han descrito hasta la fecha 6 especies hermanas:

Artemia salina : Lymington England

Artemia tunisiana: Europa

Artemia franciscana : América (Norte, Centros, Sur)

Artemia persimilis: Argentina

Artemia urmiana: Irán

Artemia mónica: California-USA

1.2.3 Ciclo de vida de la Artemia salina

La Artemia salina posee varios estadios en su ciclo de vida:

1.2.3.1 Cistos

Es un huevecillo de aproximadamente 200 a 300 micras de diámetro, puede mantenerse inactivo por algún tiempo, hasta obtener las condiciones optimas para su eclosión.

1.2.3.2 Nauplios

Inmediatamente después de la ruptura de la membrana del cisto sale el nauplio, el cual mide aproximadamente 0.4-0.5 mm y pesa aproximadamente 0.002-0.003 mg

1.2.3.3 Juveniles

Son pequeñas larvas de aproximadamente de 2 a 4mm, las cuales nadan libremente. Se les observa un tracto digestivo funcional, un abdomen alargado y muchos apéndices bien diferenciados.

1.2.3.4 Adultos

Estos son aproximadamente de 8 a 10 mm, se les observa 11 pares de theracopodos muy bien diferenciados con antenuelas sensoriales, un par de ojos laterales y tracto digestivo completo.

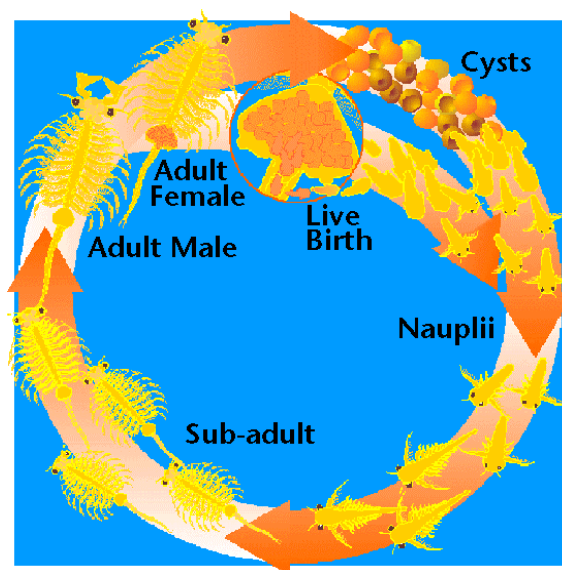


Fig 1: Ciclo de vida de la Artemia Salina

1.2.4 Condiciones Óptimas Del Medio de Cultivo de la Artemia salina

1.2.4.1 Salinidad

La salinidad óptima a mantener es de 120 a 150 partes por trillón, a esta salinidad la Artemia salina mantendrá un ciclo de vida normal y libre de depredadores³⁴.

1.2.4.2 Temperatura

La temperatura óptima en el día oscila entre los 30-35 grados centígrados y durante la noche de 23 a 28 grados centígrados³⁴.

1.2.4.3 pH

El pH del agua normal debe estar entre 7.5 a 8.9, un pH mayor o menor de este rango es letal para la Artemia. Salina³⁴.

1.2.4.4 Oxígeno Disuelto

La Artemia salina no requiere alto grado de oxígeno en el agua, su rango está entre 1.5 y 3ppm³⁴

1.2.5 Citotoxicidad

Es la capacidad que tienen ciertas sustancias de destruir o lesionar las células tisulares. Todas las sustancias con efectos tóxicos, por variados que éstas sean, son compuestos químicos complejos que provocan enfermedades, o en casos muy graves, ocasionan la muerte según la dosis ingerida³⁵.

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

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

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

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

Dentro de la investigación citotóxica que presentan los extractos de las especies vegetales en estudio sobre los nauplios de Artemia salina, se incluyen: la determinación de la concentración letal media (LC₅₀) con la finalidad de conocer la concentración que producirá un efecto tóxico en el 50% de la especie en experimentación y visualizar la

relación riesgo-beneficio que implicará el uso de estos extractos vegetales como alternativa medicinal.

Los valores de la concentración letal (LC_{50}) se considerarán activos cuando éste sea menor de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Estas especies vegetales activas presentan un efecto letal sobre el animal en experimentación indicando su gran poder citotóxico.

1.3 GENERALIDADES DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE LAS PLANTAS EN ESTUDIO

Son aquellos metabolitos que no están necesariamente relacionados con el metabolismo esencial de la célula, su producción depende de los ciclos metabólicos fundamentales de los tejidos vivos a partir de la biogénesis o rutas biogénicas: ácido shikimico, acetogeninas y ácido mevalónico, las cuales originan cada una de ellas a los diferentes metabolitos secundarios.

Como características de estos metabolitos secundarios tenemos:

- La planta no los necesita para su supervivencia
- Cada planta tiene sus propios metabolitos secundarios específicos razón por la cual también cada planta tiene usos medicinales diferentes.
- Poseen actividad biológica, fisiológica o farmacológica en el hombre y animales.
- Son de ayuda al taxónomo o farmacognosta para su calificación y quimiotaxonomía.
- Los metabolitos secundarios se reservan en diferentes órganos de la planta como ejemplos de estos tenemos: alcaloides, taninos, glicósidos, Flavonoides, Sesquiterpenlactonas, etc. ⁴

1.3.1 Alcaloides

Estos constituyen un grupo muy heterogéneo de bases vegetales nitrogenadas con acción fisiológica mas o menos intenso sobre los animales, con escasas excepciones. Hay unos cuantos alcaloides de nitrógeno amídico que son neutros, como la colchicina, ricinina y otros, las bases puricas y pirimidinicas están excluidas del grupo de alcaloides por carecer de acción fisiológica notable y por sus relaciones bioquímicas con los ácidos nucleicos¹⁶.

Aunque se han encontrado unos 50 alcaloides en órganos animales, solo 12 de estos no se han localizado en vegetales y por definición se acostumbra excluirlos del grupo. Los alcaloides aparecen en muy diversas familias de plantas, unos 256 en los hongos, algas y otros vegetales inferiores.

La mayoría de los alcaloides son sólidos incoloros, aunque algunos como la conína y la nicotina son líquidos, otros son de color amarillo como la berberina o rojos como la queliretrina, entre las reacciones que identifican a los alcaloides tenemos: Dragendorff, Mayer, Wagner⁴.

Los derivados del opio: codeína, papaverina, morfina poseen las actividades farmacológicas siguientes:

- Actúan sobre el sistema nervioso central produciendo analgesia, cambio en el estado de ánimo.
- Contraen las pupilas.
- Disminuyen la actividad secretoria y motilidad del tracto gastrointestinal.

1.3.2 Glicósidos Cardiotónicos

Los heterósidos o glicósidos cardiotónicos constituyen un grupo de sustancias que se caracterizan por su acción sobre el músculo cardiaco, aumentando su tono de excitabilidad y contractibilidad.

Son sustancias amargas derivadas de los esteroides que actúan sobre el corazón. La porción del azúcar denominada glicón o cadena glicosídica contiene de 3 a 5 moléculas de monosacáridos. Por lo general, metilpentosas y desoxiazúcares muy especiales. La glicona esteroideal, aunque tóxica, no afecta el corazón, en ella hay varios hidroxilos, uno de ellos en el carbono 14 y otro en carbono 3, usualmente en el OH del carbono 3 siempre va unida la porción de azúcar.

Reacciones coloridas: Las pruebas que señalan la presencia de una aglicona esteroideal se verifica con Lieberman- Buchard³.

1.3.3 Glicósidos Saponínicos

Se le da el nombre de saponina (de latín sapon: jabón) a un grupo de glicósidos que se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de ésta, por lo tanto, al sacudir sus soluciones, se forma una espuma abundante y relativamente estable. Por hidrólisis de la saponina se obtienen carbohidratos y una aglicona llamada genéricamente sapogenina.

Las saponinas son sustancias muy polares, y es posible extraerlas en caliente o en frío, con agua o alcoholes de bajo peso molecular, los materiales lipoides presentes en estos extractos se separan con benceno. Al concentrar la solución alcohólica se separan las saponinas y después se cristalizan en mezclas de alcohol-agua, para obtener sapogeninas, se puede hidrolizar las saponinas con sus enzimas naturales, con enzimas de origen microbiológico. Las saponinas o sapogeninas saturadas o con varios hidroxilos dan

coloraciones con varios reactivos ácidos, de los empleados con los esteroides como el de Liebermann Burchard y Salkowski³.

Poseen actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, y por poseer el anillo esteroidal pueden ser utilizadas en la obtención de cortisona y otros esteroides.

1.3.4 Flavonoides

Los Flavonoides son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado C₆-C₃-C₆ como se encuentra en la flavonona, aurona, chalcona, flavona, flavananol, etc. Se conocen unos 200 Flavonoides naturales; se encuentran extensamente distribuidos entre las plantas, tanto libres que como glicósidos; estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas.

Los Flavonoides son sintetizados por numerosos grupos de plantas y con excepción de algunas flavonas localizadas en las alas de las mariposas, probablemente por ingestión se puede decir que no se les encuentra en animales.

Los diferentes tipos de Flavonoides se pueden identificar mediante reacciones coloridas y propiedades de solubilidad; cuando no hay interferencia de pigmentos no Flavonoides, el material vegetal se puede ensayar directamente, si los pétalos blancos de una flor se ponen amarillos en presencia de vapores de amoníaco, deben contener flavonas y/o flavonoles.

Los extractos acuosos de pigmentos también muestran variaciones en color cuando se les adiciona un álcali, las flavonas y los flavonoles se ponen amarillos, las chalconas a púrpura rojizo y las anticianinas a azul.

Los extractos alcohólicos incoloros o ligeramente amarillos de un vegetal, se tratan con un trocito de magnesio y unas pocas gotas de ácido clorhídrico concentrado, observándose de inmediato un cambio de color dependiendo del flavonoide presente³.

1.3.5 Sesquiterpenlactonas

Poseen un esqueleto fundamental con 15 átomos de carbono que teóricamente deriva de la unión de tres fragmentos de isopreno (2-metilbutadieno-1,3), cabeza, cola y algunos productos de transposición; parte del esqueleto es un anillo de metilbutenolido.

Las Sesquiterpenlactonas se han encontrado principalmente en extractos de flores o partes aéreas de las compuestas, son sustancias amargas, se considera que su actividad citotóxica está relacionada con el grupo exometilenbutenolido y también que este grupo modifica el crecimiento de vegetales, entre los métodos de extracción tenemos: éter de petróleo-etanol, benceno, metanol, y cloruro de metileno, presentando reacciones de coloración para su identificación como son: reactivo de Baljet, Hidroximatos Férricos, Reactivo de Legal³.

1.3.6 Glicósidos Antraquinónicos

Estos se conocían como un grupo natural de drogas purgantes, algunos colorantes vegetales y animales, como la rubia y la cochinilla, tuvieron gran importancia económica antes de la introducción de los colorantes sintéticos.

Los derivados antraquinónicos presentes en las drogas purgantes pueden ser dihidroxifenoles, como el crisofanol, trihidroxifenoles, como la emodina; o tetrahidroxifenoles, como el ácido carmínico.

Los derivados antraquinónicos suelen ser compuestos de color rojo-anaranjado, que en ocasiones puede observarse in situ (como ocurre en los radios medulares del ruibarbo y cáscara sagrada). Por lo general son solubles en agua caliente y alcohol diluido. El ensayo de Borntrager suele emplearse para su detección⁴.

1.3.7 Taninos

El término “tanino” se empleó por primera vez en 1976 para denominar ciertas sustancias presentes en extractos vegetales, capaces de combinarse con proteínas de la piel animal, evitando su putrefacción y convirtiéndola en cuero. De acuerdo con esta definición, un tanino es una sustancia detectable cualitativamente mediante un ensayo de curtido (ensayo “goldbeater’s skin”) y se determina cualitativamente por su absorción sobre un polvo de piel estándar.

Aunque queda mucho por hacer para llegar al conocimiento completo de la química de los taninos, se suele establecer dos grandes grupos: como los taninos hidrolizables y los taninos condensados (proantocianidinas).

Taninos hidrolizables: pueden ser hidrolizados por ácidos o enzimas como la tanasa, están formados por varias moléculas de ácidos fenólicos como el gálico y el elágico, que se unen por un enlace éster a un núcleo central de glucosa. Al igual que el ácido gálico sus soluciones toman color azul con sales de hierro, estos taninos se denominan primeramente pirogálicos debido a que por destilación seca el ácido gálico y compuesto similares se convierten en pirogalol. Pueden establecerse dos tipos fundamentales de taninos hidrolizables, derivados respectivamente del ácido gálico y del elágico. Estos grupos se denominan galicanos y elagitaninos.

Taninos condensados: estos comprenden todos los taninos restantes verdaderos. Sus moléculas son más resistentes a ruptura que las de los taninos hidrolizables y parece ser intermediarios en su biosíntesis, las catequinas y los flavan-3, 4-dioles. Están por tanto relacionados con los pigmentos Flavonoides con estructura polímera flavan-3-ol. Mediante tratamiento con ácidos o enzimas pueden ser descompuestos en productos rojos o insolubles, llamados flavafenos. Estos proporcionan su color rojo característico a muchas drogas, como la corteza de quina roja, que contiene estos flovataninos y sus productos de descomposición.

Pseudotaninos: estos son compuestos de menor peso molecular que los taninos verdaderos y no dan positivo en el ensayo de la piel⁴. Los taninos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, encontrándose por lo general, en mayor cantidad en células muertas o enfermas. Ejercen un efecto inhibitor sobre muchas enzimas, debido a la precipitación de las proteínas, contribuyendo por lo tanto, a la función protectora de la corteza y leño.

Entre las pruebas de identificación de los taninos tenemos: Prueba con Solución de Acetato de Plomo, Prueba con Solución de Tricloruro de Hierro, Prueba con Solución de Gelatina y Prueba con Solución de Clorhidrato de Quinina.

CAPITULO II
PARTE EXPERIMENTAL.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 RECURSOS MATERIALES.

ESPECIES VEGETALES EN ESTUDIO

Nombre Científico	Nombre Común
<i>Achras zapota</i>	Níspero
<i>Aloe vera</i>	Sábila
<i>Anacardium occidentale</i>	Marañón
<i>Annona muricata</i>	Guanaba
<i>Bixa orellana</i>	Achiote
<i>Brassica oleracea</i>	Repollo
<i>Carica papaya</i>	Papayo
<i>Cassia fistula</i>	Caña fístula
<i>Cecropia peltata</i>	Guarumo
<i>Cinnamomun zeylanicum</i>	Canela
<i>Crescentia alata</i>	Morro
<i>Cucúrbita pepo</i>	Pipián
<i>Inga paterno</i>	Paterno
<i>Ipomoea batatas</i>	Camote
<i>Malpighia glabra</i>	Hoja del golpe
<i>Mangifera indica</i>	Mango
<i>Muntingia calabura</i>	Capulín

Nombre Científico	Nombre Común
<i>Nasturtium officinale</i>	Berro
<i>Plumeria acutifolia</i>	Flor de mayo
<i>Raphanus sativus</i>	Rábano
<i>Simarouba glauca</i>	Aceituno
<i>Spondias purpúrea</i>	Jocote
<i>Tabebuía rosea</i>	Maquilishuat
<i>Tecoma stans</i>	San Andrés
<i>Terminalia catappa</i>	Almendo

2.2 ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN.

Nauplios de Artemia salina.

2.3 COMPONENTES DEL MEDIO DE CULTIVO.

Sal de mar (Sigma Chem.Co)

Levadura comercial

Agua destilada

2.4 METODOLOGIA

2.4.1 Recolección y Preparación del Material Vegetal.

Luego de identificar botánicamente las especies vegetales en estudio, se recolecta los órganos de interés o la planta completa, cuidando que no esté dañada o afectada por insectos o plagas y que sin materiales extraños, se lava el material vegetal recolectado con

abundante agua potable, se enjuaga con agua desmineralizada y se reduce su tamaño utilizando para ello una tijera de podar.

El siguiente cuadro presenta el lugar de recolección y el órgano vegetal utilizado en cada planta:

CUADRO 1: ESPECIES VEGETALES EN ESTUDIO

No	Nombre Común	Nombre Científico	Órgano Recolectado	Lugar de Recolección
1	Níspero	<i>Achras zapota</i>	Hoja	Zacatecoluca
2	Sábila	<i>Aloe vera</i>	Hoja	San Marcos
3	Marañón	<i>Anacardium occidentale</i>	Hoja	San Salvador
4	Guanaba	<i>Annona muricata</i>	Hoja	San Salvador
5	Achiote	<i>Bixa orellana</i>	Hoja	San Vicente
6	Repollo	<i>Brassica oleracea</i>	Planta completa	San Salvador
7	Papayo	<i>Carica papaya</i>	Hoja	San Marcos
8	Caña Fístula	<i>Cassia fistula</i>	Hoja y fruto	San Salvador
9	Guarumo	<i>Cecropia peltata</i>	Hoja	San Salvador
10	Canela	<i>Cinnamomun zeylanicum</i>	Corteza	San Vicente
11	Morro	<i>Crescentia alata</i>	Hoja	San Salvador
12	Pipián	<i>Cucúrbita pepo</i>	Fruto	San Salvador
13	Paterno	<i>Inga paterno</i>	Hoja	Zacatecoluca
14	Camote	<i>Ipomoea batatas</i>	Hoja	Zacatecoluca
15	Hoja del Golpe	<i>Malpighia glabra</i>	Hoja	Zacatecoluca
16	Mango	<i>Mangifera indica</i>	Hoja	San Salvador
17	Capulín	<i>Muntigia calabura</i>	Hoja y fruto	San Salvador

No	Nombre Común	Nombre Científico	Órgano Recolectado	Lugar de Recolección
18	Berro	<i>Nasturtium officinale</i>	Hoja	San Salvador
19	Flor de Mayo	<i>Plumeria acutifolia</i>	Flor y hoja	Zacatecoluca
20	Rábano	<i>Raphanus sativus</i>	Flor y hoja	San Salvador
21	Aceituno	<i>Simarouba glauca</i>	Flor y hoja	Zacatecoluca
22	Jocote	<i>Spondias purpúrea</i>	Hoja	San Marcos
23	Maquilishuat	<i>Tabebuía rosea</i>	Hoja	San Marcos
24	San Andrés	<i>Tecoma stans</i>	Hoja	San Salvador
25	Almendro	<i>Terminalia catappa</i>	Hoja	San Salvador

2.4.2 Obtención de los Extractos Crudos

Se colocó 200 gramos del material vegetal en un aparato de reflujo con camisa térmica, agregando 1,000 mililitros de alcohol 90° y se reflujo durante 8 horas, se removió el alcohol de los extractos obtenidos en un baño de vapor a temperatura de 40°. Los extractos fueron envasados en frascos color ámbar.

2.4.3 Análisis Fitoquímico Preliminar ²⁶

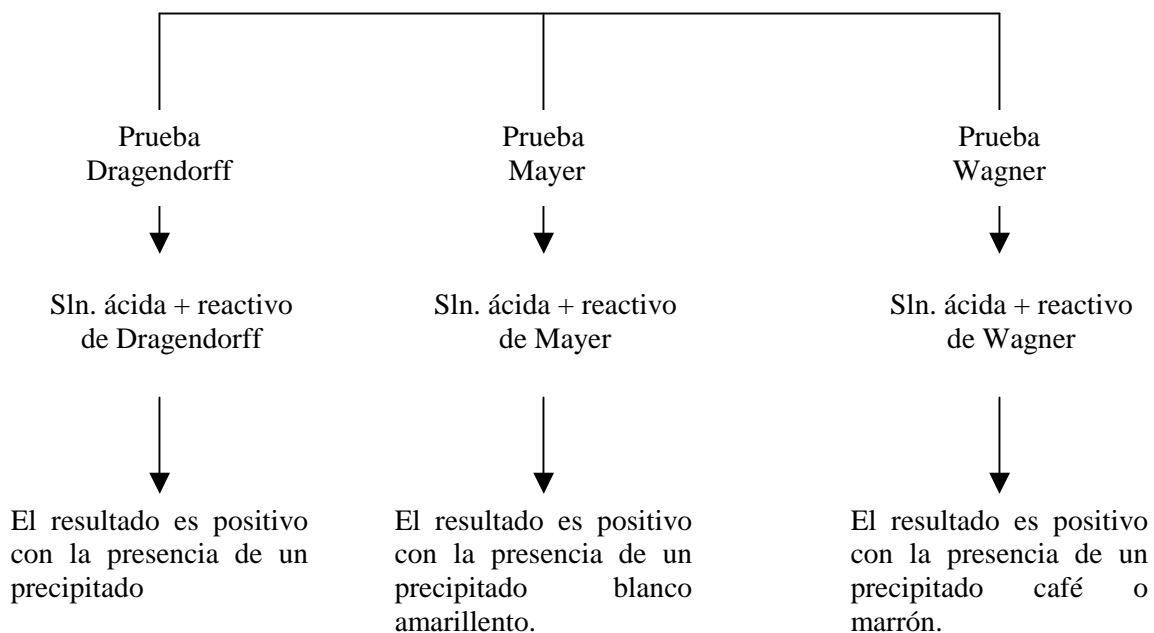
Al extracto vegetal obtenido anteriormente se le realizaron las siguientes pruebas para identificar los metabolitos secundarios presentes en ellos:

ESQUEMA 1: ENSAYOS PARA DETERMINAR ALCALOIDES²⁶

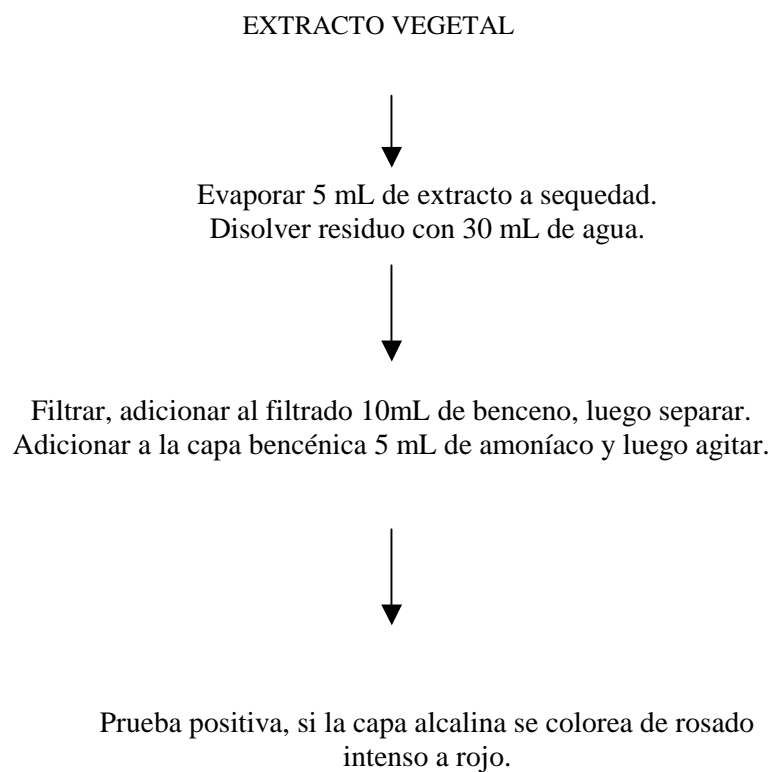
EXTRACTO VEGETAL

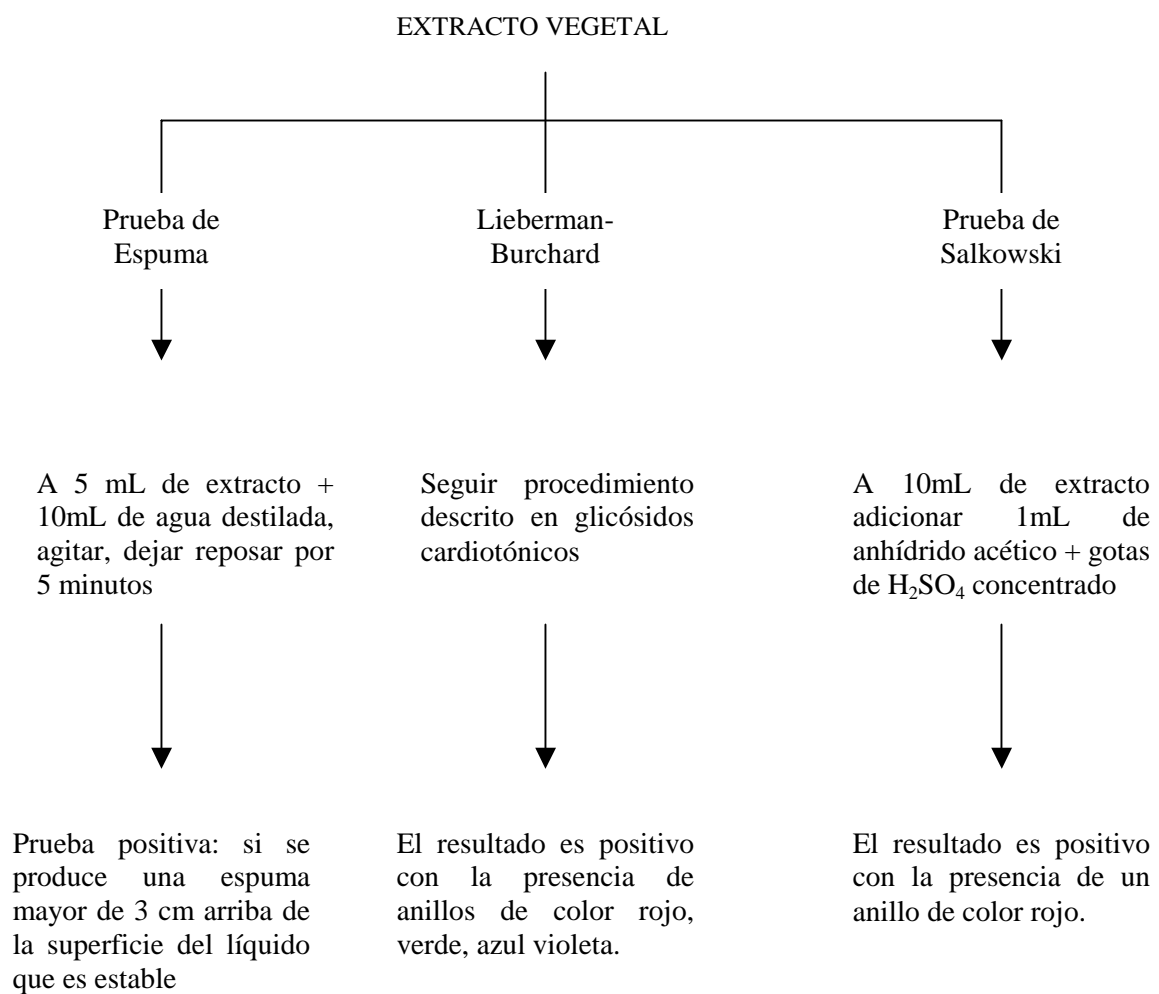


Concentrar 40 mL de extracto vegetal a aproximadamente 20 mL. Adicionar 25 mL de cloroformo y acidificar con HCl 1N a pH 1-2. Separar cada ácida. Luego hacer las pruebas siguientes.

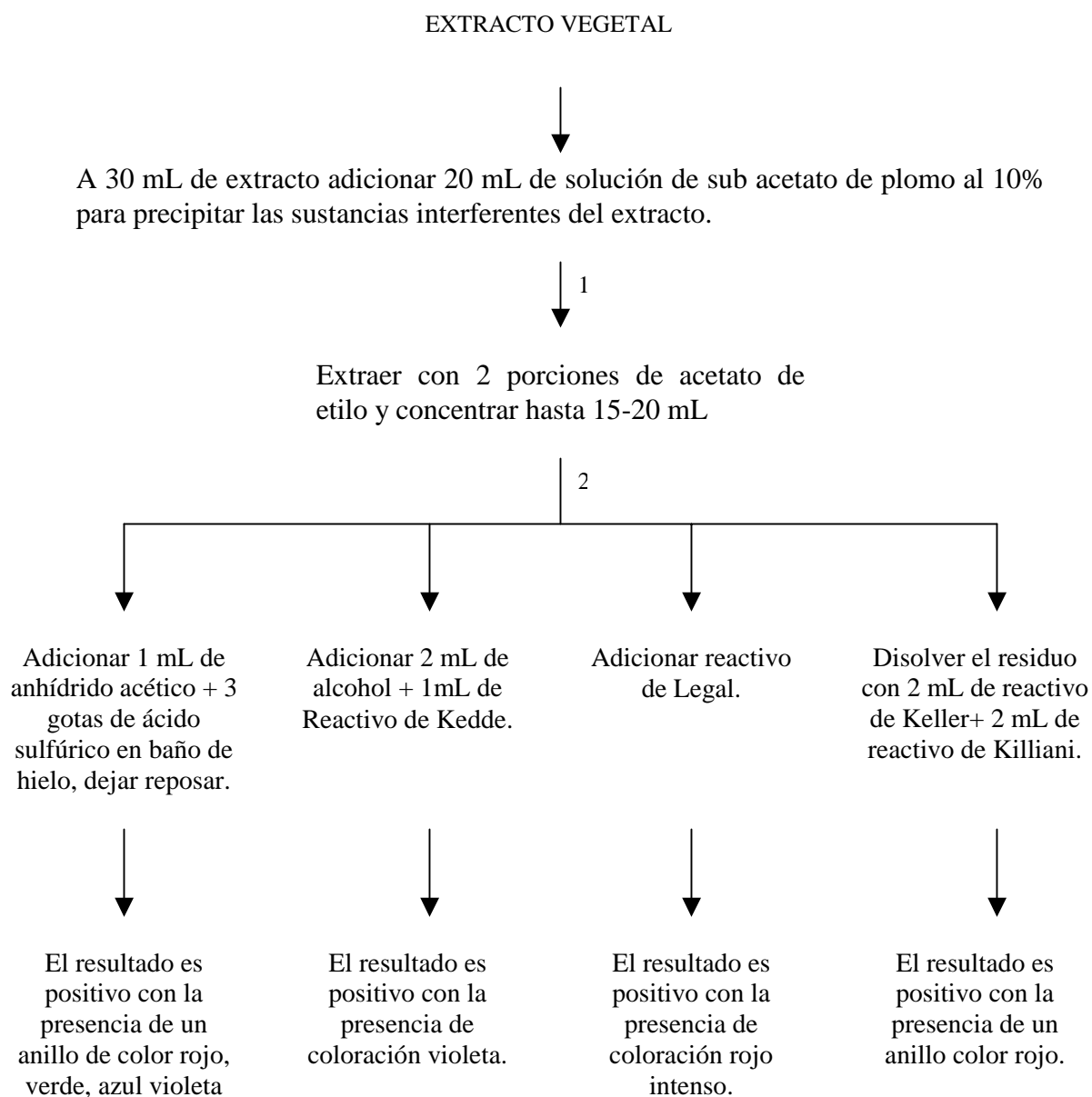


ESQUEMA 2: ENSAYOS PARA DETERMINAR GLICÓSIDOS

ANTRAQUINÓNICOS (PRUEBA DE BORNTTRAGER)²⁶

ESQUEMA 3: ENSAYOS PARA DETERMINAR GLICÓSIDOS SAPONÍNICOS²⁶

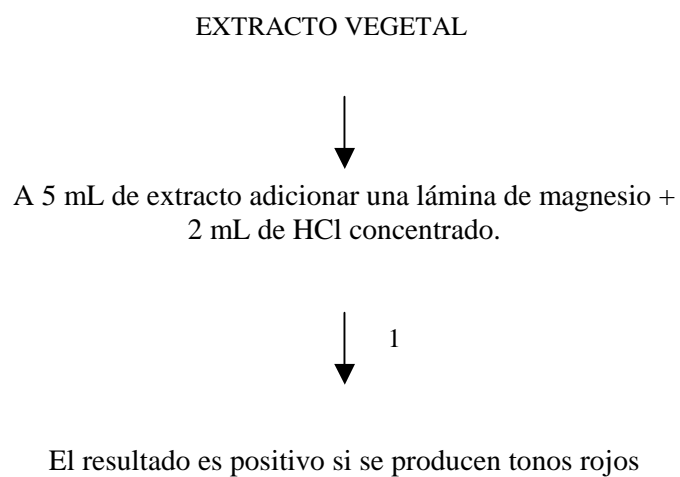
ESQUEMA 4: ENSAYOS PARA DETERMINAR GLICÓSIDOS CARDIOTÓNICOS²⁶



1. Dejar reposar por 30 min y filtrar

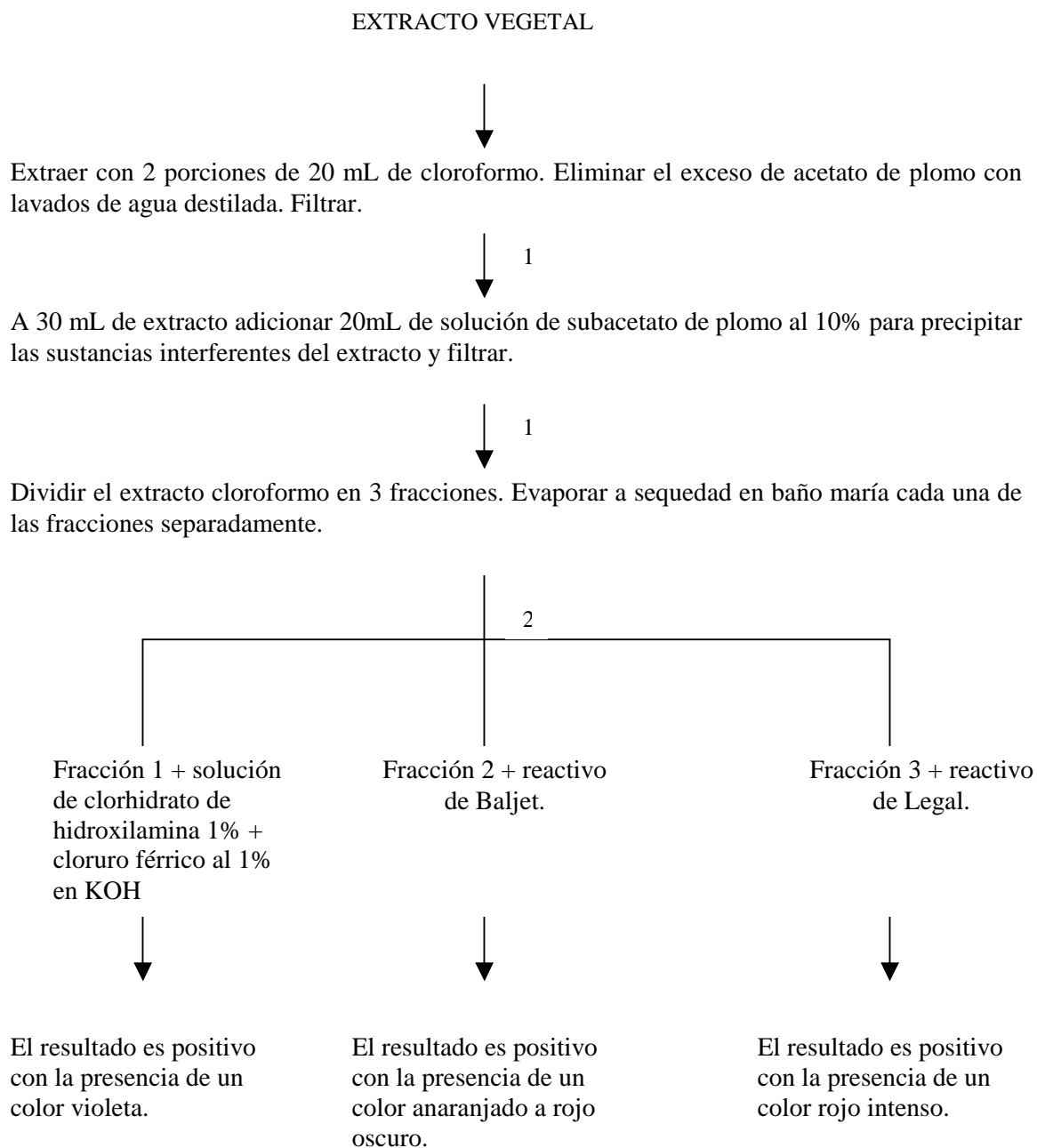
2. Evaporar a sequedad

ESQUEMA NO 5: ENSAYOS PARA DETERMINAR FLAVONOIDES (PRUEBA DE SHINODA)²⁶



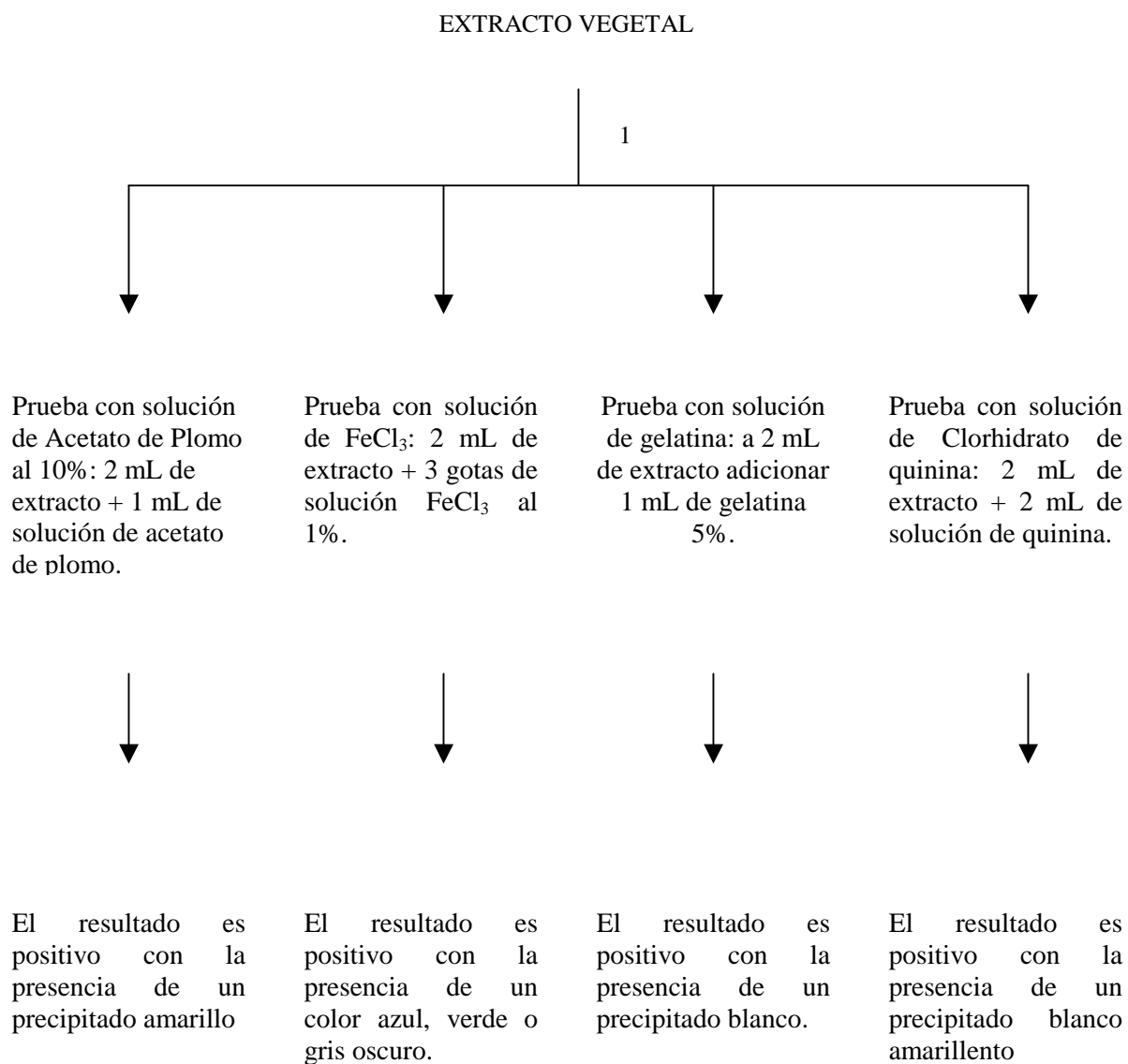
1. Dejar reposar por 10 min

ESQUEMA 6: ENSAYOS PARA DETERMINAR SESQUITERPENLACTONAS²⁶



1. Filtrar
2. Evaporar a sequedad

ESQUEMA 7: ENSAYOS PARA DETERMINAR TANINOS²⁶



1. Filtrar

2.4.4 Bioensayo con Artemia salina²⁵

2.4.4.1 Preparación del medio de cultivo (Agua del mar)

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

2.4.4.2 Preparación de los nauplios:

- a) En un recipiente limpio de 400 mililitros colocar 200 mililitros de agua de mar (a temperatura ambiente) y aproximadamente 100 miligramos de huevecillos de Artemia salina (no es necesario hacer una pesada)
- b) Oxigenar la mezcla con ayuda de una bomba de aire para acuario, durante 30 horas aproximadamente a una temperatura de 22° a 29° Celsius.
- c) Al cabo de 30 horas separar los nauplios de los huevecillos, quitándose el burbujeo y dejando que los nauplios se reúnan en una esquina del recipiente debido a su movimiento fototrópico.
- d) Remover los nauplios con la ayuda de una pipeta Pasteur y colocarlos en vaso de precipitado de 400 mililitros conteniendo 200 mililitros de agua de mar fresca, previamente oxigenada.
- e) Repetir esta operación en el caso que se hayan traspasado muchos huevecillos. Este caso asegura la edad o estadio de los nauplios utilizados en el ensayo.

- f) Continuar oxigenando alrededor de 18 hrs, transcurrido este tiempo con una pipeta de 100 μL , contar cuantos nauplios promedio se recogen en 5 intentos. Se recomienda que las cantidades recogidas no excedan de 15 nauplios ni sean menores de 10 nauplios.

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

2.4.4.3 Preparación de las muestras

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

a) Muestra 1 con una concentración de 1,000 microgramos por milímetros:

Pesar 10 miligramos del extracto de la especie vegetal y disolver en 0.5 mililitros de Dimetilsulfoxido (DMSO). Adicionar 9.50 mililitros ó 1,000 microgramos por milímetro(ver fig 9).

b) Muestra 2 con una Concentración de 100 microgramos por milímetros:

De la muestra 1 se tomó una alícuota de un 1mL y se adicionó 9 mL de agua de mar, para completar una solución de una concentración de 0.1 miligramos por mililitro ó de 100 microgramos por mililitro (ver fig.10)

c) Muestra 3 con una Concentración de 10 microgramos por mililitro:

De la solución anterior se tomó una alícuota de 1 mL y se adicionó 9 mL de agua de mar, para completar una solución de una concentración de 0.01 miligramos por mililitros ó de 10 microgramos por mililitro (ver fig. 11).

A partir de las tres diferentes concentraciones se realizó el Bioensayo.

2.4.4.4 Preparación blanco

Disolver 0.5 microlitos de Dimetilsulfóxido (DMSO) en 9.50 mililitros de Agua de Mar.

2.4.4.5 Preparación de la solución patrón

Pesar en balanza analítica 12.5 miligramo de Sulfato de Cobre, transferir a un balón volumétrico de 50 milímetros y aforar con agua de mar, una concentración final de 250 microgramos por milímetro.

2.4.4.6 Bioensayo

- En un plato de 96 micro pozos de 0.3 milímetros (300 μ L), colocar 0.1 mililitros(100 μ L) de agua de mar, excepto en la línea A.
- En los pozos A1, A2 Y A3 colocar 0.2 mililitros (200 μ L) de solución blanco. En los pozos A4 , A5 Y A6 colocar 0.2 mililitros (200 μ L) de la solución patrón. En los pozos A7, A8 y A9 colocar 0.2 mililitros (200 μ L) de solución de la muestra 1, en los pozos A10, A11 Y A12 colocar la muestra 2, en otro micro plato colocar en los pozos A1, A2 y A3 la muestra 3 (ver figura 8).

FIGURA 8: DIAGRAMA DEL MICROPLATO UTILIZADO EN EL BIOENSAYO

CON Artemia salina.

	Blanco			Patrón			Muestra 1			Muestra 2			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Fila A
A	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	A1-A3 200 µL de blanco
B	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	A4-A6 200 µL de patrón
C	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	A7-A9 200 µL de muestra 1
D	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	A10-A12 200 µL de muestra 2
E	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	100 µL agua de mar
F	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
G	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
H	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	

- Usando una pipeta de 8 canales a lo largo de la línea A (pozos 1 al A8), remover 0.1 mililitros (100 µL) de la solución y colocarla en la línea B, mezclado por succiones repetidas de la solución.
- Luego remover 0.1 mililitros (100 µL) de esta línea y colocarla en la línea C y mezclar; repetir este procedimiento hasta el final del plato. Al final quedaran 0.1 mililitros (100 µL) de solución que se debe destacar.
- Repetir este procedimiento para las columnas 9 a 12. ahora todos los micropozos contienen 0.1 mililitros (100 µL) de solución.

Para la muestra 1 la línea A tendrá una concentración de 1,000 µg/µL, la línea B de 500 microgramos por mililitro y así sucesivamente (ver figura9).

2.4.4.7 Lectura de resultados:

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

2.4.4.8 Cálculos de la Concentración Letal Media (LC₅₀)

Sumar el número de nauplios muertos en los tres pozos de la misma concentración de una misma muestra. Sumar el número total ($\sum n$ Total) de nauplios en los tres pozos de la misma concentración de una misma muestra.

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

Fórmula:

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

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

2.4.4.9 Programa de Cálculo PROBIT para Computadora

Para calcular el valor de la Concentración Letal 50 (LC₅₀) de los extractos ensayados se utiliza el programa de Computadoras para calculo “PROBIT” o Prueba de Finney. El programa presenta un cuadro de tabulación en el cual se encuentran tres variables que ayudan a determinar la Concentración Letal 50 (LC₅₀) de las plantas en estudio.

La concentración de los extractos: representada en unidades de microgramos por mililitro, haciéndose diluciones a partir de una concentración de 100 hasta 7.81 microgramos por mililitro. Luego encontramos los correspondientes logaritmos de cada concentración. El porcentaje de mortalidad depende del efecto del extracto de cada planta sobre la Artemia salina¹⁶.

El coeficiente de correlación “r” nos determina el grado o intensidad de relación entre las variables en estudio, en este caso la concentración de los extractos y el porcentaje de mortalidad. Se determina estadísticamente a partir de los datos que se encuentran en la tabla de tabulación obteniéndolo cuando $r = 1.0$.

El dato que representa el valor de la LC₅₀ en valor logarítmico (base 10) es determinado utilizando la gráfica correspondiente del Bioensayo con Artemia salina (Ver gráficos del 1 al 4), donde el porcentaje de mortalidad está ubicado en el eje de las ordenadas, en una escala lineal y la concentración de los extractos en el eje de las abscisas, en una escala logarítmica; por lo que hay que obtener el logaritmo de los valores de (1, 10, 100 y 1000)µg/mL para trazar los puntos¹⁶.

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

CAPITULO III

RESULTADOS YANÁLISIS DE RESULTADOS

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

CUADRO 2: RESULTADOS DE PRUEBAS FITOQUÍMICAS PRELIMINARES PARA SAPONINAS Y FLAVONOIDES.

Extracto	SAPONINAS				FLAVONOIDES	
	Índice de espuma	Lieberman-Burchard	Prueba de Salkowski	Resultado	Shinoda	Resultado
<i>Achras zapota</i>	+	+	+	+	-	-
<i>Aloe vera</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Anacardium occidentale</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Annona muricata</i>	+	+	+	+	-	-
<i>Bixa orellana</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Brassica oleracea</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Carica papaya</i>	+	+	+	+	-	-
<i>Cassia fistula</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Cecropia peltata</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Cinnamomun zeylanicum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Crescentia alata</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Cucúrbita pepo</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Inga paterno</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Ipomoea batatas</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Malpighia glabra</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Mangifera indica</i>	-	-	-	-	+	+
<i>Muntigia calabura</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Nasturtium officinale</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Plumeria acutifolia</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Raphanus sativus</i>	-	-	-	-	+	+
<i>Simarouba glauca</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Spondias purpúrea</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Tabebuía rosea</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Tecoma stans</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Terminalia catappa</i>	+	+	+	+	-	-

+ Resultado positivo

- Resultado negativo

CUADRO 3: RESULTADOS DE PRUEBAS FITOQUIMICAS PRELIMINARES PARA GLICOSIDOS CARDIOTONICOS Y ANTRAQUINÓNICOS.

Extracto	GLICOSIDOS CARDIOTONICOS				GLICOSIDOS ANTRAQUINONICOS	
	Lieberman-Burchard	Kedde	Keller Killiani	Resultado	Borntrager	Resultado
<i>Achras zapota</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Aloe vera</i>	+	-	-	-	+	-
<i>Anacardium occidentale</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Annona muricata</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Bixa orellana</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Brassica oleracea</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Carica papaya</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Cassia fistula</i>	-	-	-	-	+	+
<i>Cecropia peltata</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Cinnamomun zeylanicum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Crescentia alata</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Cucúrbita pepo</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Inga paterno</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Ipomoeba batatas</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Malpighia glabra</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Mangifera índica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Muntigia calabura</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Nasturtium officinale</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Plumeria acutifolia</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Raphanus sativus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Simarouba glauca</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Spondias purpúrea</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Tabebuía rosea</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Tecoma stans</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Terminalia catappa</i>	+	-	-	-	-	-

+ Resultado positivo

- Resultado negativo

CUADRO 4: RESULTADOS DE PRUEBAS FITOQUIMICAS PRELIMINARES PARA TANINOS.

Extracto	TANINOS				Resultado
	Acetato de plomo	Tricloruro de hierro	Solución de Gelatina	Clorhidrato de quinina	
<i>Achras zapota</i>	+	+	+	+	+
<i>Aloe vera</i>	-	-	-	-	-
<i>Anacardium occidentale</i>	+	+	+	+	+
<i>Annona muricata</i>	+	+	+	+	+
<i>Bixa orellana</i>	+	+	+	+	+
<i>Brassica oleracea</i>	-	-	-	-	-
<i>Carica papaya</i>	+	+	+	+	+
<i>Cassia fistula</i>	-	-	-	-	-
<i>Cecropia peltata</i>	+	+	+	+	+
<i>Cinnamomun zeylanicum</i>	+	+	+	+	+
<i>Crescentia alata</i>	-	-	-	-	-
<i>Cucúrbita pepo</i>	+	+	+	+	+
<i>Inga paterno</i>	+	+	+	+	+
<i>Ipomoeba batatas</i>	+	+	+	+	+
<i>Malpighia glabra</i>	+	+	+	+	+
<i>Mangifera índica</i>	+	+	+	+	+
<i>Muntigia calabura</i>	+	+	+	+	+
<i>Nasturtium officinale</i>	+	+	+	+	+
<i>Plumeria acutifolia</i>	-	-	-	-	-
<i>Raphanus sativus</i>	+	+	+	+	+
<i>Simarouba glauca</i>	+	+	+	+	+
<i>Spondias purpúrea</i>	+	+	+	+	+
<i>Tabebuía rosea</i>	+	+	+	+	+
<i>Tecoma stans</i>	+	+	+	+	+
<i>Terminalia catappa</i>	+	+	+	+	+

+ Resultado positivo

- Resultado negativo

CUADRO 5: RESULTADOS DE PRUEBAS FITOQUIMICAS PRELIMINARES PARA SESQUITERPENLACTONAS Y ALCALOIDES.

Extracto	SESQUITERPENLACTONAS				ALCALOIDES			
	Hidróxido férrico	Baljet	Legal	Resultado	Dragendorf	Mayer	Wagner	Resultado
<i>Achras zapota</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Aloe vera</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Anacardium occidentale</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Annona muricata</i>	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Bixa orellana</i>	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Brassica oleracea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Carica papaya</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Cassia fistula</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Cecropia peltata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cinnamomun zeylanicum</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Crescentia alata</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Cucúrbita pepo</i>	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Inga paterno</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ipomoea batatas</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Malpighia glabra</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Mangifera índica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Muntigia calabura</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Nasturtium officinale</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Plumeria acutifolia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Raphanus sativus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Simarouba glauca</i>	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Spondias purpúrea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tabebuía rosea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tecoma stans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Terminalia catappa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

+ Resultado positivo

- Resultado negativo

CUADRO 6: RESUMEN DE PRUEBAS FITOQUIMICAS

Extracto	METABOLITOS SECUNDARIOS
<i>Achras zapota</i>	Taninos, Alcaloides , Glicósidos Saponínicos
<i>Aloe vera</i>	Glicósidos Antraquinónicos, Glicósidos Cardiotónicos y Alcaloides
<i>Anacardium occidentale</i>	Flavonoides, Taninos, Glicósidos Cardiotónicos y Glicósidos Saponínicos
<i>Annona muricata</i>	Sesquiterpenlactonas, Taninos y Glicósidos Saponínicos
<i>Bixa orellana</i>	Sesquiterpenlactonas, Flavonoides, Taninos y Glicósidos Saponínicos
<i>Brassica oleracea</i>	
<i>Carica papaya</i>	Taninos y Alcaloides
<i>Cassia fistula</i>	Glicósidos Antraquinónico y Alcaloides
<i>Cecropia peltata</i>	Flavonoides, Taninos, Glicósidos Cardiotónicos y Glicósidos Saponínicos
<i>Cinnamomun zeylanicum</i>	Taninos y Alcaloides
<i>Crescentia alata</i>	Alcaloides
<i>Cucúrbita pepo</i>	Sesquiterpenlactonas y Taninos
<i>Inga paterno</i>	Taninos
<i>Ipomoea batatas</i>	Sesquiterpenlactonas, Flavonoides, Glicósidos Cardiotónicos, Taninos, Alcaloides y Glicósidos Saponínicos
<i>Malpighia glabra</i>	Sesquiterpenlactonas, Taninos y Alcaloides
<i>Mangifera índica</i>	Flavonoides yTaninos
<i>Muntigia calabura</i>	Taninos y Alcaloides
<i>Nasturtium officinale</i>	Sesquiterpenlactonas, Taninos y Alcaloides
<i>Plumeria acutifolia</i>	Glicósidos Cardiotónicos
<i>Raphanus sativus</i>	Flavonoides yTaninos
<i>Simarouba glauca</i>	Sesquiterpenlactonas, Flavonoides y Taninos
<i>Spondias purpúrea</i>	Taninos
<i>Tabebuía rosea</i>	Taninos
<i>Tecoma stans</i>	Sesquiterpenlactonas, Flavonoides, Taninos, Alcaloides y Glicósidos Saponínicos
<i>Terminalia catappa</i>	Taninos, Alcaloides y Glicósidos Saponínicos

CUADRO 7: PORCENTAJE DE PRUEBAS FITOQUIMICAS

METABOLITOS SECUNDARIOS	PORCENTAJE
Alcaloides	48%
Glicósidos Antraquinónicos	4%
Glicósidos Cardiotónicos	20%
Glicósidos Saponínicos	32%
Flavonoides	28%
Sesquiterpenlactonas	32%
Taninos	80%

ANÁLISIS DE RESULTADO DE LAS PRUEBAS FITOQUIMICAS

Los metabolitos secundarios de las plantas son productos formados a partir de la biogénesis o metabolismos de las plantas.

Las pruebas químicas se efectuaron por separado a las diferentes partes de la planta según se usaron, pues los componentes activos o metabolitos se encuentran distribuidos en hojas flores, tallo, fruto y raíz; y así poder verificar la ausencia o presencia de los mismos. Estos ayudan a relacionar el componente activo con la función terapéutica o actividad tóxica que pueda provocar en el ser humano; por tal razón el estudio de la presencia de éstos se convierte en una de las bases de la investigación, los metabolitos investigados fueron: Taninos, Glicósidos Cardiotónicos, Glicósidos Saponínicos, Glicósidos Antraquinónicos, Sesquiterpenlactonas, Alcaloides y Flavonoides. Para los cuales se utilizaron técnicas y procedimientos específicos para cada uno de ellos.

Posterior al análisis fitoquímico preliminar, cabe destacar según el cuadro 7 que de las veinticinco plantas ensayadas el 80% dieron positivo en la prueba de Tanino; ya que son metabolitos que le sirven a las plantas como mecanismo de defensa y para la formación de ácidos en las frutos.

Los Alcaloides se encuentran en un 48%, ya que son productos vegetales nitrogenados básicos que se encuentran en algunas familias de especies vegetales.

Los Glicósidos Saponínicos dieron positivo en un 32% de las especies vegetales.

Las Sesquiterpenlactonas dieron positivo en un 32% de las especies vegetales ya que son específicos y le confieren a la planta su uso farmacológico.

El 28% de las plantas dieron positivas las pruebas de Flavonoides que son los metabolitos responsables de proporcionar pigmentación a los diferentes órganos de las plantas, específicamente a las flores.

En cuanto Glicósidos Cardiotónicos y Antraquinónicos la mayoría de las plantas carecen de ellos ya que son compuestos escasos en la naturaleza.

Dichos procedimientos identifican los metabolitos presentes en forma general y cualitativa.

TABLA 1: PORCENTAJE DE LA MORTALIDAD PROMEDIO SOBRE Artemia salina UTILIZANDO EXTRACTO DE 25 ESPECIES VEGETALES A DIFERENTES CONCENTRACIONES

Concentración $\mu\text{g/mL}$ \diagdown planta \diagup	<i>Annona muricata</i>	<i>Anacardium occidentale</i>	<i>Aloe vera</i>	<i>Achras zapata</i>	<i>Bixa orellana</i>	<i>Brassica oleracea</i>
1000	0	0	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	0
250	0	0	0	0	0	0
125	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0
62.5	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0
31.2	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0
15.63	0	0	0	0	0	0
12.5	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
7.81	0	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
3.13	0	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	0	0	0
1.56	0	0	0	0	0	0
1.25	0	0	0	0	0	0
0.78	0	0	0	0	0	0
0.63	0	0	0	0	0	0
0.31	0	0	0	0	0	0
0.16	0	0	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0	0	0
Concentración Letal 50	Inactivos	Inactivos	Inactivos	Inactivos	Inactivos	Inactivos

En la fila denominada Concentración Letal 50 (LC_{50}): se dará el valor en $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ en que la especie vegetal causa actividad citotóxica a los nauplios de la Artemia salina.

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

TABLA 2: PORCENTAJE DE LA MORTALIDAD PROMEDIO SOBRE Artemia salina UTILIZANDO EXTRACTO DE 25 ESPECIES VEGETALES A DIFERENTES CONCENTRACIONES

Concentración $\mu\text{g/mL}$ \diagup planta	<i>Carica papaya</i>	<i>Cassia fistula</i>	<i>Cecropia peltata</i>	<i>Cinnamomun zeylanicum</i>	<i>Crecentia alata</i>	<i>Curcubita pepo</i>
1000	0	0	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	0
250	0	0	0	0	0	0
125	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0
62.5	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0
31.2	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0
15.63	0	0	0	0	0	0
12.5	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
7.81	0	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
3.13	0	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	0	0	0
1.56	0	0	0	0	0	0
1.25	0	0	0	0	0	0
0.78	0	0	0	0	0	0
0.63	0	0	0	0	0	0
0.31	0	0	0	0	0	0
0.16	0	0	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0	0	0
Concentración Letal 50	Inactivos	Inactivos	Inactivos	Inactivos	Inactivos	Inactivos

En la fila denominada Concentración Letal 50 (LC_{50}): se dará el valor en $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ en que la especie vegetal causa actividad citotóxica a los nauplios de la Artemia salina.

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

TABLA 3: PORCENTAJE DE LA MORTALIDAD PROMEDIO SOBRE Artemia salina UTILIZANDO EXTRACTO DE 25 ESPECIES VEGETALES A DIFERENTES CONCENTRACIONES

Concentración $\mu\text{g/mL}$ \diagdown planta	<i>Inga paterno</i>	<i>Ipomoea batata</i>	<i>Manguifera indica</i>	<i>Malpighia glabra</i>	<i>Muntigia calabura</i>	<i>Nasturtium officinale</i>
1000	0	25	0	0	43.56	0
500	0	10.5	0	0	30.7	0
250	0	0	0	0	19.3	0
125	0	0	0	0	15.44	0
100	0	0	0	0	10.31	0
62.5	0	0	0	0	9.11	0
50	0	0	0	0	0	0
31.2	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0
15.63	0	0	0	0	0	0
12.5	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
7.81	0	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
3.13	0	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	0	0	0
1.56	0	0	0	0	0	0
1.25	0	0	0	0	0	0
0.78	0	0	0	0	0	0
0.63	0	0	0	0	0	0
0.31	0	0	0	0	0	0
0.16	0	0	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0	0	0
Concentración Letal 50	Inactivos	646.662061	Inactivos	Inactivos	1701.129068	Inactivos

En la fila denominada Concentración Letal 50 (LC_{50}): se dará el valor en $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ en que la especie vegetal causa actividad citotóxica a los nauplios de la Artemia salina.

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

TABLA 4: PORCENTAJE DE LA MORTALIDAD PROMEDIO SOBRE Artemia salina UTILIZANDO EXTRACTO DE 25 ESPECIES VEGETALES A DIFERENTES CONCENTRACIONES

Concentración $\mu\text{g/mL}$ \diagdown planta	<i>Plumeria acutifolia</i>	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Spontias purpúrea</i>	<i>Simarouba glauca</i>	<i>Tabebuía rosea</i>	<i>Tecoma stans</i>	<i>Terminalia catapa</i>
1000	0	25	0	26	43.56	0	0
500	0	10.5	0	14.5	30.7	0	0
250	0	0	0	8.13	19.3	0	0
125	0	0	0	0	15.44	0	0
100	0	0	0	0	10.31	0	0
62.5	0	0	0	0	9.11	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0
31.2	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0	0
15.63	0	0	0	0	0	0	0
12.5	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
7.81	0	0	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
3.13	0	0	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	0	0	0	0
1.56	0	0	0	0	0	0	0
1.25	0	0	0	0	0	0	0
0.78	0	0	0	0	0	0	0
0.63	0	0	0	0	0	0	0
0.31	0	0	0	0	0	0	0
0.16	0	0	0	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0	0	0	0
Concentración Letal 50	Inactivos	Inactivos	Inactivos	7571.389473	Inactivos	Inactivos	Inactivos

En la fila denominada Concentración Letal 50 (LC_{50}): se dará el valor en $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ en que la especie vegetal causa actividad citotóxica a los nauplios de la Artemia salina.

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

INTRODUCCIÓN A LAS GRAFICAS

A continuación se presenta las gráficas de cada una de las especies vegetales que presentaron actividad al bioensayo con Artemia salina. En la gráfica se puede observar dos líneas, una en la que se encuentran los puntos de los datos experimentales y la línea recta que indica la tendencia ideal que debe tener la gráfica. El punto de intersección cuando el porcentaje de mortalidad es cincuenta es el valor logarítmico de la LC_{50} .

Además se representa la gráfica de Spondia purpúrea (jocote) representando la inactividad al ensayo de Artemia salina.

Tabla 5. Porcentaje de mortalidad de la Artemia salina causado por Muntigia calabura

CONCENTRACION ug/ml	Porcentaje de Mortalidad	Logaritmo de la concentración
1000	43,56	3
500	30,7	2,698970004
250	19,3	2,397940009
125	15,44	2,096910013
62,5	10,31	1,795880017
31,25	9,11	1,494850022
15,62	0	1,19368103
7,81	0	0,892651034

Valor de r	Log C	LC ₅₀
0,976738983	3,230737266	1701,129068

Gráfica 1: Gráfica de línea que representa el porcentaje de mortalidad de Artemia salina utilizando Muntigia calabura basado en la tabla 5

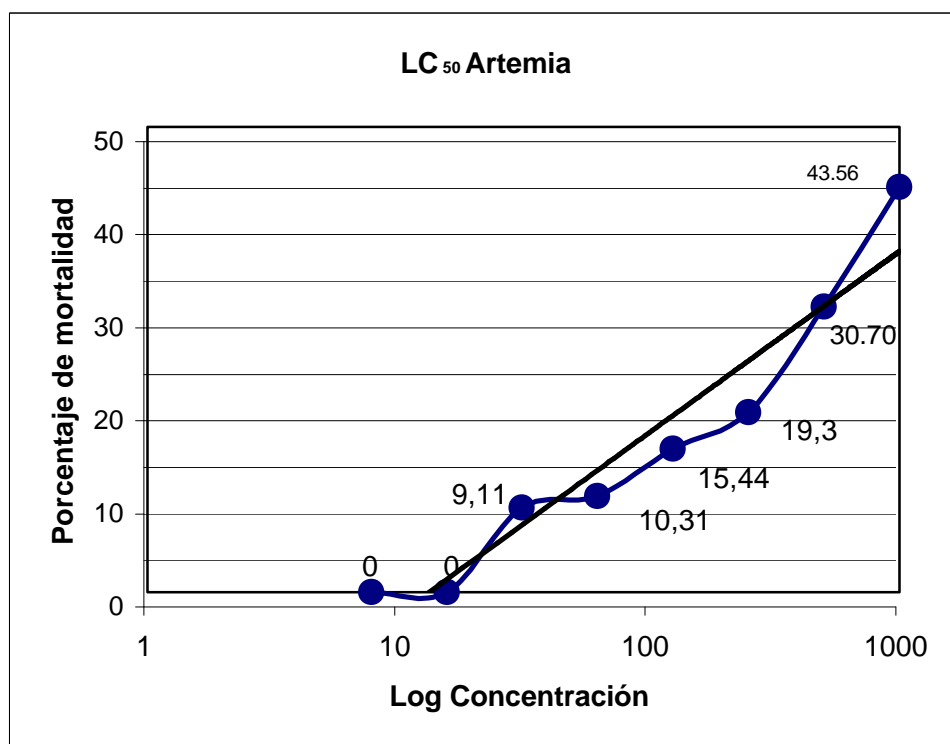


Tabla 6. Porcentaje de mortalidad de la Artemia salina causado por Ipomoea batata

CONCENTRACION ug/ml	Porcentaje de Mortalidad	Logaritmo de la concentración
1000	25	3
500	10,5	2,698970004
250	0	2,397940009
125	0	2,096910013
62,5	0	1,795880017
31,25	0	1,494850022
15,62	0	1,19368103
7,81	0	0,892651034

Valor de r	Log C	LC ₅₀
0,932673318	3,807985464	6426,662061

Gráfica 2: Gráfica de línea que representa el porcentaje de mortalidad de Artemia salina utilizando Ipomoea batata basado en la tabla 6

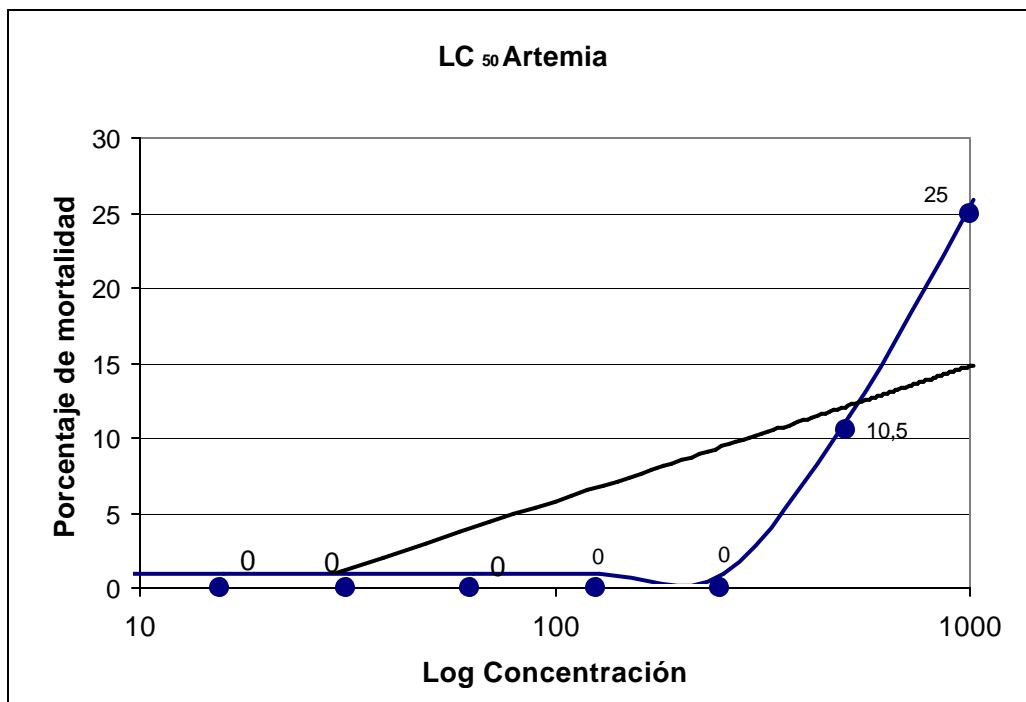


Tabla 7. Porcentaje de mortalidad de la Artemia salina causado por Simarouba glauca

CONCENTRACION ug/ml	Porcentaje de Mortalidad	Logaritmo de la concentración
1000	26	3
500	14,5	2,698970004
250	8,13	2,397940009
125	0	2,096910013
62,5	0	1,795880017
31,25	0	1,494850022
15,62	0	1,19368103
7,81	0	0,892651034

Valor de r	Log C	LC ₅₀
0,992756331	3,879175587	7571,389473

Gráfica 3: Gráfica de línea que representa el porcentaje de mortalidad de Artemia salina utilizando Simarouba glauca basado en la tabla 7.

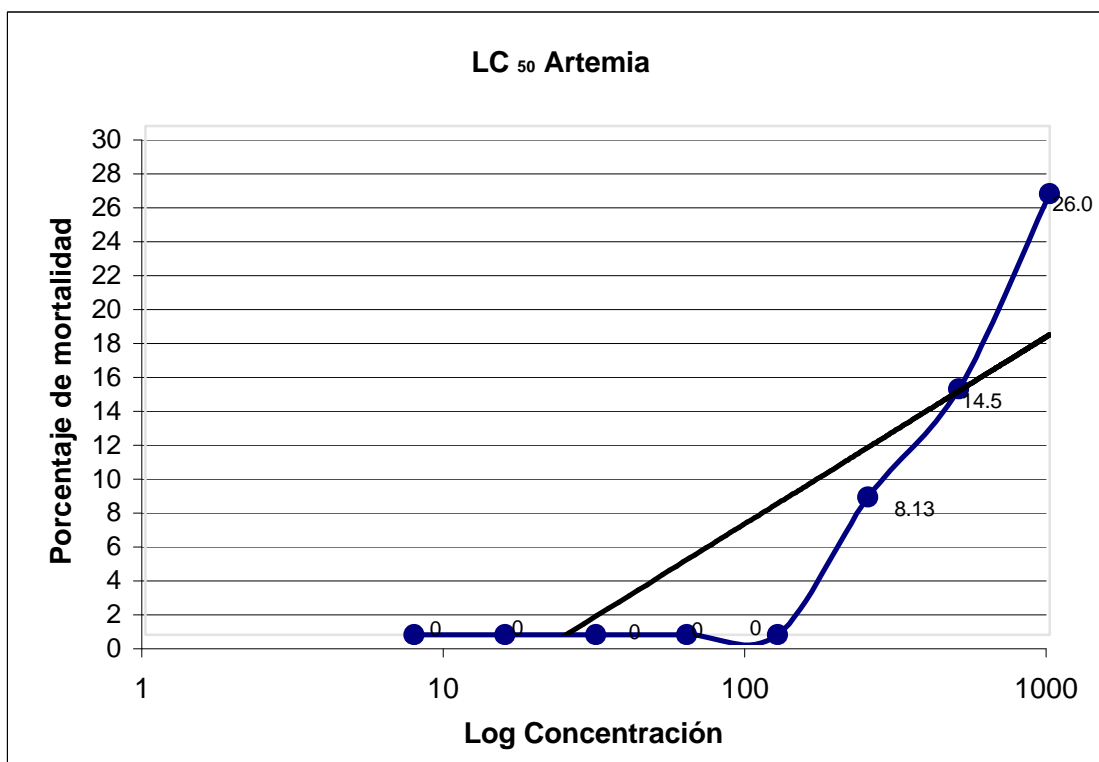
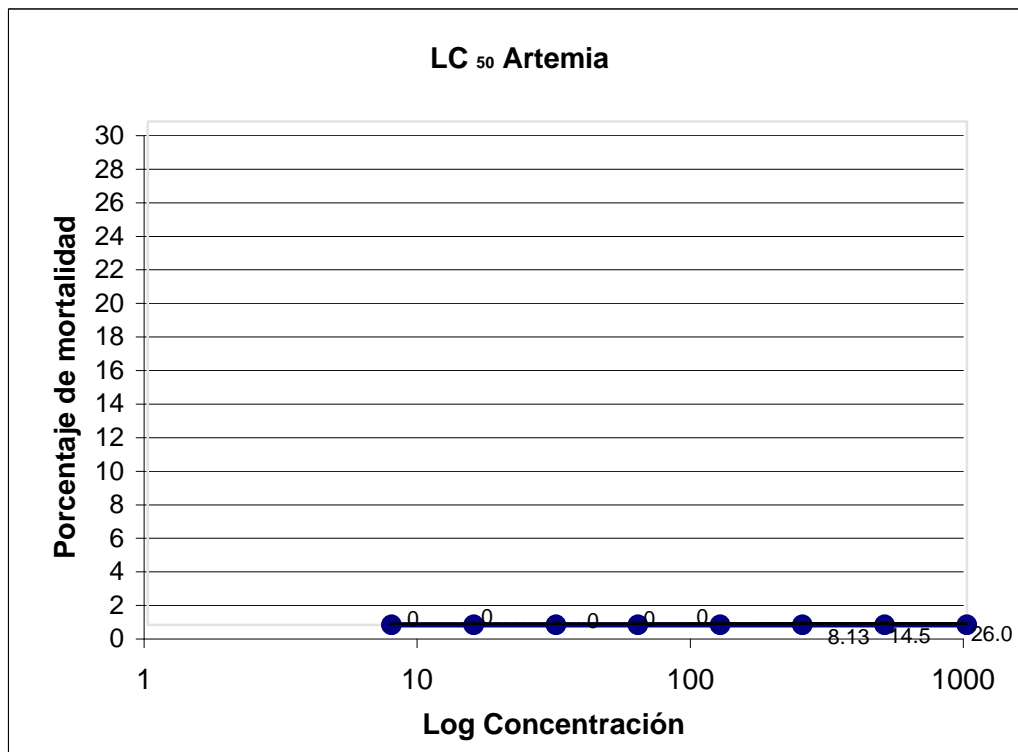


Tabla 8. Porcentaje de mortalidad de la Artemia salina causado por Spondia purpúrea

CONCENTRACION ug/ml	Porcentaje de Mortalidad	Logaritmo de la concentración
1000	0	3
500	0	2,698970004
250	0	2,397940009
125	0	2,096910013
62,5	0	1,795880017
31,25	0	1,494850022
15,62	0	1,19368103
7,81	0	0,892651034

Valor de r	Log C	LC ₅₀
#¡DIV/0!	#¡DIV/0!	#¡DIV/0!

Gráfica 4: Gráfica de línea que representa el porcentaje de mortalidad de Artemia salina utilizando Spondia purpúrea basado en la tabla 8



ANALISIS DE LA CONCENTRACIÓN LETAL 50 (LC₅₀) DE LOS EXTRACTOS VEGETALES.

La realización del Bioensayo de Artemia salina tiene mucha importancia, ya que a través de éste se puede determinar si el extracto de la planta es tóxico para el ser humano o si presentan citotoxicidad (toxicidad a las células). El valor de LC₅₀ que se encuentra al aplicar el programa PROBIT sirve para analizar si el extracto puede seguir la cadena de bioensayos con miras de saber, si puede poseer potencial anticancerígeno, toda vez y cuando los valores se encuentran abajo de 1000 µg/mL.

Al efectuar el análisis de resultados se observó que solamente 3 plantas de las 25 mostraron cierta mortalidad a los nauplios de Artemia salina, estas plantas fueron Simarouba glauca con 7571.39 a una concentración de 8.13 ug/mL, Ipomoea batatas con 6426.66 a una concentración de 10.5 ug/mL, y Muntingia calabura con 1701.13 a concentración de 62.5µg/mL .

En estas plantas a pesar que obtuvimos datos de LC₅₀, representan valores arriba de 1000ug/mL por lo cual no se consideran tóxicas al ser humano ni tampoco presentan citotoxicidad al observar sus valores de mortalidad y en los gráficos se observará que los valores del Coeficiente de correlación (r) en los tres casos se encuentran cercanos a la unidad; lo que significa el grado de confianza del ensayo (ver gráficas 1 a 3).

Los 22 extractos vegetales restantes no presentaron capacidad de destruir o matar el nauplio de Artemia salina por lo tanto no hubo valores de LC₅₀ esto significa la inactividad mostrada de los extractos hacia el animal de prueba.

En cuanto a la toxicidad, según la bibliografía consultada, de las especies estudiadas, solamente en el caso del aceituno (la semilla) se menciona la presencia de un compuesto tóxico no así en las hojas.

Las plantas estudiadas son muy utilizadas por la población salvadoreña por lo que los resultados obtenidos en el desarrollo de este Bioensayo indica que pueden utilizarse para el tratamiento de las enfermedades siempre y cuando se utilicen a concentraciones terapéuticas recomendadas ya que al aumentar la cantidad de la planta se aumentan los principios activos en los extractos y puede traer como consecuencia posiblemente un aumento en la toxicidad.

CAPITULO IV
CONCLUSIONES

4. CONCLUSIONES

- Los extractos de Ipomoea batata (camote), Muntigia calabura (capulín), y Simorouba glauca (aceituno) presentan concentraciones letal 50 (LC₅₀) de 6426.66, 1701.13, 7571.39 microgramos/ mililitros respectivamente, por lo que se consideran no bioactivos sobre Artemia salina.
- Por los resultados obtenidos en la investigación de las 25 especies vegetales estas pueden usarse para fines terapéuticos tomándose en cuenta que parte de la planta se usara por que cada una de ellas tiene ciertos componentes particulares como también la cantidad a emplear.
- Es importante llevar un blanco y un control de forma simultanea con las muestras para verificar que el Bioensayo de mortalidad de Artemia salina sea objetivo de lo contrario existen factores extremos que pueden afectar los resultados de los análisis.
- La utilización del método de micropozos para el Bioensayo de citotoxicidad de Artemia salina se comprueba que es una metodología sencilla y practica que proporciona resultados rápidos y confiables para investigar la acción citotóxica de extractos y metabolitos vegetales que no requieran activación metabólica humana.
- El análisis fitoquímico preliminar se realizo de forma cualitativa por lo que los resultados no demuestran la cantidad, ni especificidad del metabolito secundario presente en los extractos.

CAPITULO V
RECOMENDACIONES

5. RECOMENDACIONES

- Los extractos obtenidos de Ipomoea batata (camote), Muntigia calabura (capulín), y Simorouba glauca (aceituno) no presentan capacidad de destrucción celular por lo que pueden utilizarse como medicina alternativa a la concentración ensayada sin temor que causen efectos citotóxicos en el organismo humano, aunque se debe escalar en otros animales para experimentación.
- El Bioensayo de mortalidad de Artemia salina utilizando el método de micropozos por ser un ensayo sencillo, rápido, práctico y confiable se recomienda para medir la acción toxica en extractos, además por ser de bajo costo.
- Al realizar este Bioensayo deben tomarse en cuenta periodo de crecimiento, especie, condiciones ambientales de la Artemia salina, acceso y salinidad del agua.
- Se debe tomar en cuenta la forma de recolección y conservación de las plantas, para que los principios activos obtenidos por extracción se encuentren en buena cantidad y calidad.
- Se recomienda que posteriormente se realicen bioensayos complementarios como: Interacción con ADN por cromatografía líquida de alta resolución para las veinticinco especies vegetales que se han estudiado, para que se tenga un análisis completo acerca de ellas.
- Al utilizar la extracción por reflujo se somete a una alta temperatura y cabe la posibilidad que se destruyan algunos principios activos de la especie vegetal, para obtener mejores resultados se recomienda utilizarlo por maceración ya que se extrae a una temperatura ambiente y hay menos pérdidas de principio activo.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

LIBROS

1. CACERES, A. “Plantas de uso Medicinal en Guatemala”, 1ª Edición, Editorial Universidad de San Carlos de Guatemala, 1996.
2. CURRENT, DEAN; WITSBERGER, “Árboles del Parque Deninger”, 29 Edición, Dirección de Publicaciones del Ministerio de Educación. San Salvador, 1982.
3. DOMÍNGUEZ, J. A. “Métodos de Investigación Fitoquímica” 1ª Edición, Editorial Limusa. México D.F. 1973.
4. EVANS, W. C., “Farmacognosia” 3ª Edición. Editorial Interamericana, S.A. de C.V. México D.F. 1991
5. GONZALES AYALA, J. C. “Botánica Medicinal Popular Etnobotánica Medicinal de El Salvador, 1994.
6. GUPTA, M. P. “270 Plantas Medicinales Iberoamericanas”, 1ª Edición, Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología Para El Desarrollo CYTED, Subprograma de Química Fina Farmacéutica, 1ª Edición, Editorial presencia Ltda....., Santa Fe de Bogotá Colombia, 1995.
7. “Hacia una Farmacopea Caribeña Investigación Científica y uso popular de Plantas Medicinales en El Caribe,” Edición, Tramil, Emile Désomeaur-Lionel Germosen-Robineau, Universidad de Antioquia Santo Domingo, 1995.
8. LAGOS, J. A. “Compendio de Botánica Sistemática” 2ª Edición. Ministerio de Educación, Dirección de Publicaciones. El Salvador. 1983.
9. MARTÍN FULLERTON, E.W., “Farmacia Práctica De Rémington”. 17ª Edición, Editorial Médica Panamericana, USA, 1985.

10. MURRIA. K. R. MAYES, P. “Bioquímica De Haper”, 12^a Edición. Editorial El Manual Moderno, S. A. De C. V. México D.F. 1992.
11. HOUSE, P Lagos, “Manual Popular De 50 Plantas Medicinales de Honduras”, 1^a Edición, Tegucigalpa Honduras, Centro América, 1989.
12. Universidad Nacional Autónoma de Honduras, “Plantas Medicinales Comunes de Honduras” , 1^a Edición, Editorial Litográfica LOPEZ, S. De R. L. Centroamérica, 1985.
13. Universidad de El Salvador, Organización de Estados Americanos, Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social. “Planter” Volumen 1, 1^a Edición, Editorial Universitaria. El Salvador. 1989.
14. “Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas”, 10^a Edición, Salvat Editores, Barcelona España, 1968.

TRABAJOS DE GRADUACION

15. ARAUJO MARENCO, B. M. “Estudio Etnobotánico y Farmacognóstico de quince especies medicinales de la flora Salvadoreña en la Zona Occidental del país”, Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador, 1981.
16. CAÑAS, R. LÓPEZ, M. “Determinación de la Bioactividad Citotóxica de extractos de veintiséis especies vegetales mediante el Bioensayo Simple con Artemia Salina”. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. Diciembre, 2001.
17. HERRERA, E., ZULETA, R. “Determinación de la Bioactividad de los aceites, esenciales de quince especies vegetales, mediante el Bioensayo en Artemia Salina” Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador, Septiembre de 2001.

DOCUMENTOS DE INTERNET

18. <http://www.cenaim.espol.edu.ec/elcenaim/bioensayos.htm>
19. <http://www.ciudadfutura.net/peces/glosario.htm>
20. <http://www.etsea.udl.es/invitro/luz.htm>
21. <http://www.aloe-vera.com/>
22. <http://www.canela.com/>
23. <http://www.animalls.net/pezart.htm>

PROGRAMAS Y CURSOS

24. Apuntes de 2º Curso Interamericano de Cultivo de Peces Marinos (Alfonso Silva A).
Universidad Católica del Norte. Facultad de Ciencias del Mar. Departamento de Acuicultura. Agencia de Cooperación Internacional. Organización de Estados Americanos, Coquimbo Chile. 1995.
25. CYTED, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación. Subprograma X: Química Fina Farmacéutica. Proyecto XI: Búsqueda de Principios Bioactivos en Plantas de la Región. Marzo 1995.
26. Universidad de El Salvador. “Manual de Laboratorio de Farmacología”, Facultad de Química y Farmacia. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. El Salvador, 2000.

ANEXOS

ANEXO 1:

CALCULO DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA PARA

Artemia salina de Muntigia calaburaFórmula utilizada: $y = a + bx$

Donde:

y = Porcentaje de Mortalidad

x = Logaritmo de la Concentración

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

x	y	xy	x ²	y ²
3.00000	4356	130.68	9.000000	1897.4736
2.698970	30.7	82.85837912	7.284439082	942.49
2.39794	19.3	46.28024217	5.750116287	372.49
2.09691	15.44	32.3762906	4.397031603	238.3936
1.7958	10.31	18.51552298	3.225185035	106.2961
1.4985	9.11	13.6180837	2.234576588	82.9921
1.1936	0.000	0.00000	1.424874401	0.00000
0.8926	0.000	0.00000	0.796825869	0.00000
Σ = 15.57088213	128.42	324.3285186	34.11304887	3640.1354

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

Donde:

n = número de puntos que se han tomado

n = 8

$$a = \frac{(128.42)(34.11304887) - (324.3285186)(15.57088213)}{8(34.11304887) - (15.57088213)^2}$$

$$a = \frac{4380.7979 - 5050.0809}{272.90438 - 242.4523703}$$

$$a = - \frac{669.283}{30.45200969}$$

$$a = -21.97828671$$

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

$$b = \frac{(8)(324.3285186) - (15.57088213)(128.42)}{8(34.11304887) - (15.57088213)^2}$$

$$b = \frac{2594.628 - 1999.6126}{272.90438 - 242.4523703}$$

$$b = \frac{595.0154}{30.45200969}$$

$$b = 19.53944604$$

$$y = a + bx$$

Donde:

y = Porcentaje de Mortalidad

x = Logaritmo de la Concentración

$$a = -21.97828671$$

$$b = 19.53944604$$

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

Donde:

C = Concentración Letal Media

Si el porcentaje de mortalidad es 50, entonces:

Sustituyendo los valores tenemos:

$$50 = (-21.9782867) + (19.53944604) (\text{Log} C)$$

Despejando la Incógnita:

$$\frac{50 + 21.9782867}{19.53944604} = \text{LogC}$$

$$\text{LogC} = 3.683742444$$

$$C = 10^{3.683742444}$$

$$C = 4827.724116$$

Cálculo de r :

Donde:

r = Coeficiente de Correlación

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

$$r = \frac{8(324.3285186) - (15.57088213)(128.42)}{\sqrt{[8(34.11304887) - (15.57088213)^2]} \sqrt{[8(3640.1354) - (128.42)^2]}}$$

$$r = \frac{595.0154}{620.1533706}$$

$$r = 0.959464913$$

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

ANEXO 2:

GLOSARIO

Alcaloides:

Base solidificable nitrogenada, de procedencia orgánica y propiedades alcalinas. Miembro de amplio grupo de compuestos orgánicos producidos por las plantas, incluidas muchas sustancias con actividad farmacológica tales como la aliopina, la cocaína, la nicotina y la quinina.

Anticarcinógena:

Medicamento o tratamiento contra el cáncer.

Bioactividad:

Cualquier respuesta o reacción del tejido vivo.

Cardiotónico:

Agente farmacológico que aumenta la actividad cardíaca. Los glicósidos cardiotónicos como la digital, digoxina, dislanosido, lanatosido, asetil y aubaina aumenta la fuerza de las concentraciones del miocardio y disminuyen la frecuencia cardíaca y la velocidad de conducción lo que aumenta el tiempo de llenado y de relegación ventricular.

Citotóxico:

Agente tóxico para las células no muestra efecto selectivo sobre células de cáncer y células normales.

Crustáceo:

Clase de artrópodos de respiración branquial cubiertos de un caparazón duro o flexible y que tienen cierto número de patas dispuestas simétricamente.

Cultivo:

Prueba de laboratorio que implica el cultivo de células o microorganismos en un medio específico de crecimiento.

Epicarpio:

Piel fina que cubre el fruto.

Extracto:

Sustancia normalmente de un ingrediente activo de una planta o tejido animal que se prepara utilizando disolvente o evaporación para separar la sustancia del material original.

Fármaco:

Cualquier sustancia que es capaz de producir un efecto en el organismo puede administrarse por vía oral, intravenosa, intramuscular, en forma tópica, para tratar o prevenir una enfermedad o proceso.

Glicósidos:

Sustancia vegetal. Diversos carbohidratos que se desdoblan por hidrólisis en un azúcar y en una sustancia no azucarada.

Hábitat:

Conjunto de factores ambientales en los que vive de un modo natural una determinada especie animal o vegetal.

Haz:

Cara o rostro.

Hérbacea:

Que tiene la misma naturaleza que la hierba.

Letal:

Capaz de producir la muerte.

Medio Cultivo:

Es el procedimiento por el cual se promueve el crecimiento de los microorganismos al proporcionarle las condiciones ambientales adecuadas: nutrimentos pH, temperatura y aeración. Otros factores que deben ser controlados incluyen la concentración salina, la presión osmótica del medio y factores especiales como la luz para los organismos fotosintéticos.

Metabólico:

Sustancia producida por acción del metabolismo o que es necesaria para un proceso metabólico.

Nauplios:

Larva inicial de los crustáceos insegmentada y con tres pares de apéndices (Antenas y mandíbulas de los adultos)

Neoplasia:

Desarrollo de células nuevas y anormales que pueden ser benignas o malignas.

ANEXO 3:

CRISTALERIA Y MATERIALES.

- Adaptadores curvos.
- Agitadores de vidrio.
- Aros metálicos.
- Balones de destilación de 5 Lts.
- Camisas térmicas.
- Embudos de separación.
- Frascos volumétricos (10 y 50 mL).
- Mallas de asbestos.
- Mangueras para peceras.
- Motores para peceras.
- Peceras pequeñas.
- Pinzas sostén.
- Pipetas volumétricas (1 mL).
- Placas de 96 micropozos.
- Probeta de 100 mL
- Puntas descartables para pipetas.
- Refrigerantes.
- Termómetros.
- Vasos de precipitado (10, 100, 250, 400, 600 y 1000 mL).
- Válvulas para peceras.

EQUIPO.

- Hot-plates. Marca Thermolyne, modelo HPA 1915B
- Balanza analítica. Marca Mettler, modelo 45
- Balanza granataria. Marca Ohaus, modelo 1
- Microscopio Estereoscópico. Marca Swift, modelo Mz816
- Micropipetas de ocho canales. Marca Wheaton, capacidad 100 microlitros
- Micropipetas fijas. Marca Wheaton, capacidad (100 y 200)microlitros.
- Micropipetas regulares de 1000 microlitros
- Motor para válvulas de oxigenación para peceras. Marca Elite Air Pump, modelo 802
- Pecera de vidrio. Dimensiones (1.00 X 0.75)mt
- Piedras aireadoras. Marca Penn-plax, capacidad 7/16, 1 cm
- Placas de micropozos
- Salinometro. Marca Aquarium Hydrometer with thermometer
- Válvulas de Oxigenación para peceras de 5 salidas. Marca Penn- plax, serie VN-5, modelo Lok Tite

REACTIVOS Y SOLVENTES

- Acetato de etilo.
- Ácido clorhídrico 1N.
- Ácido clorhídrico concentrado.
- Ácido sulfúrico 10%.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Agua de bromo.
- Agua destilada.
- Anhídrido acético.
- Benceno.
- Clorhidrato férrico al 1% KOH.

- Cloroformo.
- Etanol 70%.
- Laminas de magnesio.
- Lugol.
- Metanol.
- Peroxido de Hidrógeno.
- Reactivo de Balgejt.
- Reactivo de Borntrager.
- Reactivo de Dragendorff.
- Reactivo de Keller.
- Reactivo de Séller-Kelliani.
- Reactivo de Legal
- Reactivo Lieberman-Burchard.
- Reactivo de Mayer.
- Reactivo de Salkowski.
- Reactivo de Shinoda.
- Reactivo de Wagner.
- Solución de Clorhidrato de quinina.
- Solución Cloruro de hidroxilamina.
- Solución cloruro férrico.
- Solución de Dicromato de potasio al 5%.
- Solución de Gelatina.
- Sub- Acetato de plomo.
- Solución de Sulfato de Atropina.
- Dimetilsulfoxido (DMSO).
- Solución de Sulfato de cobre.

ANEXO 4:

MONOGRAFÍA DE Muntigia calabura

FAMILIA: rosaceae

NOMBRE COMUN: capulín

HABITAT Y DISTRIBUCIÓN : Distribución intertropical y de los países templados.

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Arbol de (5-8)mts de altura muy común. Los frutos son rojos, muy dulces; tienen semillas pequeñas.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

Se conoce la amigdalina y la pronasina, obtenidas de la corteza, las hojas y las semillas de las plantas. Las semillas del capulín conservan por largo tiempo sus compuestos cianogénicos.

FARMACOLOGÍA

Aunque la amigdalina sea empleada en la quimioterapia contra el cáncer desde 1845, no existe en la literatura datos que corroboren su supuesta actividad anticancerígena.

TOXICOLOGÍA

El capulín contiene amigdalina, compuesto capaz de transformar por acción de la emulsina en ácido cianhídrico el cual a ciertas dosis produce graves efectos tóxicos. En determinadas condiciones ingerir la decocción de unas cuantas hojas frescas de este árbol puede provocar vértigo, trastornos respiratorios y cardíacos; y aún la muerte, debido a la acción tóxica que el ácido cianhídrico ejerce sobre la función sanguínea y sobre el centro respiratorio.

ANEXO 5:

MONOGRAFÍA DE Ipomoea batata

FAMILIA: convolvuláceas

NOMBRE COMUN: camote

HABITAT Y DISTRIBUCIÓN : Está presente en los trópicos, siendo naturalizada en muchos lugares. En El Salvador está distribuida por toda la zona Central y Occidental.

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Hierba de tallos largos ramificados, rastreros o semi-rastreros. Hojas trilobuladas de pecíolos largos. Flores violáceas o moradas. Tubérculos radicales muy variables en forma y tamaño.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

La planta completa contiene Alcaloides, Flavonoides, Taninos, Glicósidos Cardiotónicos y Sesquiterpenlactonas.

USOS MEDICINALES

Contra las quemaduras, inflamaciones, erisipela. Los tubérculos en infusión se usan como diuréticos y en algunas del riñón.

INDICACIONES TERAPEUTICAS

El camote se corta en pedacitos y se cocer en poco agua. Se le pone un poco de aceite de oliva y con esto se empapa un algodón que se pone sobre la quemadura.

En caso de erisipela se empapa un lienzo con el agua tibia del cocimiento y se coloca en la parte afectada.

TOXICOLOGIA

El extracto etanólico de la planta completa inhibió el crecimiento de Escherichia coli y Staphilococcus aureus.

ANEXO 6:

MONOGRAFÍA DE Simarouba glauca

FAMILIA: simarouaceae

NOMBRE COMUN: aceituno

HABITAT Y DISTRIBUCIÓN :

Está presente en Mesoamérica en bosques secos subtropicales, regiones húmedas o pobladas de matorrales, sobre laderas secas rocosas abiertas, en regiones desde el Sur de México hasta Centro América y el Caribe.

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Árbol dioico, hasta 15 mts de alto, tronco de 30 cms de diámetro, lampiño. Hojas largas con 10-20 pecíolos, coriocea oblonga de 5-10 cm de largo, ápice agudo, base desigual, penículas largas, cerradas y elásticas. Flores blanquecinas, cáliz de 3-4 mm de ancho, lóbulos ovalados o triangulares obtusos o agudos, ciliados, pétalos oblongos 4-6 mm de largo. Fruto en drupa ovalada, 1-2cm de largo; pulpa gruesa color rojo, se torna negra al madurar.

COMPOSICIÓN QUÍMICA:

Las hojas y corteza contienen flavonoides, poliforales, sesquiterpenlactonas, taninos, alcaloides y cuasinoides. Las semillas contienen lípidos, alcoholes triterpénicos, ésteres de esteroides y del glaucarrubol y glaucarrubina hasta 62% de aceite y un glicósido cristalino tóxico. La semilla contiene agua y grasa.

FARMACOLOGÍA:

Estudios farmacológicos demuestran que la infusión de hojas por vía oral produce broncoconstricción en conejos; el extracto acuoso por vía subcutánea en ratas ligadas del

píloro redujo el índice de ulceración, el número de úlceras, el volumen líquido gástrico y el ácido libre.

Saponina:

Glicósidos de origen vegetal que forman soluciones coloidales, productores de abundante espuma. Son sólidas de color claro, amargas y de gran poder hemolítico y muy tóxicas. Por hidrólisis se desdoblan en una azúcar y una sapogenina.

Tanino:

Sustancia de naturaleza polifenólica, se encuentra ampliamente repartidas en todo el reino vegetal excepto en hongos y algas, la acción que mejor los define es la astringencia.

Toxicidad:

Grado en el que una sustancia es toxica. Enfermedad que se produce como consecuencia de exposición a una toxina o a unas cantidades toxicas de una sustancia que no causa efectos