

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**TESIS**

---

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA Y  
TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO SECO ETANÓLICO AL  
70% DE LAS HOJAS DE *Tanacetum vulgare* “Palma Real” EN  
ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

---

**PRESENTADO POR:**

**BR. FABIOLA MILAGROS PEREZ CURI**

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL  
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**ASESORA:**

**DRA. MAGALY VILLENA TEJADA**

**CUSCO - PERÚ**

**2025**

# INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: .....  
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA Y TOXICIDAD AGUDA  
DEL EXTRACTO SECO ETANÓLICO AL 70% DE LAS HOJAS DE *Tanacetum*  
vulgare "Palma Real" EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Presentado por: ..... FABIOLA MILAGROS PEREZ CURI ..... DNI N° 72506810  
presentado por: ..... DNI N°: .....

Para optar el título profesional/grado académico de .....  
Químico Farmacéutico

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por .....2..... veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del *Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC* y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de .....3.....%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, .....5 de mayo..... de 2025.....

.....  
Firma

Post firma..... M. Zepeda Villanueva Tejada.....

Nro. de DNI..... 23984951.....

ORCID del Asesor..... 0000-0003-47-56-0251.....

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid: ..... 27259:455650288 ✓.....

# TESIS TANACETUM VULGARE 2025 DESPUÉS DEL GRADO.docx

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

## Detalles del documento

Identificador de la entrega

**trn:oid:::27259:455650288**

**127 Páginas**

Fecha de entrega

**4 may 2025, 8:41 p.m. GMT-5**

**30.442 Palabras**

Fecha de descarga

**4 may 2025, 9:02 p.m. GMT-5**

**171.182 Caracteres**

Nombre de archivo

**TESIS TANACETUM VULGARE 2025 DESPUÉS DEL GRADO.docx**

Tamaño de archivo

**22.5 MB**

## 3% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

### Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text
- Cited Text
- Small Matches (less than 20 words)

### Top Sources

- 3%  Internet sources
- 0%  Publications
- 1%  Submitted works (Student Papers)

### Integrity Flags

#### 1 Integrity Flag for Review

-  **Hidden Text**  
75 suspect characters on 1 page  
Text is altered to blend into the white background of the document.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

## **DEDICATORIA**

A Dios

Agradezco a Dios por encaminar y guiar cada etapa de mi vida, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad, aprendizajes, experiencias y las bendiciones recibidas durante el camino académico que hacen posible lograr esta meta.

A Mis Padres

Agradezco a mis padres, por su apoyo incondicional y sobre todo por ser mis modelos a seguir y permitirme tener una buena educación durante toda mi vida.

A Mis Hermanos

Gracias por ser una parte importante de mi vida, por apoyarme en todo y especialmente por vuestra paciencia, motivación y apoyo en mi camino hacia la graduación. Gracias por ser mis eternos compañeros y creer en mí cuando dudaba de mis capacidades.

A mis Tíos

Por su constante apoyo a lo largo de mi carrera académica. Vuestras palabras de aliento y vuestra presencia han sido un bálsamo en los momentos difíciles y una fuente de alegría en los momentos de celebración.

Fabiola Pérez Curi

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento:

- A los docentes de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, capaces de formar profesionales exitosos con carácter ético y humanístico.
- A mi asesora Dra. Magaly Villena Tejada, por su amabilidad, comprensión y motivación dejándome recurrir a su capacidad y experiencia en el campo científico para la ejecución de este trabajo.
- Y Finalmente a todas las personas que Dios puso en mi camino y me ayudaron a ser la persona que soy por sus consejos y amistad.

La tesista

## ÍNDICE

RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
ABREVIATURAS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	xii
CAPÍTULO I.....	1
GENERALIDADES.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	2
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	2
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1.4. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	3
1.6. HIPÓTESIS.....	4
CAPÍTULO II.....	5
MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	5
2.1. VISIÓN HISTÓRICA.....	5
2.2. ANTECEDENTES.....	6
2.2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES.....	6
2.2.2. ANTECEDENTES NACIONALES.....	9
2.2.3. ANTECEDENTES LOCALES.....	12
2.3. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS.....	14
2.3.1. <i>TANACETUM VULGARE</i> “PALMA REAL”.....	14
2.3.2. <i>EISENIA FOETIDA</i> “LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA”.....	19
2.3.3. RATÓN ALBINO MUS MUSCULUS.....	24
2.3.4. PARASITOSIS INTESTINAL.....	28
2.3.5. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LAS HELMINTOSIS.....	35
2.3.6. PRINCIPIOS DE LOS ENSAYOS BIOLÓGICOS DE TOXICIDAD.....	44
2.4. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	47
CAPÍTULO III.....	49
MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
3.1. MATERIALES BIOLÓGICOS.....	49

3.1.1. MATERIAL PARASITOLÓGICO .....	49
3.1.2. MATERIAL VEGETAL .....	49
3.2. MATERIALES E INSTRUMENTOS DEL LABORATORIO.....	49
3.2.1. EQUIPOS .....	49
3.2.2. MATERIALES DE CAMPO .....	49
3.2.3. MATERIALES DE LABORATORIO .....	50
3.2.4. REACTIVOS.....	50
3.2.5. OTROS MATERIALES .....	51
3.3. POBLACIÓN EN ESTUDIO .....	51
3.4. DISEÑO METODOLÓGICO .....	51
3.4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	51
3.4.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....	52
3.4.3. IDENTIFICACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	55
3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	57
3.6. TÉCNICAS PARA PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN .....	58
3.7. ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN .....	60
3.7.1. PREPARACIÓN DE LA PLANTA EN ESTUDIO .....	60
3.7.2. DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIHELMÍNTICO .....	62
3.7.3. DETERMINACIÓN LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA .....	65
CAPÍTULO IV .....	67
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	67
4.1. RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD .....	67
4.2. RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO.....	68
4.3. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD .....	69
4.4. RESULTADOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO .....	70
4.5. RESULTADOS DEL ESTUDIO FARMACOLÓGICO.....	72
4.6. RESULTADOS DE LA TOXICIDAD AGUDA POR VÍA ORAL (MÉTODO DE LORKE) .....	78
CONCLUSIONES.....	81
SUGERENCIAS .....	82
BIBLIOGRAFÍA.....	83
ANEXOS.....	95

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1: <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma real” .....	14
FIGURA N°2: <i>Eisenia Foetida</i> “lombriz roja californiana” .....	19
FIGURA N°3: Corte transversal de <i>Eisenia foetida</i> .....	20
FIGURA N°4: Partes del tubo digestivo de <i>Eisenia foetida</i> .....	20
FIGURA N°5: Sistema circulatorio de <i>Eisenia foetida</i> .....	21
FIGURA N°6: Ratón albino .....	24
FIGURA N°7: Sujeción con la ayuda de rejilla .....	28
FIGURA N°8: Estructura de los benzimidazoles .....	36

## ÍNDICE DE FLUJOGRAMA

FLUJOGRAMA N°1: Esquema de la investigación .....	59
FLUJOGRAMA N°2: Proceso de la actividad antihelmíntica .....	64

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N°1: Variación del tiempo de parálisis por efecto del extracto etanólico de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”. .....	75
GRÁFICO N°2: Variación del tiempo de muerte por efecto del extracto etanólico de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma real”. .....	77

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1: Grados de toxicidad de una sustancia según valores de DL50.....	46
TABLA N°2: Tabla para determinar las nuevas dosis en el segundo test de Lorke .....	46
TABLA N°3: Determinación de la DL50 en ratas según el método de Lorke.....	47
TABLA N°4: Operacionalización de las variables implicadas de estudio.....	55
TABLA N°5: Solventes para las pruebas de solubilidad .....	62
TABLA N°6: Pruebas del análisis fitoquímico cualitativo .....	62
TABLA N°7: Concentraciones usadas en las pruebas piloto.....	63
TABLA N°8: Determinación de la DL50 del extracto en ratones según el método Lorke.....	66
TABLA N°9: Resultado del porcentaje de humedad de las hojas <i>Tanacetum vulgare</i> “ <i>Palma real</i> ”.....	67
TABLA N°10: Resultado del porcentaje de rendimiento en hojas <i>de Tanacetum vulgare</i> “ <i>Palma real</i> ”.....	68
TABLA N°11: Resultado de la prueba de solubilidad del extracto etanólico al 70% de las hojas <i>de Tanacetum vulgare</i> “ <i>Palma real</i> ”.....	69
TABLA N°12: Resultado del análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanólico al 70% de las hojas <i>de Tanacetum vulgare</i> “ <i>Palma real</i> ”.....	70
TABLA N°13: Media y mediana de los resultados descriptivos de la parálisis y muerte de la actividad antihelmíntica en términos de según el tiempo (minutos) .....	72
TABLA N°14: Análisis de varianza (Anova) de la parálisis y muerte del efecto antihelmíntico del extracto etanólico 70% de <i>Tanacetum vulgare</i> “ <i>Palma Real</i> ” .....	73
TABLA N°15: Análisis de prueba post-hoc de tukey del tiempo promedio de parálisis con los grupos de tratamiento de las hojas <i>de Tanacetum vulgare</i> “ <i>Palma Real</i> ”.....	74
TABLA N°16: Análisis de prueba post-hoc de tukey del tiempo promedio de muerte con los grupos de tratamiento de las hojas <i>de Tanacetum vulgare</i> “ <i>Palma real</i> ”.....	76
TABLA N°17: Determinación de la toxicidad aguda del extracto etanólico al 70% de las hojas <i>de Tanacetum vulgare</i> “ <i>Palma real</i> ” fase I.....	78
TABLA N°18: Resultado del ensayo de la toxicidad aguda del extracto seco etanólico de las hojas <i>Tanacetum vulgare</i> “ <i>Palma real</i> ” fase II .....	79
TABLA N°19: Dosis letal media del extracto etanólico seco al 70% por vía oral en ratones. ....	80

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍA

FOTOGRAFÍA N°1: Ubicación en la Comunidad de Pumamarca .....	109
FOTOGRAFÍA N°2: Recolección de la parte aérea de la especie vegetal “Palma real” .....	109
FOTOGRAFÍA N°3: Selección, secado, molienda de las hojas seleccionadas en ambiente fresco y ventilado, tamizaje de las hojas .....	109
FOTOGRAFÍA N°4: Porcentaje de rendimiento.....	110
FOTOGRAFÍA N°5: Porcentaje de humedad.....	110
FOTOGRAFÍA N°6: Determinación de la solubilidad. ....	110
FOTOGRAFÍA N°7: Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios de extracto etanólico de “Palma real”.....	111
FOTOGRAFÍA N°8: Centro de lombricultura UNSAAC.....	111
FOTOGRAFÍA N°9: Recolección Y Selección de la <i>Eisenia foetida</i> .....	111
FOTOGRAFÍA N°10: Prueba preliminar del extracto etanólico a distintas concentraciones 0.5%, 2%, 4%, 6%, 8% y 10% en <i>Eisenia foetida</i> .....	112
FOTOGRAFÍA N°11: Proceso de pesado de las distintas concentraciones, de lavado de <i>Eisenia foetida</i> , y preparación de materiales.....	112
FOTOGRAFÍA N°12: Preparación del extracto.....	112
FOTOGRAFÍA N°13: Exposición de <i>Eisenia foetida</i> “lombriz roja californiana” frente al extracto etanólico de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma real”. ....	113
FOTOGRAFÍA N°14: Observación del estímulo en tubos de ensayos.....	113
FOTOGRAFÍA N°15: Peso de los ratones para la prueba de toxicidad aguda. ....	113
FOTOGRAFÍA N°16: Prueba de toxicidad, administración a ratones albinos <i>Mus musculus</i> en las dosis requeridas.....	114
FOTOGRAFÍA N°17: Primera fase de la prueba de toxicidad. ....	114
FOTOGRAFÍA N°18: Resultados de la prueba de la primera fase, donde se observa la muerte de cinco ratones.....	114
FOTOGRAFÍA N°19: Segunda de la prueba de toxicidad.....	115
FOTOGRAFÍA N°20: Resultados de la segunda fase de toxicidad.....	115

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue, “Evaluar la actividad antihelmíntica y la toxicidad aguda del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real” en animales de experimentación. Para ello, se obtuvo el extracto por maceración y posterior concentración. Este estudio fue de tipo experimental con un diseño cuasiexperimental.

Con el extracto etanólico de la especie *Tanacetum vulgare* “Palma Real”, se procedió a determinar el porcentaje de rendimiento, prueba de solubilidad y el análisis fitoquímico cualitativo. En cuanto a la determinación de la actividad antihelmíntica, se empleó la técnica de motilidad y supervivencia de la lombriz descrita por Avello, utilizando como modelo biológico in vitro a la *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana”. Para el estudio de la toxicidad aguda, se utilizó el método de Lorke en ratones albinos.

En los resultados, se obtuvo un porcentaje de humedad de 62,68% y un porcentaje de rendimiento de 36,94%. En la prueba de solubilidad, el extracto de *Tanacetum vulgare* “Palma Real” fue altamente soluble en solventes polares e insoluble en solventes apolares. En el análisis fitoquímico cualitativo, se encontró abundante cantidad de compuestos fenólicos, como flavonoides y taninos, azúcares reductores y ausencia de esteroides. En la actividad antihelmíntica se obtuvo tiempos de muerte de 129.33 min, 65.67 min, 26.33 min, y 19.67 min a las diferentes concentraciones de 0.5%, 2%, 4% y 6%, respectivamente, siendo efectiva en todos los casos, con diferencias significativas entre las diferentes dosis de tratamiento. Las concentraciones al 4% y 6% fueron las que obtuvieron mejores resultados en cuanto a la actividad antihelmíntica, sin ser más efectivas que los fármacos de referencia, como la piperazina al 10%, que presentan muerte en 11 min y albendazol al 2% presentan muerte en 15.17 min. Para la toxicidad aguda, la concentración letal media se encuentra sobre los 120 mg/kg.

En conclusión, el extracto seco de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real” posee actividad antihelmíntica a las diferentes concentraciones, mostrando una reducción del tiempo de exposición a medida que incrementa la concentración. La dosis al 6% mostró mayor actividad en un menor tiempo, similar al albendazol al 2%. Asimismo, el extracto presentó una leve a moderada toxicidad oral.

**Palabras claves:** Efecto antihelmíntico, concentración letal media, *Eisenia foetida*, *Tanacetum vulgare*.

## ABSTRACT

The objective of this research work was “To evaluate the anthelmintic activity and acute toxicity of the 70% ethanolic dry extract of *Tanacetum vulgare* “Royal Palm” leaves in experimental animals. For this purpose, the extract was obtained by maceration and subsequent concentration. This was an experimental study with a quasi-experimental design.

The ethanolic extract of the *Tanacetum vulgare* “Palma Real” species was used to determine the percentage yield, solubility test and qualitative phytochemical analysis. As for the determination of the anthelmintic activity, the technique of motility and survival of the worm described by Avello was used, using the *Eisenia foetida* “red California earthworm” as a biological model *in vitro*. For the study of acute toxicity, the Lorke method was used in albino mice.

In the results, a moisture percentage of 62.68% and a yield percentage of 36.94% were obtained. In the solubility test, the extract of *Tanacetum vulgare* “Royal Palm” was highly soluble in polar solvents and insoluble in apolar solvents. In the qualitative phytochemical analysis, abundant amounts of phenolic compounds, such as flavonoids and tannins, reducing sugars and absence of steroids were found. In the anthelmintic activity, death times of 129.33 min, 65.67 min, 26.33 min, and 19.67 min were obtained at the different concentrations of 0.5%, 2%, 4% and 6%, respectively, being effective in all cases, with significant differences between the different treatment doses. The 4% and 6% concentrations were the ones that obtained the best results in terms of anthelmintic activity, without being more effective than the reference drugs, such as piperazine at 10%, which presented death in 11 min and albendazole at 2%, which presented death in 15.17 min. For acute toxicity, the mean lethal concentration was above 120 mg/kg.

In conclusion, the dry extract of the leaves of *Tanacetum vulgare* “Royal Palm” has anthelmintic activity at different concentrations, showing a reduction of the exposure time as the concentration increases. The 6% dose showed greater activity in a shorter time, similar to albendazole at 2%. Also, the extract showed mild to moderate oral toxicity.

**Key words:** Anthelmintic effect, median lethal concentration, *Eisenia foetida*, *Tanacetum vulgare*.

## ABREVIATURAS

<b>ANOVA</b>	: Análisis de varianza
<b>Cm</b>	: Centímetro
<b>CYP</b>	: Citocromo P450
<b>DL50</b>	: Dosis letal media
<b>DPPH</b>	: 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo
<b>ELISA</b>	: Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	: Cloruro férrico
<b>G</b>	: Gramos
<b>H</b>	: Horas
<b>HPLC</b>	: Cromatografía líquida de alta resolución
<b>mL</b>	: Mililitro
<b>mm</b>	: Milímetros
<b>MS</b>	: Espectrometría de masas
<b>m.s.n.m</b>	: Metros sobre el nivel del mar
<b>mg/kg</b>	: Miligramos / Kilógramo
<b>NaCl</b>	: Cloruro de sodio
<b>OMS</b>	: Organización Mundial de la Salud
<b>OPS</b>	: Organización Panamericana de la Salud
<b>QP</b>	: Químicamente puro
<b>SENASA</b>	: Servicio Nacional de Sanidad Animal
<b>UV</b>	: Espectroscopía ultravioleta
<b>KOH</b>	: Hidróxido de potasio

## INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han desempeñado un papel crucial en el tratamiento de diversas enfermedades humanas. En la actualidad, las comunidades, especialmente en zonas rurales, continúan utilizando y preservando prácticas ancestrales que se han transmitido de generación en generación. Basados en estos saberes, la realización de estudios preclínicos y clínicos se presenta como una contribución fundamental para incorporar la medicina a base de plantas medicinales en la salud pública, garantizando su seguridad y eficacia (1).

En la actualidad, numerosos estudios científicos han demostrado las diversas propiedades farmacológicas de múltiples especies vegetales, atribuibles a la presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, saponinas y terpenos, etc. Estos compuestos bioactivos han mostrado una notable capacidad para interferir en los procesos fisiológicos de los nematodos intestinales, parásitos que afectan con mayor frecuencia a la población infantil y que constituyen un importante problema de salud pública. Las infecciones por nematodos pueden provocar alteraciones en el estado nutricional, aumentar la morbilidad y agravar el cuadro clínico, especialmente en niños, mujeres en edad fértil y adultos con ocupaciones de alto riesgo (2).

Asimismo, para garantizar un uso adecuado de las plantas medicinales con propiedades antihelmínticas, es esencial conocer en detalle la especie utilizada, así como los métodos de preparación, dosificación y posibles efectos tóxicos. Este conocimiento es crucial para maximizar los beneficios terapéuticos y minimizar riesgos, asegurando que el tratamiento natural sea efectivo y seguro para la salud.

El presente trabajo busca examinar las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”, las propiedades farmacológicas antihelmínticas de esta especie vegetal, así como su toxicidad para el tratamiento de enfermedades de parasitosis intestinal, lo que también pondrá en evidencia la riqueza cultural que imprime este proyecto y brindar opciones de tratamiento menos riesgosas y efectivas para desarrollar nuevas opciones médicas para la inclusión en el sistema de salud.

# CAPÍTULO I

## GENERALIDADES

### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las infecciones intestinales causadas por nemátodos ocurren cuando un parásito infecta a otro organismo, conocido como huésped, principalmente a través de la ingestión de huevos o larvas presentes en alimentos, agua o suelo contaminado, o por penetración directa de larvas a través de la piel. Estos dependen del huésped para su supervivencia, obtención de nutrientes y refugio (3).

La OMS estima que más de 1,5 mil millones de personas en todo el mundo están infectadas por nemátodos del suelo, afectando de manera desproporcionada a las poblaciones de países en desarrollo, donde las condiciones de saneamiento y el acceso a agua potable son deficientes (4). En América Latina, estudios recientes indican la prevalencia de infecciones por nematodos en poblaciones infantiles de zonas rurales oscila entre el 20% y el 30%, llegando a superar el 50% en comunidades con varias deficiencias higiénico-sanitarias. Entre los países con mayor incidencia se encuentran Perú (5).

En Perú, los estudios epidemiológicos reportan que en la selva se concentra la mayor cantidad en un 60%, mientras que, en la sierra y costa alcanzan entre 50% y 40% respectivamente (6), en áreas rurales la prevalencia de geo helmintiasis puede alcanzar cifras entre el 30% y el 50% en niños, lo cual tiene un impacto directo en el estado nutricional, el desarrollo físico y cognitivo de la población infantil (5).

En la región Cusco se han reportado elevados índices alcanzando prevalencias superiores al 45% en algunos distritos, lo que evidencia una situación crítica asociada a condiciones ambientales adversas, carencia de infraestructura sanitaria y prácticas de higiene inadecuadas que favorecen la transmisión de estos parásitos (7,8). Esta problemática afecta principalmente a la población infantil y tiene repercusiones significativas no solo en la salud física, sino también en el desarrollo cognitivo, el rendimiento escolar y el crecimiento adecuado, lo que a su vez incide negativamente en el desarrollo social y económico de las comunidades afectadas (9,10).

Para combatir estas infecciones la OMS estableció programas de desparasitación con el fin de mantener altos objetivos de control, donde uno de los estudios demostró niveles crecientes de resistencia al albendazol en nemátodos intestinales (*tricuriasis*, *ascariasis*, *anquilostomiasis*) y la frecuencia de reinfección cuatro meses después del tratamiento con albendazol (11).

Sin embargo, dentro de las terapias alternativas tenemos bien establecida y ampliamente reconocida a la fitoterapia siendo apreciada por su bajo costo y por los reducidos índices de toxicidad, lo que convierten a la medicina herbaria como una principal alternativa para la atención primaria de la salud (12).

Es así que la presente investigación destaca a la especie *Tanacetum vulgare* “*Palma Real*”, ya que se le atribuye muchas propiedades terapéuticas, una de ellas como antihelmíntica, puesto que al realizar la revisión bibliográfica solo se evidenció estudios sobre el uso tradicional y composición fitoquímica más no estudio experimental (13,14,15).

Debido a esta problemática se plantea la presente investigación cuyo propósito es comprobar la actividad antihelmíntica del extracto etanólico al 70% y determinar la concentración letal media in vitro de las hojas de *Tanacetum vulgare* “*Palma Real*” en *Eisenia Foetida* “*lombriz roja californiana*” utilizada como modelo biológico, de tal modo que sirva como antecedente para posteriores investigaciones y como sustancia alternativa para tratar la helmintiasis.

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Presentará actividad antihelmíntica y toxicidad aguda en animales de experimentación el extracto etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “*Palma Real*”?

## **1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la actividad antihelmíntica y la toxicidad aguda del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “*Palma Real*” en animales de experimentación.

### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Realizar las pruebas preliminares (porcentaje de humedad, el porcentaje de rendimiento, solubilidad y estudio fitoquímico cualitativo) del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”.
2. Demostrar la actividad antihelmíntica del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real” usando el modelo biológico de *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana”.
3. Establecer la dosis efectiva de la actividad antihelmíntica del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real” usando el modelo biológico de *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana”.
4. Determinar la dosis letal media del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real” en ratones albinos de la raza *Mus musculus*.

### **1.4. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN**

A pesar de que no se encontraron antecedentes de estudios farmacológicos similares al presente trabajo respecto a la especie *Tanacetum vulgare* “Palma Real”, ni una amplia base bibliográfica nacional sobre sus propiedades medicinales, estas limitaciones fueron superadas mediante la búsqueda y análisis de fuentes bibliográficas internacionales, así como el uso de estudios relacionados con especies botánicas del mismo género o con propiedades similares. Asimismo, se recurrió a información etnobotánica recopilada a través de entrevistas y registros locales que permitieron complementar el marco teórico y justificar la relevancia del estudio en el contexto actual.

### **1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

- **TEÓRICA**

La investigación científica de las plantas medicinales ha resurgido con mucho interés, por la urgencia sanitaria suscitada, ello debido a que muchos recurren aún a la medicina tradicional (16). El estudio pretende contribuir con el desarrollo del conocimiento científico para las enfermedades parasitarias en la búsqueda de una opción más para el control de helmintos a través de la evaluación potencial antihelmíntica y del mismo modo establecer su toxicidad de las hojas y tallos del *Tanacetum vulgare* “Palma real”, así darle el valor agregado puesto que en la actualidad no se reportan estudios de la mencionada especie vegetal siendo poco usada en nuestra región.

- **PRÁCTICA**

El estudio de investigación, tiene una importante aplicabilidad práctica, ya que sus resultados podrán ser ejecutados en el campo farmacéutico para su posible uso como terapia alternativa de tratamiento sostenible para la expulsión, reducción o muerte de nematodos logrando mantener el control y prevención de infecciones parasitarias, así como también ser una alternativa para la medicina veterinaria.

- **SOCIAL**

Al validar científicamente la eficacia de esta planta en estudio, podrían ofrecer una alternativa terapéutica más accesible y sostenible para las comunidades afectadas, contribuyendo así a la mejora de la salud pública y al reconocimiento del conocimiento tradicional en el ámbito médico. Además, los resultados de este estudio podrían sentar las bases para futuras investigaciones que busquen aislar compuestos activos y ofrecer terapias naturales.

## **1.6. HIPÓTESIS**

El extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real” presenta una actividad antihelmíntica in vitro equiparable a la de los fármacos de referencia, albendazol al 2% y piperazina al 10%, utilizando a *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana” como modelo biológico, y evidencia una alta toxicidad aguda en ratones albinos en condiciones experimentales.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

#### 2.1. VISIÓN HISTÓRICA

*Tanacetum vulgare* es una hierba perenne de la familia *Asteraceae*. Esta planta crece ampliamente en Europa y Asia. Introducido en América del Norte en el siglo XVIII, está bien adaptado a los climas del norte. Tradicionalmente, *T. vulgare* se ha utilizado como un compuesto antihelmíntico, tónico, emenagogo, antihipertensivo, carminativo, antiespasmódico, antidiabético, diurético y antiinflamatorio (17,18).

A pesar de su toxicidad, en el folclore irlandés del siglo XIX se documenta el uso de un té amargo preparado con flores de tanaceto (*Tanacetum vulgare*) como antihelmíntico tradicional para tratar infestaciones parasitarias. Asimismo, era común el consumo de tortas elaboradas con tanaceto durante la Cuaresma, debido a la creencia de que la ingesta frecuente de pescado en ese periodo favorecía la aparición de gusanos intestinales (19).

Hay diversos estudios científicos y ensayos clínicos en Australia, norte, centro y sur de Noruega donde se investigó la composición química de los aceites esenciales de la planta por cromatografía de gases y espectrometría de masas el cual indican un 93.7% y un 95% de porcentaje respectivamente en beta tuyona, teniendo propiedades vermífugas y presenta cierta toxicidad debido a su contenido en alcaloides (tanacetina) y por su aceite esencial que es rico en tuyona (principio tóxico) en determinadas dosis (20,21). Las lactonas sesquiterpénicas son un grupo de compuestos naturales presentes mayormente en la familia *Asteraceae*, existe un interés creciente en este tipo de moléculas debido a que presentan una diversidad de actividades biológicas, entre ellas la actividad antihelmíntica (22).

La parte utilizada medicinalmente son las sumidades floridas frescas o secas. Debido a que el aceite esencial contiene cetona terpénica, tuyona, tiene un efecto antihelmíntico en los perros. Se ha demostrado que la reducción de la dosis, en infusión, son eficaces para controlar los nemátodos. En dosis altas es irritativo de las mucosas (19).

## 2.2. ANTECEDENTES

### 2.2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

- **Klavina A., Keidane D., Ganola K. et al. Actividad antihelmíntica de extractos de *Tanacetum vulgare* (hojas y flores) contra nemátodos *Trichostrongylidae* en ovejas in vitro, Latvia, Europa, 2023 (23).**

**Objetivo:** Evaluar la actividad ovicida y larvicida in vitro de extractos de tanaceto (*Tanacetum vulgare*) que crecen en Letonia sobre nemátodos gastrointestinales (*Trichostrongylidae*) en ovejas. **Metodología:** Extrajeron por separado en etanol y acetona al 70%, 50% y 30%. Prepararon seis concentraciones de cada extracto de 500 mg/ml, 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml, 20 mg/ml y 10 mg/ml. Realizaron pruebas de eclosión de huevos in vitro y pruebas de desarrollo larval en microagar. **Resultados:** Los extractos de tanaceto tienen una fuerte actividad larvicida. El mayor porcentaje de inhibición de larvas para la mayoría de los extractos fue del 100%, pero la inhibición de huevos fue del 95,8% para la concentración de 200 mg/ml de acetona al 50% y del 93,3% para la concentración de 500 mg/ml de extractos de hojas de etanol al 50%. **Conclusión:** Todos los extractos de tanaceto tuvieron actividad ovicida y larvicida contra *Trichostrongylidae* en ovejas.

- **Sukele R., Lauberte L., Kovalcuka L. et al. Perfil químico y actividad antioxidante de *Tanacetum vulgare* de cultivo silvestre en Letonia, Letonia, Europa, 2023 (24).**

**Objetivo:** Caracterizar los compuestos fenólicos, analizar el contenido de tuyona y detectar la actividad antioxidante del extracto etanólico al 50% de *Tanacetum vulgare* en diferentes regiones de Letonia. **Metodología:** Utilizaron la maceración y el ensayo DPPH. **Resultados:** El porcentaje de rendimiento fue del 18 al 20% para las hojas y del 8 al 16% para las flores. El contenido de fenol total en los extractos, así como su actividad antioxidante fue diferente entre las regiones de recolección y las partes aéreas oscilando entre 134 y 218 mg GAE/g y 32 a 182 mg/L<sup>-1</sup>, respectivamente. Se detectó una variación notable en el contenido de tuyona, (0,4% hasta 6%). Los extractos de hojas de *Tanacetum vulgare* eran ricos en taninos (hasta un 19%). **Conclusión:** El extracto acuoso etanólico tienen actividad antioxidante.

- **Babich O., Larina V., Krol O., et al. Estudio in vitro de la actividad biológica de extractos de *Tanacetum vulgare*, Rusia, 2023 (25).**

**Objetivo:** Confirmar la presencia de sustancias biológicamente activas en *Tanacetum vulgare* y determinar el espectro farmacológico de actividad biológica de los componentes del extracto de *Tanacetum vulgare*. **Metodología:** Utilizaron el método de maceración mediante con una mezcla de solventes metanol, ácido trifluoroacético. Las sustancias biológicamente activas se determinaron mediante cromatografía líquida de alta resolución. **Resultados:** Se identificaron sustancias biológicamente activas como luteolin-7-glucósido (550,80 mg/kg), ácido clorogénico (5945,40 mg/kg) y ácido rosmarínico (661,31 mg/kg). Se determinaron sus estructuras. **Conclusión:** Los extractos de *Tanacetum vulgare* presentan actividad antioxidante y antibacteriana.

- **Borges A., Reinoso M., Espinosa R., et al. Actividad antihelmíntica “in vitro” de extractos acuosos obtenidos a partir de la biomasa comestible de *Dichrostachys cinérea* (L.) Wight et Arn, Santa clara, Cuba, 2020 (26).**

**Objetivo:** Evaluar la actividad antihelmíntica “in vitro” de extractos acuosos obtenidos a partir de las legumbres, rebrotes y hojas de plantas adultas. **Metodología:** Se obtuvieron tres soluciones madre, a partir de éstas se prepararon extractos acuosos mediante infusión, decocción y maceración, los extractos fueron diluidos a diferentes concentraciones (infusión y decocción al 10% y maceración al 10, 15 y 20%), para un total de 15 tratamientos (cinco en cada tipo de material vegetal). Se utilizaron además de cuatro controles: dos positivos y dos negativos. Se utilizó como modelo biológico la *Eisenia foetida* “lombriz de tierra”. Para cada tratamiento se añadieron 10 ml del extracto en cuestión y seis lombrices. Se midió el tiempo, en minutos, de ocurrencia de parálisis y muerte de las lombrices. **Resultados:** El efecto antihelmíntico de la infusión y decocción al 10% no mostró diferencias significativas entre los tiempos de ocurrencia de la muerte de las lombrices. La obtención de los extractos por maceración propició una mayor extracción de metabolitos secundarios, los cuales son responsables de la actividad antihelmíntica demostrada en el presente estudio. **Conclusión:** Todos los extractos mostraron actividad antihelmíntica “in vitro”. El extracto acuoso obtenido por maceración y diluido al 20% fue el más efectivo de los tres materiales vegetales estudiados.

- **Ivanescu B., Tuchilus C., Corciova A., et al. Actividad Antioxidante, Antimicrobiana y Citotóxica de *T. vulgare*, *T. corymbosum* y extractos de *T. Macrophyllum*” Cluj-Napoca, Romania; 2018 (27).**

**Objetivo:** Evaluar la actividad antioxidante, antimicrobiana y citotóxica de tres especies de *Tanacetum* de la flora rumana e identificar compuestos biológicamente activos en las especies analizadas. **Metodología:** La actividad antioxidante se evaluó por el método de barrido de radicales DPPH y reducción ensayo de potencia, se realizaron pruebas de susceptibilidad antimicrobiana a Bacterias grampositivas, bacterias Gram negativas y levaduras patógenas con el método disco por difusión y el ensayo citotóxico se investigó contra humanos línea celular de cáncer de cuello uterino HeLa y africano normal línea de células epiteliales de riñón de mono verde (Vero), los polifenoles se cuantificaron usando HPLC-UV-MS, el análisis de fitoesteroles fue realizado por el método LC-MS y la concentración de fenoles totales fue estimado por el método de Folin-Ciocalteu. **Resultados:** El *T. vulgare* y *T. corymbosum* mostró una buena acción antioxidante, en correlación con el contenido fenólico total de los extractos. Las especies exhibieron un efecto antimicrobiano contra las bacterias y hongos Gram-positivos probados, manifestaron una fuerte actividad citotóxica contra líneas celulares cancerosas (Hela) y sanas (Vero). Los análisis químicos permitieron la identificación de fitoesteroles y muchos flavonoides, algunos reportados por primera vez en las respectivas especies. **Conclusión:** Todos los extractos mostraron actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Candida parapsilosis*, y no tuvieron efecto sobre bacterias gramnegativas. Los extractos de *T. vulgare* y *T. corymbosum* mostraron una buena actividad antioxidante, la cual se correlacionó con el contenido de polifenoles y, especialmente, con el contenido total de flavonoides en el caso del extracto de *T. corymbosum*. Los extractos de las tres especies mostraron una alta citotoxicidad en las líneas celulares HeLa y Vero. El impacto en la viabilidad celular fue dependiente de la dosis, siendo las células normales más sensibles a la acción de los extractos probados; se observó un importante efecto citotóxico a dosis más bajas que en las células HeLa.

## 2.2.2. ANTECEDENTES NACIONALES

- **Vásquez Morales, Rosy Y. Actividad vermífuga in vitro del extracto etanólico de *Ruta graveolens* L. “ruda” y *Artemisia absinthium* L. “ajenjo”, Ayacucho, 2019 (28).**

**Objetivo:** Evaluar la actividad vermífuga in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Ruta graveolens* L. “ruda” y *Artemisia absinthium* L. “ajenjo” frente a *Eisenia foetida* “lombriz de tierra” y determinar la dosis letal media (DL50) de los extractos en estudio.

**Metodología:** Consistió en la evaluación de la actividad antiparasitaria in vitro según Gaiind y Budhiraj, modificado, empleando concentraciones de 40; 20; 10; 5; 2,5 y 1,25 mg/ml de extractos etanólicos de las plantas mencionadas anteriormente; agua destilada como control negativo; albendazol (10mg/ml) y mebendazol (25mg/ml) como controles positivos. **Resultados:** Muestran que el extracto etanólico de Ruda con concentraciones de: 40, 20 y 10 mg/ml no difieren significativamente y estos presentaron mayor actividad vermífuga con tiempos de mortalidad de 27.6; 36.4 y 52 min respectivamente a comparación del extracto de “ajenjo” y los fármacos de referencia: albendazol (10mg/ml) y mebendazol (25mg/ml) en tabletas. La dosis letal media (DL50) se estimó por un periodo de 1 hora excluyendo a los controles positivos, empleándose el análisis Probit, resultando que la DL50 de “ruda” fue 3,33 mg/ml, siendo menor a comparación de la DL50 de “ajenjo” que fue igual a 5,84 mg/ml. **Conclusión:** Se afirma que *Ruta graveolens* L. “ruda” y *Artemisia absinthium* L. “ajenjo” presentaron actividad vermífuga in vitro.

- **Robles Pretel, N. Actividad vermífuga in vitro del aceite de las semillas de *Cucurbita máxima* Duch “zapallo” y *Cucurbita ficifolia* Bouché “calabaza” en *Eisenia foetida* “lombriz de tierra”, Ayacucho 2015 (29).**

**Objetivo:** Evaluar la actividad vermífuga in vitro del aceite de las semillas de *cucúrbita máxima* Duch “zapallo” y *Cucurbita ficifolia bouché* “calabaza” en *Eisenia foetida* “lombriz de tierra”. **Metodología:** Para evaluar la actividad vermífuga se empleó como modelo biológico in vitro a *Eisenia foetida* “lombriz de tierra”, según la técnica de motilidad y supervivencia de la lombriz descrita por Avello, utilizando concentraciones de 1%, 5%, 25% y 50%, para ambas muestras, como control negativo y al levamisol al 10% como control positivo. **Resultados:** Los resultados muestran que las concentraciones al 25% y 50% de los aceites obtenidos, fueron los que obtuvieron mejores resultados en cuanto a la actividad vermífuga, pero no fueron más efectivos que el fármaco de

referencia Levamisol al 10% que presenta muerte de las lombrices a las 3,0 horas y 2,1 horas. El aceite de las semillas de *Cucurbita maxima* Duch "zapallo" a 50%, producen muerte de las lombrices en 9,42 horas y a 25% en 7,56 horas. Comparándolo con los resultados obtenidos de *Cucurbita ficifolia* Bouché "calabaza" que presenta muerte de las lombrices a 25% de concentración en 18,17 horas y 50% en 16,07 horas respectivamente, demostrando diferencia significativa entre los tratamientos. **Conclusión:** Se demostró que los aceites extraídos de las semillas de *Cucurbita máxima* Duch "zapallo" y *Cucurbita ficifolia* Bouché "calabaza" demostraron tener actividad vermífuga demostrando también que a 50% de concentración los aceites tienen mayor actividad vermífuga in vitro sobre *Eisenia foetida* "lombriz de tierra" comparada con el fármaco de referencia al 10%.

- **Huayanay Palomino, Franco J. Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto seco etanólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". Ayacucho, 2015 (30).**

**Objetivo:** Determinaron la actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto seco etanólico de las flores de *Tanacetum parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría". **Metodología:** Empleando la técnica in vitro del DPPH y el modelo in vivo de edema plantar inducida por carragenina en ratas Wistar, la muestra fue recolectada en la ciudad de Huancayo, región Junín. Se ensayó concentraciones de 1, 2 y 3% en ungüentos base como vehículo semisólido usando el estándar de referencia diclofenaco gel 1%. **Resultados:** El extracto seco etanólico contiene fenoles y taninos, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, triterpenos y/o esteroides y aminoácidos. La concentración de extracto seco etanólico de las flores de *T. parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" con mayor actividad antiinflamatoria fue al 3%, con un porcentaje de desinflamación del 84.6% porcentaje de inflamación de 15.4%. La concentración con mayor actividad antioxidante fue a 100 ug/ml, con un porcentaje de 63,9%. **Conclusión:** El extracto seco etanólico de las flores de *T. parthenium* L. Sch. Bip. "santa maría" tiene poca actividad antioxidante in vitro, pero buena actividad antiinflamatoria in vivo estadísticamente similar al diclofenaco por lo que constituyen una fuente potencial para el tratamiento antiinflamatorio tópico.

- **Chávez Gonzales, Luz M; Gutiérrez Condori, Darwin A. Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda del extracto seco etanólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L. ‘Palma real’, Lima, 2013 (14).**

**Objetivo:** Evaluaron la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg y determinaron algún metabolito de naturaleza alcaloide de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”. **Metodología:** Se realizó una extracción hidroalcohólica de las hojas frescas para la prueba de solubilidad, análisis fitoquímico, análisis cromatográfico en capa fina, análisis espectroscópico y el estudio toxicológico utilizando el método de Betancourt, modelo de toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg, en ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53. **Resultados:** El extracto seco etanólico de las hojas frescas de *T. vulgare* fue soluble en solventes polares, hubo presencia de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, carbohidratos, azúcares reductores, esteroides y grupo amino libre, en el análisis cromatográfico se observó la presencia de una fracción de naturaleza alcaloide, presentó las longitudes de onda de 261 y 308 nm, se observó grupo amino, carbonilo y aromático; los cortes anatomopatológicos, evidenciaron daño en el hígado y en el riñón, se observó una toxicidad muy leve en el estómago; sin sufrir daño en el pulmón. **Conclusión:** Las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”, presentan metabolitos de naturaleza alcaloide y actividad nociva en ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53 a dosis límite de 2000 mg/kg en los órganos perfundidos riñón e hígado; sin embargo, se evidenció efecto nocivo muy leve en el estómago.

- **Prado, Palomino; Pablo, Rinaldo; Efecto antiespasmódico del extracto seco etanólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas Wistar, Ayacucho, 2013” (31).**

**Objetivo:** Determinaron el efecto antiespasmódico del extracto seco etanólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" en intestino de ratas wistar. **Metodología:** Las hojas fueron recolectadas en el distrito de Uripa, provincia de Chincheros, región Apurímac; el tipo de investigación fue experimental. Para evaluar el efecto antiespasmódico del extracto seco etanólico se empleó el modelo in vivo, del tránsito intestinal en ratas utilizando carbón activado como indicador de la motilidad intestinal. **Resultados:** Se reportó la presencia de catequinas, lactonas, triterpenoides-esteroides, saponinas, fenoles y taninos, quinonas, flavonoides y alcaloides. El porcentaje de tránsito intestinal obtenido con la loperamida y atropina fue de 21,9 y 17,8%; mientras

que con los extractos a 100, 200 y 400 mg/kg fue de 56,8; 42,6 y 24,5%, respectivamente, lo que significa que el extracto tiene efecto antiespasmódico. El porcentaje de inhibición de la motilidad obtenido con la loperamida y atropina fue de 73,8 y 79,7%; mientras que, con los extractos a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg fue 33,3; 50,0 y 71,4%, respectivamente. **Conclusión:** El extracto seco etanólico de las hojas de *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. "santa maría" posee efecto antiespasmódico y no mostró signos ni síntomas de toxicidad a la dosis 2000 mg/kg.

### 2.2.3. ANTECEDENTES LOCALES

- Solís L., Solís J., Aragon L., et al. **Composición química y actividad antioxidante de aceites esenciales de *Tanacetum vulgare* y *Mentha x piperita* L. var. *vulgaris* cultivados en Cusco, Perú 2018** (15).

**Objetivo:** Determinaron la composición química y actividad antioxidante de los aceites esenciales de las hojas de *T. vulgare* "tansi" y *Mentha x piperita* L. var. *vulgaris* cultivados en Cusco. **Metodología:** Las muestras se extrajeron mediante hidrodestilación con un aparato Clevenger. Los análisis se hicieron por cromatografía de gases con detectores de llama de hidrógeno y selectivo de masas. **Resultados:** Se identificaron cincuenta y setenta compuestos en los aceites esenciales de *T. vulgare* y *M. x piperita*, respectivamente. En el aceite esencial de *T. vulgare*, los monoterpenos oxigenados fueron la clase más representada de compuestos volátiles (92,6%), con trans-tuyona como mayoritario. Esta composición química sugiere que la planta *T. vulgare* analizada pertenece al quimotipo trans-tuyona más común. En el aceite esencial de *M. x piperita*, los monoterpenos oxigenados (76,7%) fueron la clase mayoritaria; entre ellos el mentol (35,4%), acetato de mentilo (19,6%) y mentona (7,1%). La capacidad de secuestrar radicales fue evaluada en los aceites esenciales mediante el método del 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). Ambos aceites esenciales fueron capaces de reducir los radicales DPPH y esta actividad fue dosis dependiente. Sin embargo, *Mentha x piperita* tiene mayor actividad antioxidante que el aceite esencial de *T. vulgare*. **Conclusión:** El aceite esencial de *T. vulgare* tiene menor actividad antioxidante que *Mentha piperita*, pero ambos tienen uso potencial en la industria alimentaria, cosmética o farmacéutica.

- **Tomaylla Cruz, C. Composición Química y efecto insecticida de los aceites esenciales de *Tanacetum vulgare* Linnaeus y *Mentha x piperita* var. *Vulgaris* (Ehrh) Briq sobre *Epitrix spp*”, Cusco, Perú, 2016 (32).**

**Objetivo:** Determinaron las propiedades fisicoquímicas, la composición química y el efecto insecticida de los aceites esenciales de *T. vulgare* Linnaeus y *Mentha x piperita* var. *Vulgaris* (Ehrh.) Briq., sobre *Epitrix spp*. **Método:** Las muestras fueron extraídas por el método de destilación por arrastre con vapor de agua - inyección de vapor, la composición química se determinó por cromatografía de gases - espectrometría de masas y el efecto insecticida fue mediante el método de impregnación en las hojas de la papa. **Resultado:** El porcentaje de extracción de los aceites esenciales obtenido de las especies *T. vulgare* y *M. piperita* var. *Vulgaris*, fueron de 0.35% y 0.73% respectivamente. El aceite esencial de *T. vulgare* en su composición muestra tuyona 82.2%, sabineno 3%, Bicyclo (3,1,0) hexan-3-ona 2,1% y otros componentes en concentraciones menores, este aceite esencial presenta efecto insecticida sobre *Epitrix spp* en recipiente sin aireación a una CL50 de 2,79% con mortalidad del 100% a la concentración de 5% a 2 horas de exposición y en recipiente con aireación no se logró el 100% de mortalidad a ninguna concentración, hasta las 48 horas de exposición; su efecto insecticida sobre *Epitrix spp* en recipiente sin aireación presenta una CL50 de 2,16%, con mortalidad del 100% a la concentración de 5% a 12 horas de exposición y en recipiente con aireación no se logró el 100% de mortalidad a ninguna concentración, hasta las 48 horas de exposición. **Conclusión:** El *T. vulgare* como el de *Mentha x piperita* var. *Vulgaris* han demostrado tener efectos insecticidas contra *Epitrix spp*. Estos aceites esenciales contienen compuestos químicos que actúan como neurotoxinas y repelentes, lo que resulta en la muerte y la disuasión de los insectos.

- **Quispe Dino, Zapata Marcia; Determinación de los componentes mayoritarios y toxicidad letal media (*Artemia Salina*) del aceite esencial *Tanacetum vulgare* L. *Palma real* (Sin Floración), Cusco, 2004 (33).**

**Objetivo:** Obtener, caracterizar, determinar los componentes del aceite esencial de *Tanacetum vulgare* “*Palma real*”, que no presenta floración en la región y evaluar la toxicidad letal media en *Artemia Salina* Leach. **Método:** Extracción por destilación de arrastre de vapor. **Resultado:** Obtuvo un porcentaje de humedad de 71.42%, un porcentaje de rendimiento de 0,22%, obtuvo grupo funcional correspondiente a la tuyona,

obtuvo una absorbancia de 0.8148 a 240 nm en el espectro ultra violeta, la determinación de espectro de masa indica que el aceite contiene un 91,13% de tuyoona, también encontró el componente eucaliptol, teniendo una alta bioactividad DL50 de 1.8473. **Conclusión:** La planta *Tanacetum vulgare* puede ser utilizada como una materia prima para la obtención de tuyoona, el aceite esencial fue tóxico en proporciones elevadas.

## 2.3. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS

### 2.3.1. *TANACETUM VULGARE* “PALMA REAL”

FIGURA N°1: *Tanacetum vulgare* “Palma real”



FUENTE: LONGUEFOSSE JL & NOSSIN E, 2017 (17).

#### 2.3.1.1. IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

REINO	: <i>Plantae</i>
DIVISIÓN	: <i>Magnoliophyta (=Dicotyledoneas)</i>
CLASE	: <i>Magnoliopsida</i>
SUBCLASE	: <i>Asteridae</i>
ORDEN	: <i>Asterales</i>
FAMILIA	: <i>Asteraceae</i>
SUBFAMILIA	: <i>Asteroideae</i>
TRIBU	: <i>Anthemidaea</i>
GÉNERO	: <i>Tanacetum</i>
ESPECIE	: <i>Tanacetum vulgare</i> Linnaeus.
N. VULGAR	: “Palma Real”

FUENTE: HERBARIO VARGAS CUZ DE LA UNSAAC

### 2.3.1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Plantas aromáticas perennes. Rizoma hasta de 10 mm de diámetro, horizontal, ramificado-estolonífero, con tallos floríferos numerosos que suelen formar rodales de varios metros cuadrados de extensión (13).

Tallos de 30-150 cm, más o menos lignificados en la base, erectos, simples o con alguna ramificación en la parte apical, cilíndricos, estriados, esparcidamente pubérulos, con tricomas hasta de 0,5 mm, hialinos, la mayor parte aplicados al tallo (13).

Hojas de 4-10 x 2,5-6 cm, numerosas (hasta 15-20), más largas que los entrenudos, de patentes a erecto-patentes, de contorno más o menos anchamente elíptico-lanceolado, 2 pinnatipartidas o 2 pinnatisectas (salvo las apicales, pinnatisectas), sésiles o subsésiles, densamente glandulíferas, con abundantes glándulas sésiles en el haz y en el envés y esparcidamente pubérulas por el envés, sobre los nervios; raquis hasta de 2 mm de anchura, en general dentado; segmentos de primer orden 15-23, hasta de 55 x 15 mm, los de la parte basal menores que el resto, de contorno lanceolado, con margen de irregularmente dentado a más o menos profundamente hendido, con dientes agudos (14).

Inflorescencias de 4-12 cm de diámetro, integradas por 10-40 capítulos, densas, de superficie más o menos plana o plano-convexa. Capítulos de 7-10 mm de diámetro, heterógamos y disciformes; pedúnculos de 0,8 -5 cm, algunos con brácteas hasta de 25 mm, lineares o linear-lanceoladas, en ocasiones dentadas o pinnatífidas. Involucro de 5-6 x 5 -10 mm, anchamente campanulado; brácteas externas de  $1,5^{-3} \times 0,3^{-1}$  mm, herbáceas, ovado-trianguulares; brácteas medias e internas de 3-4 x 1-1,8 mm, ovadoelípticas, con el margen anchamente escarioso en la mitad distal y el ápice pardo oscuro, redondeado, irregularmente fimbriado, esparcidamente pelosas. Receptáculo de 2,5-3,5 x 2-2,5 mm, convexo desde el inicio de la antesis (34).

Flores femeninas externas, pequeñas, de igual longitud que las flores, filiformes, subligulares, menos distintas, con brácteas cortas, de 3 dientes en el ápice, tamaño (0,4) 0,5-1 x 0,3 - 0,5 mm, amarillas. Flores muchas de 4-5 mm, dientes de color amarillo oscuro de 0,3-0,5 x 0,4 mm, tubo de 2-2,8 x 0,6-0,8 mm, con apéndices apicales de 0,2-0,3 mm. Aquenios de 1,7-2 x 0,7-0,9 mm, obovoides, con 4-6 costillas longitudinales y glándulas dispersas en los espacios intercostales, de color pardo grisáceo claro. Vilano en corona de 0,2-0,4 mm, subentera o irregularmente crenada. Florece de julio a octubre (34).

### **2.3.1.3. HÁBITAT Y DISTRIBUCIÓN**

*Tanacetum vulgare* “palma real”, es una especie nativa de Europa y de Asia, distribuida por sus propiedades medicinales y cultivada como planta ornamental, luego naturalizada en riberas de ríos, prados y bordes de caminos. Actualmente, la palma real se distribuye en casi todo el mundo, especialmente por toda Europa, Norteamérica y Sudamérica excepto en la región mediterránea (14).

En España solo se encuentra en los valles pirenaicos y cantábricos. En la montaña fue documentada en 1936 en el condado de plata de arco, es frecuente encontrar en los bosques de la carretera, en los lugares templados, húmedos (14).

En el Perú, se cultiva como planta de adorno y medicinales en toda la región altoandina del Perú, entre 3500 – 4000 m.s.n.m. Prefiere suelos arcillosos, pero logra vegetar en otros tipos de suelos y aún en terrenos abandonados, como bordes de caminos, taludes de carreteras, cercos, regiones escarpadas y tetraplenes (14,35).

El *Tanacetum vulgare* (sin floración) se encuentra distribuida en el departamento del Cusco, como una planta herbácea que prefiere lugares húmedos y con sombra, surgen del rizoma numerosos tallos que se ramifican en la parte superior a modo de umbrela y que alcanzan una altura comprendida entre los 20 - 40 cm. Con propiedades curativas por sus componentes de importancia como reynosina, tanino y una sustancia amarga. Las hojas son pinnadas y las cabezuelas son de color amarillo. Tiene una altitud de 3350 - 3750 m.s.n.m. Recomiendan su uso como antihelmíntico en el tratamiento contra áscaris y oxiuros en infusión de 30 g en un litro de agua, se usa en baños locales y lavados contra la ascariosis. Debido a la presencia de reynosina se considera como un alérgeno potencial. Es tóxico a dosis mayores de la indicada (33,36).

### **2.3.1.4. CICLO VEGETATIVO**

Biotipo característico de las comunidades antropocénicas del país (33).

ÉPOCA DE FLORACIÓN: A lo largo de todo el año.

ÉPOCA DE FRUCTIFICACIÓN: A lo largo de todo el año.

FORMA DE PROPAGACIÓN: Semillas y vegetativa.

### **2.3.1.5. USOS MEDICINALES**

En la medicina herbal esta planta contiene tanacetina, tanacetone, glucósidos, ácido gálico, tartrato, citrato, mucílago, taninos, flavonoides y un aceite esencial que posee un 70% de tuyona, alcanfor, borneol y un terpeno, tiene las siguientes características:

- Antihelmíntico: Anestesia las lombrices intestinales (nematodos), pero no las mata. La infusión de las flores es antihelmíntica contra *Áscaris* y *Oxiuros*, se utiliza también con soluciones etanólicas o tinturas, como antihelmíntico contra los parásitos intestinales y flatulencia intestinal (14).
- Emenagogo: Provoca y regulariza la menstruación, el aceite aplícalo sobre la piel, combate el reumatismo (14).

El tanaceto por el fuerte aroma de alcanfor que se desprende de las hojas y especialmente las flores, se utiliza ampliamente como: plaguicida biológico para el cuidado del jardín; es eficaz para gusanos cortadores, clara de col y el gusano de la frambuesa, su infusión mezclado en partes iguales con el macerado de la cola de caballo es excelente contra la oxidación y el moho polvoriento; también se utiliza como un repelente natural para las moscas y otros insectos voladores y como remedio contra las cucarachas (14).

Precauciones: Altas dosis pueden producir vómitos y convulsiones. No se debe administrar a las embarazadas, ni en madres que lactan, ni en niños menores de seis años (14).

### **2.3.1.6. IMPORTANCIA DEL CULTIVO**

El cultivo de plantas medicinales es crucial para la salud pública, la economía rural, la sostenibilidad ambiental y la preservación cultural, además de ofrecer una fuente accesible y natural de tratamientos preventivos y terapéuticos. Actualmente son objeto de estudio en la medicina moderna por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas, anticancerígenas y más (37,38).

### **2.3.1.7. PROCESAMIENTO AGROINDUSTRIAL**

Si el producto se va a vender seco, el secado constituye una etapa crítica en el procesamiento de plantas medicinales y aromáticas, ya que influye directamente en la conservación de sus propiedades químicas y organolépticas. Para preservar la calidad del material vegetal, el secado debe realizarse a la sombra, en un espacio bien ventilado, evitando la exposición directa a la radiación solar que puede provocar la degradación de los principios activos, así como alteraciones en el color y aroma característicos. Asimismo, es fundamental proteger el material de la humedad, dado que la presencia de agua puede favorecer el oscurecimiento y el deterioro del producto, además de propiciar el desarrollo de microorganismos que comprometen su inocuidad (37).

En cuanto al manejo, el tratamiento con productos como Tanaceto debe aplicarse preferentemente durante las primeras horas de la mañana, cuando las temperaturas son moderadas. Esto se debe a que las altas temperaturas durante el mediodía y la tarde pueden provocar la pulverización o evaporación rápida del producto, disminuyendo su efectividad en el control de plagas y enfermedades (38).

Los procesos de poscosecha comprenden varias etapas fundamentales que garantizan la calidad y estabilidad del producto final. La recolección debe efectuarse en el momento óptimo de madurez, procurando minimizar daños mecánicos que puedan afectar la integridad de las partes vegetales de interés. Posteriormente, el secado se realiza bajo condiciones controladas, generalmente a temperaturas moderadas (entre 30 y 40 °C, según la especie), en ambientes sombreados y bien ventilados, lo que permite una deshidratación uniforme y rápida, preservando los compuestos bioactivos y evitando la proliferación de agentes contaminantes (38).

El trillado es la etapa en la que se separan las partes útiles de la planta de los tallos u otros residuos no deseados, facilitando la posterior limpieza. Finalmente, la limpieza o zarandeo elimina impurezas como polvo, tierra, insectos o material vegetal deteriorado, asegurando un producto final limpio y apto para su uso en la elaboración de productos medicinales, cosméticos o alimenticios (39).

En conjunto, estas prácticas poscosecha son esenciales para mantener la calidad, estabilidad y vida útil del material vegetal, reducir pérdidas económicas y garantizar la inocuidad del producto. Por lo tanto, un manejo adecuado durante esta fase es determinante para el éxito en la cadena productiva de plantas medicinales y aromáticas (38).

### 2.3.2. *EISENIA FOETIDA* “LOMBRIZ ROJA CALIFORNIANA”

FIGURA N°2: *Eisenia Foetida* “lombriz roja californiana”



FUENTE: DOMÍNGUEZ J, PÉREZ M., 2010 (40).

#### 2.3.2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA / AGENTE ETIOLÓGICO.

REINO	: <i>Animalia</i>
PHYLUM	: <i>Annelida</i>
CLASE	: <i>Clitellata</i>
SUBCLASE	: <i>Oligochaeta</i>
ORDEN	: <i>Haplotaxida</i>
FAMILIA	: <i>Lumbricidae</i>
GÉNERO	: <i>Eisenia</i>
ESPECIE	: <i>E. foetida</i>

FUENTE: SAVIGNY,1826 (40).

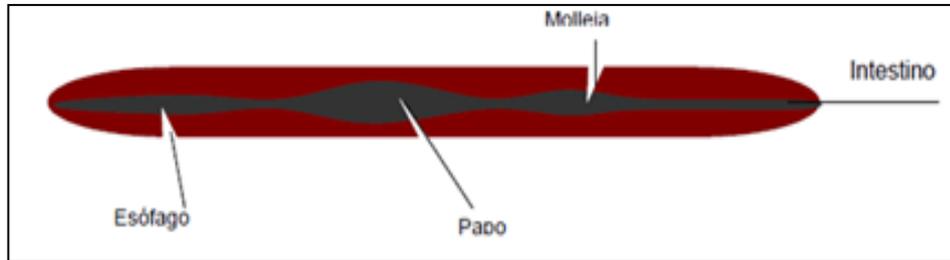
#### 2.3.2.2. DEFINICIÓN

Es de color rojo oscuro. Respira a través de tu piel. Mide de 6 a 8 centímetros de largo, de 3 a 5 milímetros de diámetro y pesa alrededor de 1 gramo. Está equipado con 5 corazones y 6 pares de riñones. No tolera la luz solar y los gusanos expuestos a ella mueren en cuestión de minutos. Vive aproximadamente unos 15 años y puede llegar a producir, bajo ciertas condiciones, hasta 1300 lombrices al año (40).

### 2.3.2.3. MORFOLOGÍA

La pared del cuerpo está constituida de afuera hacia dentro por:

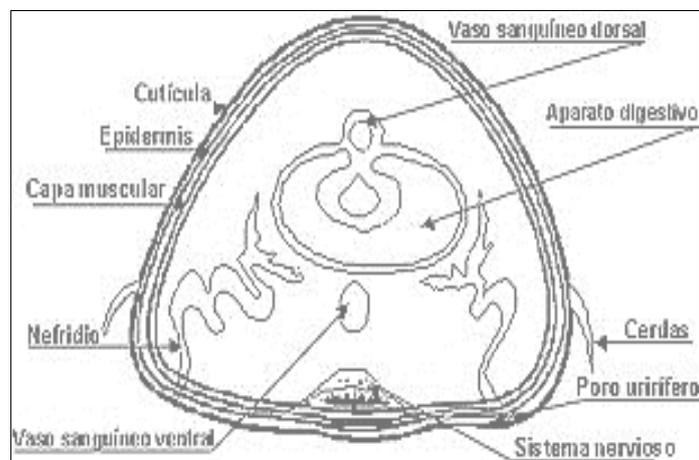
**FIGURA N°3: Corte transversal de *Eisenia foetida***



FUENTE: SOMARRIBA RJ, GUZMÁN F. 2004 (41).

- **Cutícula:** Lámina quitinosa muy delgada, estriada, cruzada por fibras (42).
- **Epidermis:** Capa de tejido epitelio simple con células glandulares que están encargadas de producir mucus y sustancias cerosa (42).
- **Capas musculares:** El exterior es redondo y el interior longitudinal (42).
- **Peritoneo:** Capa más interna que bordea la cavidad corporal del gusano (42).
- **Celoma:** Es una cavidad que contiene líquido celómico que se extiende a lo largo del animal y rodea el tubo digestivo. Si existe peligro, se drena este líquido (42).
- **Tubo digestivo:** Ocupa casi toda la parte central. Este canal va desde la boca hasta el ano. En la parte posterior de la boca encontramos la cavidad bucal y las células palatinas que en ella se encuentran (42).

**FIGURA N°4: Partes del tubo digestivo de *Eisenia foetida***



FUENTE: DOMÍNGUEZ J, PÉREZ M. 2010 (40).

La faringe une la boca al esófago actuando como una bomba de succión.

El esófago comienza en la garganta y se extiende hasta el estómago y el rumen, descomponiendo los alimentos para la digestión. Detrás de la protuberancia es donde los intestinos comienzan a digerir y absorber los alimentos, revelando sustancias como la glucosa y la sacarosa (43).

- **Sistema Circulatorio:** Entre el comienzo del sistema digestivo y la pared del cuerpo hay pares de vasos sanguíneos o "corazones" contráctiles que mueven la sangre, como se muestra en el diagrama de la página siguiente. La sangre absorbe oxígeno y alimentos de los intestinos, elimina los desechos solubles de los riñones y libera dióxido de carbono a través de la piel (43).

**FIGURA N°5: Sistema circulatorio de *Eisenia foetida***



FUENTE: DOMÍNGUEZ J, PÉREZ M. 2010 (40).

- **Sistema Respiratorio:** Es muy primitivo, no existen pulmones verdaderos, pero el oxígeno pasa por la pared del cuerpo, de donde es retirado por la sangre (43).
- **Sistema Excretor:** La excreción se lleva a cabo mediante órganos especiales, los riñones. Parecen cuernos de vaca. El extremo más abierto se sumerge en la cavidad corporal, continúa hacia el tracto urinario y se abre hacia el orificio uretral. Las células internas tienen cilios y su movimiento permite que la orina sea expulsada de la cavidad corporal (43).
- **Sistema Nervioso:** Tipo ganglios en escalera mecánica con dos ganglios dorsales superiores en el esófago (los ganglios cerebrales están conectados a la comisura transversal). De estos surgen dos bandas laterales dirigidas hacia atrás y hacia abajo a otros dos ganglios del cordón hipogástrico, también conectados con la comisura transversal. La instalación parece una escalera (43).

- **Visión:** La epidermis, especialmente en la parte frontal de la boca, contiene una gran cantidad de células fotorreceptoras. Son el órgano visual primitivo del gusano. Los gusanos evitan la luz, no pueden detectar la luz roja y la luz ultravioleta les provoca la muerte (43).
- **Segmentos:** Los gusanos han desarrollado los siguientes sistemas: nervioso, circulatorio, digestivo, excretor, reproductivo y muscular. El aspecto más destacable es que las partes de su cuerpo también se extienden hacia el interior. Tienen de 40 a 120 segmentos o anillos, similares a los animales superiores, y tienen diferentes funciones según su ubicación. La primera parte incluye la boca y el prestomium, que son lóbulos que cubren la boca y actúan como cuñas que rompen lo que el animal encuentra al deslizarse (43).

#### **2.3.2.4. CICLO DE VIDA**

El ciclo de vida comienza con los huevos. Las lombrices jóvenes se desarrollan dentro de los huevos hasta que están listas para eclosionar. El huevo está encerrado en una envoltura llamada capullo. La cantidad de huevos dentro de un capullo puede variar entre especies, oscilando entre 1-20 de las especies de lombrices de tierra de la familia (44).

Etapas:

1. Los capullos suelen tener forma de "limón", pero la forma específica varía según la especie. Además, el tiempo que tardan en eclosionar varía mucho no sólo según la especie, sino también según las condiciones ambientales. Por ejemplo, en algunas especies, los capullos pueden eclosionar más rápidamente en condiciones más cálidas que en condiciones más frías, mientras que otras especies pueden "esperar" en el suelo a que se produzcan condiciones de sequía indeseables, como la etapa de formación de capullos (40).
2. Los críos parecen mini lombrices de tierra, más pequeñas y más pálidas. La gente los confunde fácilmente con las lombrices de tierra, que son insectos diminutos y segmentados estrechamente relacionados con las lombrices de tierra. Cuando la cría come y crece, adquiere el mismo color que la lombriz adulta (40).
3. Las lombrices de tierra juveniles se parecen mucho a los adultos, pero les falta la silla (o clitelo) (40).
4. Las lombrices de tierra adultas (o sexualmente maduras) se pueden reconocer fácilmente a través de la presencia de la silla de montar. Son organismos

hermafroditas, lo que significa que cada lombriz de tierra tiene órganos de reproducción sexual masculinos y femeninos (40).

5. La reproducción sexual involucra dos lombrices. Las dos lombrices de tierra producen un tubo y se agarran entre sí utilizando la tubercula pubertatis. El tubo proporciona el entorno adecuado para que las dos lombrices de tierra intercambien esperma, y cada una almacena el esperma de su pareja para usarlo más tarde. Debido a que ambas desempeñan la función de macho y hembra durante la reproducción sexual, se las conoce como hermafroditas. Después de este intercambio de esperma, las lombrices de tierra se separan. Algunas especies también pueden realizar la reproducción asexual. Esto involucra a una sola lombriz de tierra que produce crías a partir de huevos no fertilizados y se conoce como partenogénesis (40).
6. Se forma una vaina de moco alrededor del clitelo y se mueve a lo largo de la lombriz de tierra hasta que sale de la cabeza. A lo largo de este viaje, recoge los óvulos y el esperma de la lombriz con la que se apareó. Este moco forma el capullo y la fertilización del huevo ocurre dentro del capullo. A medida que el animal cava la galería, incorpora tierra y materia orgánica, humedeciéndola previamente con enzimas para ablandar los tejidos vegetales (40).

#### **2.3.2.5. HÁBITAT**

Esta especie se encuentra comúnmente dentro de la materia orgánica en descomposición o en estiércol muy húmedo, cerca de la superficie del suelo. Nativo de Europa, pero se ha introducido en todos los demás continentes (40).

#### **2.3.2.6. ALIMENTACIÓN**

Es muy voraz, cada individuo ingiere diariamente una cantidad de material orgánico equivalente a su propio peso (aproximadamente 1g en individuos adultos) (44).

### 2.3.3. RATÓN ALBINO MUS MUSCULUS

FIGURA N°6: Ratón albino



FUENTE: BIOTERIO CENTRAL-CNPB DEL INS 2007 (45).

#### 2.3.3.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

NOMBRE CIENTÍFICO	: <i>Mus musculus</i>
DOMINIO	: <i>Eukaryota</i>
REINO	: <i>Animalia</i>
FILO	: <i>Chordata</i>
CLASE	: <i>Mammalia</i>
ORDEN	: <i>Rodentia</i>
FAMILIA	: <i>Muridae</i>
GÉNERO	: <i>Mus</i>
ESPECIE(s)	: <i>M. musculus</i>

FUENTE: LINNAEUS, 1758 (45).

#### 2.3.3.2. CEPA

Población de una misma especie, descendiente de un mismo origen; conservada por medio de una serie de pasos o cultivos (45).

- RATON BALB/c (*Mus musculus*)
- RATON AKR (*Mus musculus*)
- RATON ICR (*Mus musculus*)
- RATON NIH (*Mus musculus*) Todas estas cepas se usan ampliamente en estudios de toxicología, farmacología y en pruebas de seguridad.

### **2.3.3.3. SISTEMA REPRODUCTIVO**

La hembra es poliéstrica continua. Tras el parto, a las 14 - 28 horas se produce un estro fértil, por lo que puede utilizarse el estro posparto. Hay que tener en cuenta que la lactancia y gestación simultáneas puede retrasar entre tres a cinco días la implantación del embrión. Al nacer el ratón pesa entre uno y dos gramos, nacen con los ojos y oídos cerrados, sin pelos y son muy activos. Al tercer día comienza a observarse el desarrollo del pelaje, llegando a cubrirse totalmente desde los siete a diez días. A los 12 días empiezan abrir los ojos y el conducto auditivo externo, entre los días 13 y 14 inician a ingerir alimento sólido y agua del bebedero. Generalmente se les desteta a los 21 días de edad con un peso de aproximadamente 11 a 14 g. Cuando no se ha utilizado el estro posparto, empiezan a ciclar a los cinco días postdestete. El ciclo estral tiene una duración de cuatro a cinco días, en tanto que el celo dura 12 horas. Las hembras reproductoras pueden convivir en apareamientos monogámicos o poligámicos. Los apareamientos monogámicos consisten en el aislamiento de un macho y una hembra a lo largo de su vida reproductiva, equivalente a un año o a una cantidad de partos que oscila entre los cinco y los ocho. La pareja de reproductores va a permanecer junta procreando, con un promedio de ocho a diez crías por camada. En el caso de los apareamientos poligámicos, un macho es confinado junto con un número superior de hembras para incrementar la reproducción. Las poblaciones endocriadas se obtienen por el cruzamiento de hermanos con hermanas luego de 20 generaciones como mínimo. Las poblaciones de animales exocriados se obtienen apareando individuos no aparentados entre sí y se les denomina stock (45).

### **2.3.3.4. CARACTERÍSTICAS DE LOS RATONES MUS MUSCULUS**

Los ratones comunes adultos pesan entre 12 y 40 g, miden entre 15 y 19 centímetros, incluyendo la cola, que supone algo más de la mitad de su longitud. Su pelaje es corto y de tonos grises, que se aclaran en el vientre. Los ratones de laboratorio y los utilizados como mascotas son generalmente blancos (46).

El ratón doméstico es una especie cosmopolita, se adapta a una gran variedad de condiciones ambientales, desde zonas muy frías hasta regiones tropicales. En general, las especies prefieren ambientes más secos que húmedos (46).

El ratón es un mamífero de sangre caliente, de hábitos nocturnos y su comportamiento está influenciado por feromonas. Posee un agudo sentido de la audición, por lo que se alteran rápidamente con los ruidos, es por ello que hay que tener cuidado con los equipos que se utilizan. Su sentido del olfato está muy desarrollado, no sólo para detectar comida y depredadores, sino también para percibir un orden social. Su visión es muy pobre y no pueden percibir los colores (45).

En la órbita del ojo posee unas glándulas con forma de herradura llamadas glándulas harderianas, cuando el ratón está en estrés, excreta en la zona periocular una sustancia de color marrón llamada porfirina. El sistema social depende de la densidad de población, viven en grandes colonias y el rango social está bien desarrollado. Generalmente, son muy dóciles a excepción de algunas cepas exocriadas que mantienen su agresividad, al igual que sus antecesores salvajes. Por su pequeño tamaño son muy susceptibles a cambios ambientales, puesto que una variación de la temperatura entre 2 a 3°C, puede afectar su temperatura corporal y modificar su fisiología. El tamaño del ratón adulto varía entre 12 a 15 cm desde la punta de la nariz a la punta de la cola; el largo de la cola es igual al largo del cuerpo y con un peso aproximado de 30 gr. Las crías al nacer tienen un peso aproximado de 1 a 2 g y gana rápidamente peso durante la lactancia (45).

#### **2.3.3.5. COMPORTAMIENTO**

Aunque se desplazan habitualmente sobre sus cuatro patas, pueden erguirse en ocasiones sobre las dos traseras, ayudándose con la cola, para comer, orientarse o luchar. Cuando corren, mantienen la cola horizontal para guardar el equilibrio. Son buenos saltadores, escaladores y nadadores (esto último solo en caso de necesidad) (45).

Son activos principalmente al crepúsculo o durante la noche, ya que evitan las luces intensas. Son animales territoriales. Generalmente un macho dominante dirige un grupo con varias hembras e individuos jóvenes. Solo el macho dominante tiene derecho a aparearse con las hembras. Cuando un macho alcanza la madurez sexual, a menudo se enfrenta con el macho dominante de su grupo en un combate a muerte. Si dos o más machos son encerrados juntos en una jaula, frecuentemente se vuelven agresivos, a no ser que hayan sido criados juntos en cautividad desde su nacimiento (45).

### **2.3.3.6. TIPO DE ALIMENTACIÓN**

Su dieta se basa principalmente en cereales, frutas, granos, semillas, madera, tallos, raíces, hojas, pero también pueden comer carroña, insectos, artrópodos y productos lácteos (45).

### **2.3.3.7. ADQUISICIÓN DE ANIMALES DE LABORATORIO**

La importación de animales de laboratorio deberá cumplir los requisitos zoo-sanitarios del Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) del Perú. La elección del animal del laboratorio debe cumplir las exigencias de la investigación biomédica y reunir los requisitos genéticos y microbiológicos (45).

#### Ventajas

- Bajos costo de manutención.
- Cepa definida.
- Diversidad de características específicas que sirven como modelo.

#### Desventajas

- Dificultad en la recolección de material biológico.
- Dificultad la administración de drogas.
- Dificultad en las técnicas quirúrgicas.

### **2.3.3.8. TÉCNICAS DE MANEJO PARA RATONES JÓVENES Y ADULTOS**

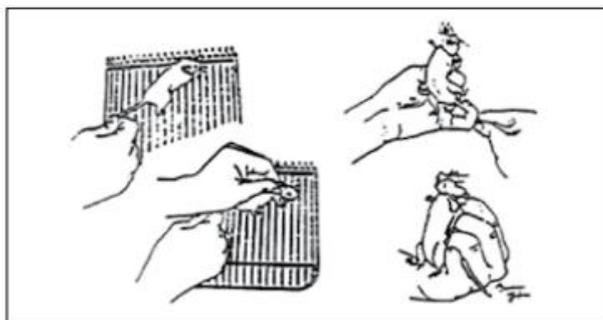
Ofrecen dificultad para su manejo ya que al sentirse capturados con frecuencia muerden.

Debe usarse guantes exactos a la mano del operario para que no tenga dificultad en el manipuleo de los animales (45).

Sujeción con una mano (mano izquierda) (45).

- Saque el ratón de la jaula tomándolo de la zona media de la cola, y apóyelo (sin soltarlo) sobre una superficie rugosa o rejilla contra la que pueda ejercer resistencia.
- Coloque la base de la cola del ratón entre sus dedos anular y meñique, dejando libre sus dedos pulgar e índice
- Con rapidez pellizque con el dedo pulgar e índice, suave pero firmemente, la piel de la parte superior de cuello y hombros, teniendo especial cuidado con los ratones agresivos ya que pueden darse vuelta y morder.
- Levante al animal

**FIGURA N°7: Sujeción con la ayuda de rejilla**



FUENTE: BIOTERIO CENTRAL - CNPB DEL INS (45).

### **2.3.3.9. VÍAS DE ADMINISTRACIÓN**

**Vía oral:** Se puede usar un volumen máximo de 1mL de solución por cada 100 g de peso del animal, cuando es vehículo oleoso y 2mL de solución cuando es solución acuosa; lo ideal es mediante sonda orogástrica y teniendo un buen conocimiento de la anatomía de la zona orofaríngea, los pasos a seguir son los siguientes: Inmovilizar al animal en forma correcta e introducir la sonda hacia la izquierda en forma lenta y suave a lo largo de la rama mandibular derecha, aquí el ratón comienza a tragar y la sonda se inserta dentro del esófago (45).

### **2.3.4. PARASITOSIS INTESTINAL**

Son infecciones que pueden producirse por la ingestión de quistes de protozoos, huevos o larvas de gusanos o por la penetración de larvas por vía transcutánea desde el suelo (47). Estos agentes realizan una ruta de recorrido específica a través del huésped afectando diferencialmente los órganos por donde pasa. De lo anterior se deduce que a partir del tipo de afectación y el conjunto de sistemas implicados es posible clasificar el origen patológico y tipo de enfermedad derivada según el tipo de parásito y la afectación que provoquen en los distintos órganos y sistemas (48).

#### **2.3.4.1. INTERACCIÓN PARÁSITO HUÉSPED**

Los parásitos perfectos, no se localizan en cualquier huésped u hospedador, al contrario, cada parásito posee su o sus propios huéspedes determinados, denominada como especificidad parasitaria (49). El hospedador puede ser:

- **Hospedador definitivo:** Huésped imprescindible y que alberga al parásito adulto.
- **Hospedador intermediario:** Huésped imprescindible que acoge al parásito en su estado de inmadurez (Fase larval o juvenil).

- **Hospedador reservorio:** Alberga al parásito en forma inusual, que puede servir o no como fuente de infección.

La interacción parásito-huésped tiene que ocurrir bajo condiciones necesarias y en la mayoría de veces el contacto es accidental; no obstante, el parásito puede buscar alimento, y si existen sustancias que libera el huésped necesario para aquél, se dirige en su dirección y se establece sobre éste o en su interior. Para el primer caso puede considerarse como huésped al propio hombre: cuando él se encuentra con el parásito, este último ingresa por alguna vía y trata de sobrevivir; en otras palabras, ocurre una infección, la cual genera cambios en el huésped que provocan una diversidad de reacciones (49).

#### **2.3.4.2. RESPUESTA DEL HUÉSPED A LA INFECCIÓN**

El aparato digestivo tiene una mucosa que posee factores protectores, tanto inmunológicos como no inmunológicos. Entre estos factores está la flora bacteriana, que ocupa un espacio que impide el establecimiento de patógenos; el peristaltismo, que por su movimiento evita que el parásito se establezca en forma definitiva; la existencia de sustancias como el jugo gástrico y sales biliares, que son un medio de defensa del aparato digestivo y/o de nuestro organismo que crea un clima desfavorable para los parásitos, las secreciones de la mucosa que forman una barrera entre el parásito y el epitelio; sustancias que inhiben directamente al parásito, como son lisozima, lactoferrina y lactoperoxidasa. La mucosa intestinal se divide en dos partes, morfológica y fisiológicamente: tejidos linfoides organizados que consisten en folículos de la mucosa, como las placas de Peyer y tejido linfoide difuso que son células localizadas en la lámina propia. En los primeros se transporta mediante los macrófagos, los antígenos de los parásitos y su reconocimiento, y en el segundo la interacción de los antígenos, y la respuesta celular con la consiguiente liberación de anticuerpos. El tamaño de ambas depende de la infección, si no hay infección, los folículos serán pequeños, y en una infección pasada las masas linfoides son más grandes (49).

#### **2.3.4.3. EL PARASITISMO Y OTRAS ASOCIACIONES BIOLÓGICAS**

- **Parásito:** Animal o vegetal que en forma permanente o temporal y de manera obligatoria debe de nutrirse a expensas de otro organismo llamado huésped, sin que esta relación implique la destrucción del huésped como lo hace un depredador (50).

- **El parasitismo:** Es un tipo de asociación y sucede cuando un ser vivo (parásito) se aloja en otro de diferente especie (huésped u hospedero) del cual se alimenta. Desde el punto de vista biológico un parásito se considera más adaptado a su huésped, cuando le produce menor daño. Los menos adaptados son aquellos que producen lesión o muerte al huésped que los aloja (50).
- **El mutualismo:** Ambos socios se benefician (50).
- **El comensalismo:** Asociación en la cual uno solo de los socios se beneficia y recibe el nombre de comensal, en este caso el hospedero no sufre daño como, por ejemplo, la *Entamoeba coli* en el intestino del hombre (50).
- **Simbiosis:** Es cuando dos especies diferentes se asocian para obtener beneficio mutuo, sin en el cual no puede subsistir, por ejemplo, es lo que ocurre con los comejenes, los cuales al no poseer enzimas digestivas se asocian con ciertos protozoos que en su tubo digestivo transforman la celulosa en azúcar, proporcionando alimento para ambos (50).

#### 2.3.4.4. CICLOS BIOLÓGICOS

Los ciclos biológicos de un parásito, comprende el proceso evolutivo del parásito (por ejemplo, nematodos pasan por los estadios de huevo, juvenil 1, 2, 3, 4 y adulto) y luego la sucesión de eventos que el parásito cumple dentro de sus estrategias evolutivas para sobrevivir en el medio ambiente, aproximarse y alcanzar al huésped y penetrar en él, migrar hasta su localización (habitat), alimentarse, crecer, reproducirse, y salir del hospedero (51).

- **Ciclos directos (monoxénos):** Son aquellos en los que no es necesaria la presencia de un huésped intermediario. Pueden ser cortos, donde la forma emitida es la infectante, o largos, donde la forma emitida necesita un determinado tiempo en el medio (generalmente el suelo) para transformarse en infectante. En general, los parásitos con ciclos directos cortos son cosmopolitas, y los directos largos están condicionados por las situaciones climáticas (51).
- **Ciclos indirectos (heteroxenos):** Son los que necesitan un huésped intermediario para completar su ciclo. La presencia de estas parasitosis en un área determinada depende de la existencia de ese huésped intermediario (51).

#### **2.3.4.5. PATOGENICIDAD Y VIRULENCIA**

La patogenicidad es la capacidad que tienen los parásitos de producir daño o enfermedad al hospedero. Algunos helmintos, poseen proteínas o estructuras diversas que le ayudan a penetrar y a vivir dentro del hombre (49). La virulencia es una medida cuantitativa del grado de patogenicidad, la cual se expresa a menudo como dosis letal media o como el número de microorganismos que producen la muerte a 50% de los animales de experimentación inoculados en condiciones de laboratorio (49).

#### **2.3.4.6. MECANISMOS DE TRANSMISIÓN**

Los mecanismos de transmisión de los protozoarios y helmintos varían, pues dependen del hábitat del parásito y de la manera en que se elimina del hospedero (52).

- **Transmisión indirecta:** Uno de los más importantes mecanismos de transmisión se relaciona con el fecalismo al aire libre. La materia fecal es uno de los contaminantes que transmite enfermedades parasitarias: las heces contaminan el agua, los alimentos, las manos y los objetos (52).
- **Transmisión directa:** Puede ocurrir por medio de gotas de saliva provenientes de un beso, como sucede con los trofozoítos de *Toxoplasma gondii*. Esta enfermedad origina en el hospedero humano una toxoplasmosis ganglionar, la cual afecta a la faringe y las amígdalas. En el caso de la trichomoniasis, la parasitosis se transmite por medio de contacto sexual. En otros casos, como la cisticercosis, la giardiasis y la criptosporidiasis, se transmite por contactos sodomíticos o sexuales anales (52).
- **Transmisión por vectores:** Se denomina vector a todo animal invertebrado capaz de transmitir un agente desde la fuente de infección hasta el hospedero susceptible. Esta transmisión puede ocurrir de manera mecánica, cuando el agente es transportado por el artrópodo en el cuerpo o en partes bucales sin que haya multiplicación interna del agente infeccioso. Biológica, cuando el parásito se multiplica dentro del artrópodo vector o cumple un ciclo vital, u ocurre una combinación de los dos procesos (52).
- **Transmisión por aire o polvo:** Este mecanismo quizá ocurra con muchas protozoosis, sobre todo con aquellas cuyos quistes son muy resistentes al ambiente, y con los helmintos; sin embargo, cuando se trata de estos últimos, el más común es la oxiuriasis, donde el huevecillo se desarrolla en cuatro horas y se vuelve altamente infeccioso al inhalarse (52).

### 2.3.4.7. CLASIFICACIÓN DE LOS PARÁSITOS INTESTINALES

Se clasifican en dos grandes grupos: los protozoos que vienen a ser organismos unicelulares; y los helmintos que son organismos pluricelulares (49). Son conocidos por causar afecciones nutricionales en el individuo.

#### a. Helmintos

Son organismos invertebrados, pluricelulares con sus órganos y sistemas bien diferenciados, con ciclos de vida complejos los que se desarrollan fuera del huésped. Causan patología en el hombre por la presencia de sus larvas o huevos dentro del organismo. En estadio adulto son macroscópicos, alargados y con simetría bilateral, no presentan extremidades y su multiplicación no se da en forma directa. Los helmintos intestinales se clasifican en 2 tipos: los nemátodos (gusanos redondos) y los platelmintos (gusanos planos) (49).

- **Nemátodos:** Son gusanos libres o parásitos carentes de segmentación, normalmente de forma cilíndrica y alargada con simetría bilateral, las hembras de algunas especies desarrollan dilataciones corporales más o menos globulosas. El tamaño de los nemátodos varía de pocos milímetros hasta varios centímetros de longitud. Con unas pocas excepciones, son de sexos separados y su ciclo de vida puede ser directo o incluir un hospedador intermediario (29).
- **Platelmintos:** Son organismos aplanados y hermafroditas en su mayoría. Debido a su importancia médica pertenece a dos clases: céstodos y Trematodos (29).

#### ***ENTEROBIUS VERMICULARIS* (Oxiuros)**

##### • Etiopatogenia

La infección ocurre cuando la hembra del parásito se ubica en la zona perianal, especialmente durante la noche. En dicha localización anatómica el agente deposita sus huevos, altamente infecciosos y estos, dada su morfología y particular capacidad de fijación, quedan adheridos a la ropa y piel del huésped. El prurito resultante, debido a los huevos en la piel, hacen que el rascado sea el método de transmisión fecal-oral, en tanto que dichos huevecillos se ubican bajo las uñas (53).

##### • Diagnóstico, tratamiento y prevención

Test de graham, particularmente útil en pacientes con pruritos agudos. Los medicamentos a utilizar son el albendazol o la nitaxozanida (53).

## ***ÁSCARIS LUMBRICOIDES***

- **Etiopatogenia**

Es la helmintiasis más frecuente y con mayor distribución a nivel mundial. Luego de la ingesta de material contaminado, las larvas salen del huevo en intestino delgado, logran cruzar la pared intestinal, se incorporan al sistema portal y llegan nivel pulmonar donde penetran en los alvéolos y escalan consiguiendo ascender a las vías respiratorias altas. Allí, como respuesta a la tos y a la eventual deglución, retornan a intestino, teniendo la oportunidad de convertirse en adultos. El ciclo se reinicia a nivel interno y los parásitos producen nuevos huevos, mismos que se eliminan por medio de la materia fecal y quedan disponibles para infectar otros huéspedes (53).

- **Diagnóstico, tratamiento y prevención**

Usualmente se realiza a través de la localización de huevos en las heces o bien de larvas en el esputo o material gástrico si es evidente la ocurrencia de fase pulmonar. En todos los casos es necesario extremar medidas de higiene personal. Por tratarse de una enfermedad propia de las personas en condición de hacinamiento y marginalidad, las medidas preventivas son la adecuada eliminación de excretas, utilización de agua potable o purificación de esta mediante métodos convencionales y mejorar las actividades y técnicas para el lavado de alimentos. El tratamiento de elección al igual que en todos los helmintos, es el albendazol a razón de 200 mg cada 12 horas por 3 días o la nitaxozanida (49,53).

## ***TRICHURIS TRICHIURA***

- **Etiopatogenia**

Es transmitida a través de la ingesta de huevos embrionados que provienen de alimentos, objetos, tierra o agua contaminada. Debido a las fases de desarrollo infantil en las que la exploración bucal es frecuente, esta parasitosis es común en niños durante sus primeros años y en algunos casos hasta la adolescencia. Es mucho más común en países en vías de desarrollo. Las larvas del agente usualmente maduran en el ciego y el colon ascendente, donde permanecen aferrados a la mucosa, producen lesión mecánica y traumática con inflamación localizada, y desde allí reproducen con nuevos huevos fértiles que son eliminados por materia fecal, repitiendo el ciclo (49).

- **Diagnóstico, tratamiento y prevención**

Identificación de huevos en las heces. En algunos casos, en particular aquellos de gravedad, es conveniente el diagnóstico diferencial frente a amebiasis, disentería bacilar y colitis ulcerosa. Las medidas de cuidado y tratamiento coinciden con las usadas para *Áscaris lumbricoides* (53).

#### **2.3.4.8. FACTORES ASOCIADOS A LA PARASITOSIS INTESTINAL**

Los hombres viven en sociedad y cada sociedad esta regentada por diferentes realidades, costumbres, características ambientales, entre otras. Frente a ello cada individuo o comunidad presenta mayores o menores probabilidades de contraer alguna enfermedad, por consiguiente, los factores de riesgo son las circunstancias a los que están expuestas las personas y que estas aumenten la probabilidad de adquirir alguna patología. La parasitosis intestinal es cosmopolita, porque estas se hallan en su mayoría en zonas urbanas y rurales, asimismo en las zonas rurales se ha visto que existe una alta prevalencia de parasitosis intestinal, ya que estas son zonas vulnerables, por sus características socioeconómicas, calidades sanitarias, y por los escasos centros de salud (52).

- **Grado de educación:** La educación con respecto hacia la salud es deficiente en los pobladores de zonas rurales que en zonas urbanas. Por ello la educación hacia la salud es una de las herramientas que utiliza la promoción de la salud para adoptar actitudes y comportamientos sanos. Las practicas educativas bien practicadas conllevan a las personas a adquirir de conocimiento para prevenir la parasitosis y concientizar (52).
- **Hacinamiento:** Es la presencia de más de tres personas que habitan en un dormitorio de un hogar, y esto demuestra una relación de contagio de parásitos a los miembros de un hogar (52).
- **Hábitos alimenticios y hábitos de higiene:** Las costumbres alimenticias riesgosas están vinculadas a contaminación de alimentos y consumo de agua, el lavado de manos antes de consumir alimentos, después de jugar, preparación y/o manipulación de alimentos son deficientes. El consumo de carnes crudas o semi cocidas permite el contagio de parásitos tisulares como es la cisticercosis (52).
- **Crianza de animales de granja:** En las zonas rurales del país la crianza de animales de granja constituye una actividad primordial económica y que de esto viven estas personas, a pesar de ello esta actividad se lleva a cabo en pésimas

condiciones, conllevando a adquirir enfermedades infecciosas como la parasitosis intestinal (52).

- **Presencia de animales domésticos y vectores:** Las heces de los animales domésticos como pueden ser perros, gatos etc., pueden contener agentes patógenos. Las familias campesinas por su costumbre de criar animales domésticos tienen el riesgo de contraer alguna enfermedad causada por parásitos. Por ello es recomendable que los establos estén localizados distantes de sus viviendas y se deben realizar la desinfección y la desparasitación de sus animales domésticos. Las moscas y mosquitos son vectores que pueden transportar enfermedades patógenas. Las condiciones inadecuadas de las viviendas, el mal saneamiento básico, y la situación socioeconómica deficientes son factores que coadyuvan a la aparición y propagación de vectores como las moscas y mosquitos (52).

### **2.3.5. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LAS HELMINTOSIS**

En medicina humana y veterinaria, un antihelmíntico es un medicamento utilizado en el tratamiento de la helmintiasis, es decir las infestaciones por vermes, helmintos. Los antihelmínticos provocan la erradicación de lombrices parásitas del cuerpo de manera rápida y completa, ya sea matándolos o incitando en ellos una conducta de huida que disminuye la carga parasitaria y sin dejar complicaciones de la infestación. Un sinónimo de antihelmíntico, ampliamente usado para los remedios tradicionales de este tipo, es vermífugo (54). El modo de acción de estos fármacos tiene tres objetivos:

1. Actuar a nivel de la coordinación neuromuscular del parásito, produciendo parálisis.
2. Actuar inhibiendo la captación de glucosa del parásito, produciendo la muerte del parásito.
3. Actuar a nivel de la membrana microtubular alterando las funciones bioquímicas del mismo.

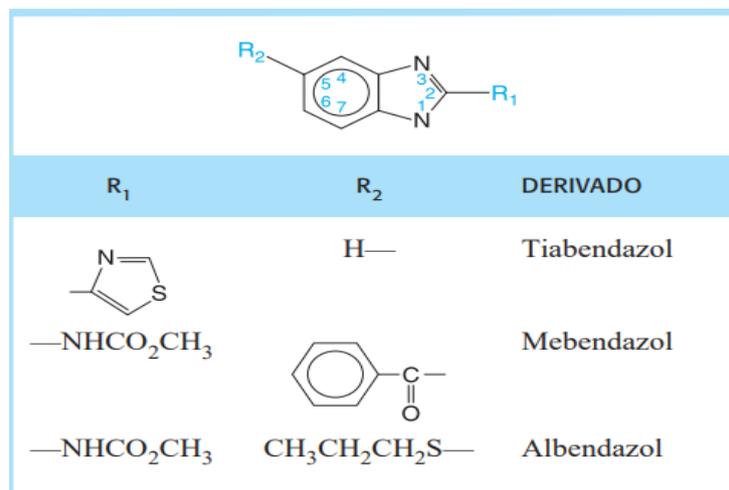
#### **2.3.5.1. BENZIMIDAZOLES**

##### **a) Historia**

El tiabendazol era muy potente contra nemátodos de vías gastrointestinales avivó el interés por la obtención de benzimidazoles que fueran antihelmínticos de amplio espectro contra parásitos de importancia en medicina y en veterinaria. En los cientos de derivados

estudiados, los de mayor utilidad terapéutica fueron los que mostraban modificaciones en las posiciones 2, 5 o ambas del anillo benzimidazólico. Se han utilizado extensamente tres compuestos, tiabendazol, mebendazol y albendazol, para tratar las helmintiasis de humanos (55).

**FIGURA N°8: Estructura de los benzimidazoles**



FUENTE: BRUNTON LAURENCE L. ET AL, 2006 (55).

### b) Mecanismo de acción

Los benzimidazoles producen muchos cambios bioquímicos en nemátodos susceptibles, que incluyen la inhibición de la reductasa de fumarato de mitocondrias, disminución del transporte de glucosa y desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, pero es posible que su acción primaria sea inhibir la polimerización de microtúbulos, al ligarse a la tubulina β. Sus efectos tóxicos selectivos se deben a que se ligan a la tubulina β del parásito, con afinidad mucho mayor de la que muestran hacia las proteínas de mamíferos (55).

Los dos mecanismos identificados de farmacoresistencia en los nematodos comprenden la pérdida progresiva de los isotipos del gen de tubulina β “susceptibles”, junto con la aparición de un isotipo “resistente” (55).

### c) Absorción, distribución y excreción

Los benzimidazoles muestran sólo moderada solubilidad en agua; las diferencias menores en solubilidad, ejercen un efecto importante en la absorción. El tiabendazol es absorbido con rapidez una vez ingerido y después de 1 h, aproximadamente, alcanza concentraciones máximas en plasma. Gran parte del fármaco se excreta por la orina en

término de 24 h. A diferencia de ello, las presentaciones del mebendazol en comprimidos se absorben apenas y su absorción es irregular, son pequeñas las concentraciones del fármaco en plasma y no reflejan la dosis recibida. La baja biodisponibilidad sistémica (22%) del mebendazol es consecuencia de una combinación de poca absorción y metabolismo de primer paso en el hígado, que es rápido. La administración conjunta de cimetidina incrementará los niveles plasmáticos del mebendazol posiblemente por inhibición del metabolismo mediado por citocromo P450 de primer paso. Se liga 95% del mebendazol a las proteínas plasmáticas y es metabolizado extensamente. Los metabolitos principales como el metil-5-( $\alpha$ -hidroxibenzil)-2-benzimidazol carbamato y el 2-amino-5-benzoilbenzimidazol, muestran una rapidez de eliminación menor que el mebendazol (55).

El albendazol se absorbe de manera variable y errática después de su ingestión; la absorción se intensifica por la presencia de comidas grasientas y posiblemente con sales biliares. Una comida grasa o el consumo de alimentos estimula la función incluso cinco veces en seres humanos. Después que la persona ingiere una sola dosis de 400 mg, es imposible detectar el albendazol en el plasma porque es rápidamente metabolizado en el hígado y tal vez en los intestinos hasta la forma de sulfóxido de albendazol, que posee potente actividad antihelmíntica. En promedio, 70% del sulfóxido de albendazol está ligado a proteínas plasmáticas y su semivida en plasma es muy variable, de 4 a 15 h. Se distribuye perfectamente en diversos tejidos, que incluyen los quistes hidatídicos, en los cuales su concentración se acerca a un quinto de la del plasma. Los metabolitos del albendazol son excretados principalmente por la orina (55).

#### **d) Usos terapéuticos**

El tiabendazol es utilizado como fármaco de primera línea para tratar la parasitosis, el tiabendazol en dosis de 25 mg/kg dos veces al día durante siete días puede producir moderado beneficio en la triquinosis incipiente, pero no tiene efecto alguno en la larva migratoria o en la fase muscular. Dicho fármaco también es eficaz en las infecciones gastrointestinales por nemátodos, pero por sus efectos tóxicos no se le emplea contra tales infecciones (55).

El mebendazol es muy eficaz contra las infecciones gastrointestinales por nemátodos y es particularmente útil para tratar infecciones “mixtas”. El fármaco siempre se ingiere, y el mismo plan posológico es válido para adultos y niños mayores de dos años. Para tratar

la enterobiasis, la persona ingiere un comprimido de 100 mg y después de dos semanas ingiere otro. Para desterrar la ascariosis, la tricurosis o la anquilostomosis, el régimen recomendado es de 100 mg de mebendazol ingeridos por la mañana y en la noche durante tres días consecutivos. Una sola dosis de albendazol al parecer es mejor que una dosis única de mebendazol contra los anquilostomas. Además, la eficacia del mebendazol contra esta última parasitosis puede disminuir si se le utiliza de manera frecuente y repetitiva, lo que quizá equivale a la aparición de resistencia a los benzimidazoles (55).

A semejanza del mebendazol, con el albendazol se obtienen resultados seguros y ciertos contra infecciones por nematodos de vías gastrointestinales que incluyen las combinaciones de ataque por *Áscaris*, *Trichuris* y *Ancylostoma Necator*. En pequeños que tienen 12 a 24 meses, la OMS recomienda una dosis de 200 mg, que es menor (55).

#### **e) Efectos adversos, precauciones y contraindicaciones**

En términos generales, los benzimidazoles tienen un perfil excelente de inocuidad. Hasta la fecha los han recibido millones de niños en programas de farmacoterapia para desparasitación contra vermes. La incidencia global de efectos adversos y en particular síntomas leves de vías gastrointestinales, se observa sólo en 1% de los menores tratados (55).

Los benzimidazoles como grupo generan un número extraordinariamente pequeño de interacciones clínicas con otros fármacos. El miembro más polifacético de la familia, el albendazol, probablemente induce su propio metabolismo y los niveles plasmáticos de sus metabolitos sulfóxidos pueden aumentar por la administración simultánea de glucocorticoides y posiblemente de praziquantel. Se recomienda cautela cuando se utilizan dosis grandes de albendazol junto con los inhibidores generales de la subfamilia de las enzimas hepáticas CYP. la administración simultánea de cimetidina puede incrementar la biodisponibilidad del mebendazol (55).

#### **f) Uso en el embarazo**

El albendazol y el mebendazol son fármacos embriotóxicos y teratógenos en ratas preñadas, por ello no se recomienda su uso en embarazadas. Sin embargo, en encuestas después de introducción de fármacos en el mercado, realizadas en mujeres que de manera inadvertida consumieron mebendazol en el primer trimestre, la incidencia de aborto espontáneo y malformaciones no rebasó la cifra de la población general; no se cuenta con

estudios similares hechos con albendazol. La revisión del riesgo de anomalías congénitas con el uso de benzimidazoles, permitió concluir que su empleo durante la gestación no conllevaba un mayor peligro de que surgieran defectos congénitos mayores; sin embargo, se ha recomendado que es mejor no usarlos durante el primer trimestre de la gestación (55).

Los benzimidazoles no se han estudiado ampliamente en niños menores de dos años. La OMS realizó una consulta informal sobre el empleo de dichos fármacos en 2002 en niños de corta edad, y concluyó que pueden utilizarse para tratar a los pequeños después del primer año de vida si se justifican los peligros de consecuencias adversas causadas por la geohelmintosis. La OMS recomienda reducir la dosis de albendazol a 200 mg en niños de 12 a 24 meses (55).

#### **2.3.5.2. PRAZIQUANTEL**

El isómero (-) es el que genera gran parte de la actividad antihelmíntica del fármaco (55).

##### **a) Mecanismo de acción**

El praziquantel, después de captación rápida y reversible, ejerce dos efectos importantes en los esquistosomas adultos. Con las concentraciones mínimas eficaces origina mayor actividad muscular, a la que siguen contracción y parálisis espásticas. Los vermes afectados se desprenden de las paredes de vasos sanguíneos y como consecuencia hay un desplazamiento rápido desde las venas mesentéricas, hasta el hígado. En concentraciones terapéuticas levemente mayores origina daño tegumentario, lo cual deja al descubierto a diversos antígenos de ese tipo. Se desconoce si el estado inmunitario del hospedador es importante en la eficacia clínica del fármaco. El tegumento de los esquistosomas al parecer es el sitio primario de acción del praziquantel. El fármaco hace que penetre calcio a través del tegumento, efecto bloqueado en un medio sin dicho mineral. Se han sugerido diversos sitios sensibles al medicamento como posibles “puntos de acción”, pero no se ha identificado el mecanismo molecular de acción exacto. También origina diversos cambios bioquímicos, pero al parecer muchos son consecuencia de su acción tegumentaria primaria (55).

##### **b) Absorción, biotransformación y excreción**

El praziquantel se absorbe fácilmente después de ingerido, de tal forma que los niveles máximos en el plasma humano aparecen en término de 1 a 2 h. Su farmacocinética depende de la dosis. El metabolismo extenso del primer paso, hasta la formación de

innumerables productos hidroxilados y conjugados inactivos limita la biodisponibilidad del fármaco y hace que las concentraciones plasmáticas de metabolitos sean como mínimo más de 100 veces mayores que las del praziquantel. Se liga 80% del fármaco a las proteínas plasmáticas. Su semivida plasmática es de 0.8 a 3 h según la dosis, en comparación con 4 a 6 h en el caso de sus metabolitos, pero tal situación puede prolongarse en individuos con hepatopatía intensa, incluidos aquellos con esquistosomosis hepatoesplénica. En promedio, 70% de una dosis de praziquantel ingerida se recupera en la forma de metabolitos en la orina, en término de 24 h; gran parte del resto es metabolizado en el hígado y eliminado en la bilis (55).

#### **c) Usos terapéuticos**

El praziquantel ha recibido aprobación en Estados Unidos sólo para tratamiento de la esquistosomosis e infecciones por duelas del hígado, pero en otros países este fármaco de múltiple utilidad e inocuo también se ha utilizado para combatir infecciones con otros tremátodos y céstodos (55).

#### **d) Efectos tóxicos, precauciones e interacciones**

Poco después de ingerir el praziquantel surgen molestias abdominales, en particular dolor y náuseas, diarrea, así como cefaleas, mareos y somnolencia; dichos efectos directos son transitorios y dependen de la dosis. A veces surgen efectos indirectos como fiebre, prurito, urticaria, erupciones, artralgias y mialgias; tales reacciones y el aumento del número de eosinófilos suelen depender de la cantidad de parásitos. En la neurocisticercosis las reacciones inflamatorias al praziquantel originan a veces meningismo, convulsiones, cambios cíclicos y pleocitosis en líquido cefalorraquídeo. El comienzo de tales efectos por lo común no es inmediato, dura dos a tres días y ellos mejoran con la administración de productos sintomáticos apropiados, analgésicos y anticonvulsivos. Se considera que el praziquantel es inocuo en niños mayores de cuatro años, quienes quizá lo toleran mejor que los adultos (55).

En la leche materna aparecen niveles pequeños del medicamento, pero no hay pruebas de mutagenicidad o carcinogenicidad.

La biodisponibilidad del praziquantel disminuye por inductores de la actividad de CYP del hígado como la carbamazepina y el fenobarbital; como aspecto predecible, genera el efecto contrario la administración conjunta de la cimetidina, inhibidor de CYP. La dexametasona disminuye la biodisponibilidad del praziquantel, aunque se desconoce el

mecanismo por el que lo logra (55). En algunas situaciones el praziquantel puede incrementar la biodisponibilidad del albendazol. El praziquantel está contraindicado en la cisticercosis ocular porque la respuesta del hospedador puede lesionar irreversiblemente los ojos. Poco después de ingerirlo será mejor que el paciente no emprenda actividades como conducir vehículos, operar maquinaria y otras tareas que exigen alerta psíquica. Su semivida puede prolongarse en sujetos con hepatopatía grave; en ellos quizá se necesite ajustar las dosis (55).

### **2.3.5.3. PAMOATO DE PIRANTEL**

Es un fármaco introducido originalmente en veterinaria como antihelmíntico de amplio espectro dirigido contra oxiuros, vermes redondos e infecciones por anquilostomas. Su eficacia y carácter atóxico hicieron que se le estudiara contra los helmintos intestinales correspondientes en seres humanos (55).

#### **a) Mecanismo de acción**

El pirantel y sus análogos son agentes de bloqueo neuromuscular despolarizantes; abren en forma no selectiva los conductos catiónicos e inducen una notable activación persistente de los receptores de la acetilcolina nicotínicos, de lo cual surge una parálisis espástica del parásito. El pirantel también inhibe las colinesterasas; origina una contractura de aparición lenta en preparados de segmentos aislados de *Áscaris* en concentración de 1% de la acetilcolina necesaria para producir el mismo efecto. En miocitos únicos del helminto el pirantel los despolariza e incrementa la frecuencia de descarga de espigas, acompañado de una mayor tensión. Es eficaz contra anquilostomas, oxiuros y nemátodos redondos; a diferencia de su análogo oxantel, no es eficaz contra *Trichuris trichiura* (55).

#### **b) Absorción, biotransformación y excreción**

El pamoato de pirantel casi no se absorbe en las vías gastrointestinales, propiedad que contribuye a su acción selectiva en los nematodos de tales vías. Menos de 15% del fármaco se excreta en la orina en la forma original sin cambios y en la forma de metabolitos. La proporción mayor de una dosis administrada se recupera o identifica en las heces (55).

#### **c) Usos terapéuticos**

Cabe recurrir al pamoato de pirantel en vez del mebendazol en el tratamiento de la ascariosis y la enterobiosis. Se han obtenido índices grandes de cura después de una sola

dosis ingerida de 11 mg/kg hasta un máximo de 1 g. En el caso de los oxiuros, es prudente repetir el tratamiento después de un intervalo de dos semanas (55).

#### **d) Precauciones**

Por vía parenteral el pirantel produce bloqueo neuromuscular en los animales; solamente muy grandes dosis ingeridas originan efectos tóxicos. En seres humanos se observan a veces síntomas transitorios y leves de vías gastrointestinales; también se identifican cefaleas, mareos, erupciones y fiebre. El pamoato de pirantel no ha sido estudiado en embarazadas; por tal razón no se recomienda usarlo en ellas y en niños menores de dos años de vida. El pamoato de pirantel y la piperazina son antagonistas en lo que toca a sus efectos neuromusculares en los parásitos, por tal motivo no se les usará juntos (55).

#### **2.3.5.4. PIPERAZINA**

Es muy eficaz contra infecciones por *Áscaris lumbricoides* y *Enterobius vermicularis* (51).

##### **a. Mecanismo de acción**

El efecto predominante de la Piperazina sobre *áscaris* es causar parálisis flácida del músculo que resulta en la expulsión del verme por el peristaltismo. Los parásitos afectados se recuperan si se incuban en medio libre de droga. La piperazina bloquea la respuesta del músculo de los áscaris a la acetilcolina, aparentemente alterando la permeabilidad de la membrana celular a los iones responsables del mantenimiento del potencial de reposo. La droga causa hiperpolarización y supresión de los potenciales espontáneos de espiga con parálisis anexa. La base de su acción selectiva no está totalmente aclarada. La piperazina actúa sobre todos los estadios del parásito adulto, pero no tiene efecto sobre las larvas que se encuentran en los tejidos. La acción de la piperazina sobre los oxiuros no se conoce (54).

##### **b. Propiedades Farmacocinéticas**

La piperazina se adsorbe fácilmente del tracto gastrointestinal. Una porción de la droga absorbida se degrada, y el resto se excreta por la orina, parcialmente metabolizado. La velocidad de excreción varía mucho entre individuos. Cuando se administra por vía oral, entre el 15 y el 75 % se recupera en la orina. La excreción urinaria es máxima entre 2 y 6 horas y prácticamente es total en 24 horas (54).

### **c. Contraindicaciones**

Hipersensibilidad al medicamento. La piperazina puede producir reacciones neurotóxicas cuando se utiliza en dosis más altas que las recomendadas o en pacientes con afecciones renales o con trastornos del sistema nervioso central, de ahí que deberá valorarse la relación riesgo-beneficio en estos casos (54).

### **d. Efectos adversos**

En dosis altas puede provocar cefalea, náuseas, vómitos, diarreas, dolor abdominal, visión borrosa, cataratas, astenia, vértigo transitorio, temblor, incoordinación, somnolencia, alteraciones del EEG, nistagmo, debilidad, ataxia, parestesia, contracciones mioclónicas, movimientos coreiformes, convulsiones, temblores, pérdida de los reflejos y dificultad de la memoria (54). Ocasionales: trombocitopenia, anemia hemolítica Raras: reacciones de hipersensibilidad como broncoespasmo, angioedema, síndrome de Stevens Johnson, urticaria, rash cutáneo y prurito.

## **REDUCCIÓN DE LA EFICACIA EN FÁRMACOS ANTIHELMÍNTICOS**

Aunque desde 1997 se ha reportado la disminución de la eficacia y posible aparición de resistencia a antihelmínticos, las fallas metodológicas, pruebas no concluyentes y variedad de metodologías e indicadores considerados en estos estudios llevaron a confusión sobre los resultados de la eficacia de este grupo de fármacos. Es por eso que en 2013 la OMS publicó el Manual de evaluación de la eficacia de los antihelmínticos contra las esquistosomiasis y geohelmintiasis; y desde entonces se condujeron al menos veinte ensayos para evaluar la eficacia de los medicamentos recomendados para el tratamiento de las helmintiasis, especialmente en las áreas geográficas donde los programas de quimioterapia preventiva han tenido cobertura durante más de cinco años. Los resultados de estos estudios y las revisiones que abordan la eficacia de antihelmínticos concuerdan con que la eficacia de los fármacos de mayor uso en quimioterapia preventiva, como albendazol y mebendazol, ha disminuido con el tiempo. Además, se ha hecho evidente que los resultados de eficacia de los fármacos varían ampliamente respecto a cada especie, es decir, para *Áscaris lumbricoides* una tasa de curación del 95,7 % con albendazol y 96,2% con mebendazol, mientras para *Trichuris trichiura* la eficacia de los fármacos disponibles es del 30,7% y 42,1%, en tasa de curación con albendazol y mebendazol, respectivamente, resultados que confirman la necesidad de buscar nuevos fármacos

antihelmínticos y combinaciones de estos que puedan minimizar el riesgo de resistencia (54).

Además, en 2020 se sugirió un estudio de vigilancia mundial, para evaluar la eficacia de los fármacos antihelmínticos y la posible aparición de resistencia a estos en los programas de control de geohelmintiasis en Bangladesh, Camboya, Laos, Vietnam, Ghana, Ruanda, Senegal y Nicaragua, debido a la preocupación latente de no contar con un sistema de vigilancia actualizado en el mundo (54).

## **RESISTENCIA A ANTIHELMÍNTICOS**

Cuando hay exposición repetida a los antihelmínticos se define un proceso de resistencia como la capacidad del parásito de sobrevivir a dosis normales de uso del fármaco que matarían parásitos de la misma especie y estadio. Se ha documentado que esta resistencia puede deberse a variantes genéticas que se transmiten a la descendencia, por medio de polimorfismos en nucleótidos específicos (SNP, por sus siglas en inglés). Ejemplo de esto es la variación en el gen de  $\beta$ -tubulina, que genera resistencia ante benzimidazoles (54).

### **2.3.6 PRINCIPIOS DE LOS ENSAYOS BIOLÓGICOS DE TOXICIDAD**

#### **2.3.6.1. ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA**

El conocimiento de la toxicidad de las sustancias sólo puede conocerse (aparte de las previsiones teóricas) por los estudios retrospectivos de casos de intoxicación y por la experimentación con plantas y animales. La experimentación con seres humanos se realiza únicamente en contadas ocasiones debido a sus implicaciones éticas y legales. El uso de animales de experimentación para la determinación de la “dosis letal” hoy día está siendo reorientado debido a la presión de las asociaciones protectoras de animales y una mayor sensibilización por parte de la sociedad. Se emplean menos animales, las técnicas de ensayo se han refinado para provocar menos sufrimiento y para optimizar la cantidad de información extraída de la experiencia. Los requerimientos de las buenas prácticas son de obligado cumplimiento si queremos asegurar la calidad de los resultados obtenidos experimentando con animales. Seguidamente veremos aspectos que nos permitan establecer algunos parámetros del ensayo de toxicidad y su intervalo de confianza (56).

### **2.3.6.2. ENSAYOS DE TOXICIDAD CON ANIMALES**

Toxicidad aguda: Efectos adversos que se manifiestan luego de la aplicación de una única dosis o múltiples dosis de una sustancia en el lapso de 24 horas y durante una observación de al menos 15 días. Todas las sustancias son tóxicas cuando se administran a dosis altas. La toxicidad puede observarse de diversas maneras, siendo la determinación de la toxicidad aguda el ensayo más corriente. Esta determinación permite apreciar los síntomas de intoxicación y la dosis tóxica: Dosis mínima mortal y Dosis letal 50 (DL50). Como los efectos tóxicos no se muestran a menudo más que después de un periodo de tiempo en el organismo, los ensayos de toxicidad crónica efectuados con animales se realizan cuando la sustancia química presenta un interés terapéutico. Por último, existen riesgos terapéuticos que no se manifiestan en estos ensayos de toxicidad y que son objeto de ensayos especiales: evaluación de efectos teratogénico, carcinogénico y mutágeno (56).

El estudio de la toxicidad aguda se definen los siguientes términos.

La dosis letal 50 (DL50): corresponde a la dosis capaz de producir la muerte en condiciones determinadas, de la mitad de los animales (de una misma especie) sometidos a la experiencia. Esta determinación se basa en la evaluación de respuestas de todo o nada: muerte o supervivencia del animal. Como es imposible obtener de manera inmediata el 50% de muertes a partir de un único grupo, el método consiste en experimentar con 5 o 6 lotes de 10 a 20 animales a los cuales se administran dosis crecientes de la sustancia a ensayar, de manera que el porcentaje de mortalidad varíe entre 0 -100% (56).

### **2.3.6.3. EL MÉTODO DE LORKE PARA LA DETERMINACIÓN DE DL50**

El método de Lorke describe un método para la investigación de la toxicidad aguda de una sustancia desconocida, con la determinación de la DL50. Usando este método, es posible obtener con tres animales de experimentación información adecuada de la toxicidad aguda y de la DL50. Este método no presenta limitaciones y es aplicable a fármacos y sustancias de la agricultura e industria. Este método también puede usarse por todas las vías de administración y con número mínimo de animales experimentales (57).

Consta de dos fases, inicialmente es necesario determinar el rango aproximado de toxicidad aguda. Esto se logra administrando dosis diferentes al animal, por ejemplo 10, 100 y 1000 mg/Kg por vía oral. Los resultados muestran si una sustancia es muy tóxica, tóxica, poco tóxica, o débilmente tóxica. Para esta primera fase se deben utilizar tres

animales por cada nivel de dosis. El resultado de esta primera fase es utilizado para determinar las dosis subsecuentes (57).

**TABLA N°1: Grados de toxicidad de una sustancia según valores de DL50**

	DL50 (mg/kg)	GRADO DE TOXICIDAD
Menor a	10	Altamente tóxica
Entre	10 – 100	Tóxica
Entre	100 -1000	Poco tóxica
Mayor a	1000	Atóxica

FUENTE: LORKE D, 1983 (57).

Los siguientes postulados son hechos con respecto a los programas de administración subsecuentes (57):

1. La sustancia más toxica que 1 mg/Kg son altamente toxicas de tal modo que no es importante determinar la DL50 exactamente.
2. Los valores de DL50 mayores a 5000 mg/Kg no son de interés practico.
3. Un valor aproximado de DL50 es usualmente adecuado para estimar el riesgo de intoxicación aguda.

Basado en estas consideraciones y en experiencias prácticas se tiene la siguiente tabla, utilizada para determinar las nuevas dosis en el segundo test en el cada grupo está formado por un único ratón.

**TABLA N°2: Tabla para determinar las nuevas dosis en el segundo test de Lorke**

DOSIS EN mg/kg RESULTADO DE INVESTIGACIÓN INICIAL			DOSIS ESCOGIDAS PARA EL SEGUNDO TEST EN mg/kg				
10	100	1000					
0/3*	0/3	0/3		1,600	2,900	5,000	
0/3	0/3	1/3	600	1,000**	1,600	2,900	
0/3	0/3	2/3	200	400	800	1,600	
0/3	0/3	3/3	140	225	370	600	
0/3	1/3	3/3	50	100**	200	400	
0/3	2/3	3/3	20	40	80	160	
0/3	3/3	3/3	15	25	40	60	
1/3	3/3	3/3	5	10**	20	40	
2/3	3/3	3/3	2	4	8	16	
3/3	3/3	3/3	1	2	4	8	

\*NÚMERO DE ANIMALES QUE MUEREN/NÚMERO DE ANIMALES USADOS

\*\* LOS RESULTADOS DEL PRIMER TEST SON CONSIDERADOS PARA ESTAS DOSIS

FUENTE: LORKE D, 1983 (57).

La DL50 se determina de la siguiente manera: se obtiene el promedio geométrico de las dosis para las cuales se encuentren 0/1 y 1/1 muertes de manera subsecuentes en la segunda prueba (57). Ejemplo:

**TABLA N°3: Determinación de la DL50 en ratas según el método de Lorke**

Sustancia	Primera fase		Segunda fase	
	Dosis (mg/kg)	Mortalidad	Dosis (mg/kg)	Mortalidad
X	10	3/3	1	0/1
	100	3/3	2	0/1
	1000	3/3	4	0/1
			8	1/1

$$DL50 = (4+8) / 2 = 6\text{mg/kg}$$

**FUENTE: LORKE D, 1983 (57).**

### **PARA LA DETERMINACIÓN DE DL 50**

Entonces el DL50 se calcula por la fórmula: Media geométrica de las dosis para las que se encontraron 0/1 y 1/1

$$DL50 = \frac{D0 + D100}{2}$$

**D0:** La dosis más alta que no dio mortalidad (0/1)

**D100:** La dosis más baja que produjo mortalidad (1/1)

### **2.4. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS**

- 1) **Diarrea:** Evacuación intestinal frecuente, con mayor contenido de agua que lo normal sin sangre. La causa puede ser infección bacteriana o por parásito que normalmente se establecen en cualquier parte del intestino (58).
- 2) **Antihelmíntico:** Actúan eliminando o inhibiendo el crecimiento de los parásitos intestinales, que pueden afectar al ser humano o animales (59).
- 3) **Dosis terapéutica:** cantidad de un fármaco o medicamento que debe administrarse para lograr el efecto terapéutico deseado en el organismo sin causar efectos adversos significativos (60).
- 4) **Efecto terapéutico:** Se refiere a la respuesta a un tratamiento o administración de un fármaco o sustancia de cualquier tipo, cuyos resultados se consideran útiles o favorables (61).

- 5) **Extracto etanólico:** Se obtiene macerando la planta aromática en etanol, por lo que sólo extraeremos los compuestos solubles en este alcohol (62).
- 6) **Toxicidad:** La capacidad intrínseca que posee una sustancia química de producir efectos adversos sobre un sistema biológico, a través de su ingestión, inhalación, absorción o inyección (63).
- 7) **DL50:** Es la dosis única, obtenida por estadística, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca muerte del 50% de los animales a los que se haya administrado. El valor de la DL50 se expresa en peso de la sustancia por unidad de peso del animal (miligramos por kilogramo) (63).
- 8) **Helminetos:** Del griego elmins o helmíns es igual a gusano, en sentido estricto, "gusano parásito". Nombre genérico que se aplica a organismos invertebrados de vida libre y parásitos. Los gusanos presentan un cuerpo blando sin apéndices, segmentados o no, con simetría bilateral (64).
- 9) **Helmintiasis:** Enfermedad producida por gusanos parásitos que viven alojados en los tejidos o en el intestino de un vertebrado (65).
- 10) **Maceración:** Es una extracción que se realiza a temperatura ambiente. Consiste en remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente (agua o etanol) hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles, el material vegetal se deja en reposo por un período de 2 a 14 días con agitación esporádica (66).
- 11) **Parásito:** Organismo vivo que se localiza en el interior o en la superficie de otro ser vivo conocido como huésped del cual obtiene sus alimentos y aprovecha todos los beneficios de dicha unión. Es decir, vive a expensas del huésped (67).
- 12) **Huésped:** Todo ser vivo (hombre, animal y vegetal) que tiene la capacidad de albergar a otro ya en sus cavidades, tejidos o superficie corporal (68).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. MATERIALES BIOLÓGICOS

##### 3.1.1. MATERIAL PARASITOLÓGICO

Se utilizó como modelo biológico a la *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana” adquiridos en el centro de lombricultura de la facultad de Agronomía y Zootecnia sede UNSAAC, localizado en K´ayra - San Jerónimo.

##### 3.1.2. MATERIAL VEGETAL

En la realización del presente estudio se utilizó las hojas de la especie vegetal *Tanacetum vulgare* “Palma Real” el cual se obtuvo de la comunidad de Pumamarca ubicado en el distrito de San Sebastián, provincia de Cusco, en la región Cusco, con una altitud de 3438 m.s.n.m.

#### 3.2. MATERIALES E INSTRUMENTOS DEL LABORATORIO

##### 3.2.1. EQUIPOS

- Cocinilla eléctrica
- Balanza digital 0.0001 mg de sensibilidad
- Estufa
- Molino corona tradicional

##### 3.2.2. MATERIALES DE CAMPO

- Bolsas de papel kraff
- Bolsas de polietileno transparente
- Cinta masking
- Cámara fotográfica
- Cuaderno de campo
- Tijeras podadoras
- Lapiceros
- Marcadores

### **3.2.3. MATERIALES DE LABORATORIO**

- Placas Petri de 100 mm x 20 mm
- Placas Petri de 60 mm x 15 mm.
- Tubos de ensayo 100 mm x 15 mm
- Matraces erlenmeyer 500 mL, 250 mL, 125 mL y 100 mL
- Probetas graduadas, de 250 mL, 100 mL, y 500 mL.
- Vasos de precipitación 10 mL, 25 mL, 50 mL
- Jeringa de 1 mL, 5 mL
- Gradillas para tubos de ensayo.
- Envases de descarte.
- Papel toalla.
- Materiales de protección personal (barbijo, mandil, guantes)
- Pinzas
- Pipetas
- Baguetas
- Papel filtro
- Embudo de vidrio
- Papel aluminio
- Frasco de vidrio caramelo
- Tamizes

### **3.2.4. REACTIVOS**

Para la prueba de solubilidad

- Agua destilada
- Metanol QP
- Etanol 40°
- Etanol 70°
- Etanol absoluto
- Acetona QP
- Hexano QP.

Para la prueba fitoquímica

- Reactivo de Shinoda (Flavonoides)

- Cloruro Férrico (FeCl<sub>3</sub>) (Fenoles y Taninos)
- Hidróxido de Potasio (KOH) (Quinonas)
- Solución de Gelatina + NaCl (Taninos)
- Reactivo Fehling (Azúcares reductores y Glicósidos)
- Reactivo de Dragendorff (Alcaloides)
- Reactivo de Liebermann y Burchard (Triterpenos y esteroides)
- Reactivo Baljet (Lactona y Sesquiterpenos)
- Prueba de espuma (Saponinas)

### **3.2.5. OTROS MATERIALES**

- Cronómetro
- Jaulas 40 x 50 cm
- Albendazol 2%
- Piperazina 10%
- Papel aluminio
- Sonda nasogástrica N°6

## **3.3. POBLACIÓN EN ESTUDIO**

Para el estudio de la actividad antihelmíntica se trabajó con el modelo biológico *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana” obtenida del centro de lombricultura de la Facultad de Agronomía sede UNSAAC, obteniéndose al final un total de 66 lombrices, el estudio se realizó con el total de la población.

## **3.4. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **3.4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

El nivel de investigación es aplicada, de tipo experimental y orden cuantitativo, con un diseño cuasiexperimental porque se manipula deliberadamente al menos una variable independiente para ver su actividad antihelmíntica y la relación a una o más variables dependientes y un enfoque prospectivo porque permitirá la observación del efecto antihelmíntico según irá ocurriendo en el proceso.

Para demostrar la probable toxicidad aguda se usó un estudio cuasiexperimental con pre prueba y post prueba teniendo en cuenta el método Lorke.

### 3.4.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

#### a. DEL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO.

Se realizó un diseño con post prueba y grupo control negativo.

G<sub>1</sub> X<sub>1</sub> O<sub>1</sub>

G<sub>2</sub> X<sub>2</sub> O<sub>2</sub>

G<sub>3</sub> X<sub>3</sub> O<sub>3</sub>

G<sub>4</sub> X<sub>4</sub> O<sub>4</sub>

G<sub>5</sub> X<sub>5</sub> O<sub>5</sub>

G<sub>6</sub> X<sub>6</sub> O<sub>6</sub>

G<sub>7</sub> --- O<sub>7</sub>

Donde:

**1G<sub>1</sub>, 1G<sub>2</sub>, 1G<sub>3</sub>, 1G<sub>4</sub>, 1G<sub>5</sub>, 1G<sub>6</sub>, 1G<sub>7</sub>:** *Eisenia foetida*, cada grupo formado por un animal de experimentación con seis repeticiones.

**X<sub>1</sub>:** Concentración del extracto seco etanólico 0.5%

**X<sub>2</sub>:** Concentración del extracto seco etanólico 2%

**X<sub>3</sub>:** Concentración del extracto seco etanólico 4%

**X<sub>4</sub>:** Concentración del extracto seco etanólico 6%

**X<sub>5</sub>:** Solución usada como control positivo (albendazol 2%).

**X<sub>6</sub>:** Solución usada como control positivo (piperazina 10%)

**---**: Solución usada como blanco (agua destilada).

**O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>:** Observación de la motilidad de la *Eisenia foetida* viva y muerte durante el tiempo que dure el experimento.

#### b. DE LA PRUEBA PARA DETERMINAR LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA

**FASE I:** Los tres grupos de pre prueba estuvieron formados por 3 animales de experimentación según la tabla del método Lorke.

G<sub>1</sub> X<sub>1</sub> O<sub>1</sub> O<sub>5</sub> O<sub>9</sub> O<sub>13</sub> O<sub>17</sub> O<sub>21</sub> O<sub>25</sub> O<sub>29</sub> O<sub>33</sub> O<sub>37</sub> O<sub>41</sub> O<sub>45</sub> O<sub>49</sub> O<sub>53</sub>

G<sub>2</sub> X<sub>2</sub> O<sub>2</sub> O<sub>6</sub> O<sub>10</sub> O<sub>14</sub> O<sub>18</sub> O<sub>22</sub> O<sub>26</sub> O<sub>30</sub> O<sub>34</sub> O<sub>38</sub> O<sub>42</sub> O<sub>46</sub> O<sub>50</sub> O<sub>54</sub>

G<sub>3</sub> X<sub>3</sub> O<sub>3</sub> O<sub>7</sub> O<sub>11</sub> O<sub>15</sub> O<sub>19</sub> O<sub>23</sub> O<sub>27</sub> O<sub>31</sub> O<sub>35</sub> O<sub>39</sub> O<sub>43</sub> O<sub>47</sub> O<sub>51</sub> O<sub>55</sub>

G<sub>4</sub> X<sub>4</sub> O<sub>4</sub> O<sub>8</sub> O<sub>12</sub> O<sub>16</sub> O<sub>20</sub> O<sub>24</sub> O<sub>28</sub> O<sub>32</sub> O<sub>36</sub> O<sub>40</sub> O<sub>44</sub> O<sub>48</sub> O<sub>52</sub> O<sub>56</sub>

Donde:

**G<sub>1</sub>**: Grupo control constituido por 3 ratones albinos

**G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub>**: Grupos experimentales formados por 3 ratones albinos.

**---**: Dosis de suero fisiológico 0.2 mL (solución usada como blanco)

**X<sub>2</sub>**: Dosis de 10 mg/Kg del extracto seco

**X<sub>3</sub>**: Dosis de 100 mg/kg del extracto seco

**X<sub>4</sub>**: Dosis de 1000 mg/kg del extracto seco

**O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, O<sub>4</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 5 minutos.

**O<sub>5</sub>, O<sub>6</sub>, O<sub>7</sub>, O<sub>8</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 10 minutos.

**O<sub>9</sub>, O<sub>10</sub>, O<sub>11</sub>, O<sub>12</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 15 minutos.

**O<sub>13</sub>, O<sub>14</sub>, O<sub>15</sub>, O<sub>16</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 30 minutos.

**O<sub>17</sub>, O<sub>18</sub>, O<sub>19</sub>, O<sub>20</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 60 minutos.

**O<sub>21</sub>, O<sub>22</sub>, O<sub>23</sub>, O<sub>24</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a la hora.

**O<sub>25</sub>, O<sub>26</sub>, O<sub>27</sub>, O<sub>28</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 2 horas

**O<sub>29</sub>, O<sub>30</sub>, O<sub>31</sub>, O<sub>32</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 6 horas

**O<sub>37</sub>, O<sub>38</sub>, O<sub>39</sub>, O<sub>40</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 24 horas.

**O<sub>41</sub>, O<sub>42</sub>, O<sub>43</sub>, O<sub>44</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 2 días.

**O<sub>45</sub>, O<sub>46</sub>, O<sub>47</sub>, O<sub>48</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 4 días.

**O<sub>49</sub>, O<sub>50</sub>, O<sub>51</sub>, O<sub>52</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 7 días.

**O<sub>53</sub>, O<sub>54</sub>, O<sub>55</sub>, O<sub>56</sub>**: Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 14 días.

**FASE II:** De acuerdo a los resultados que serán obtenidos de la fase I

G<sub>1</sub> X<sub>1</sub> O<sub>1</sub> O<sub>5</sub> O<sub>9</sub> O<sub>13</sub> O<sub>17</sub> O<sub>21</sub> O<sub>25</sub> O<sub>29</sub> O<sub>33</sub>

G<sub>2</sub> X<sub>2</sub> O<sub>2</sub> O<sub>6</sub> O<sub>10</sub> O<sub>14</sub> O<sub>18</sub> O<sub>22</sub> O<sub>26</sub> O<sub>30</sub> O<sub>34</sub>

G<sub>3</sub> X<sub>3</sub> O<sub>3</sub> O<sub>7</sub> O<sub>11</sub> O<sub>15</sub> O<sub>19</sub> O<sub>23</sub> O<sub>27</sub> O<sub>31</sub> O<sub>35</sub>

G<sub>4</sub> X<sub>4</sub> O<sub>4</sub> O<sub>8</sub> O<sub>12</sub> O<sub>16</sub> O<sub>20</sub> O<sub>24</sub> O<sub>28</sub> O<sub>32</sub> O<sub>36</sub>

Donde:

**G1:** Grupo control formado por un ratón.

**G2, G3, G4:** Grupos experimentales formados por un ratón albino.

**X1:** Dosis de 1 mL de suero fisiológico

**X2:** Dosis de 20 mg/Kg del extracto seco etanólico de *Tanacetum vulgare*.

**X3:** Dosis de 40 mg/Kg del extracto seco etanólico de *Tanacetum vulgare*.

**X4:** Dosis de 80 mg/Kg del extracto seco etanólico de *Tanacetum vulgare*.

**X5:** Dosis de 160 mg/Kg del extracto seco etanólico de *Tanacetum vulgare*.

**O1, O2, O3, O4:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 5 minutos.

**O5, O6, O7, O8:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 10 minutos.

**O9, O10, O11, O12:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 15 minutos.

**O13, O14, O15, O16:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 30 minutos.

**O17, O18, O19, O20:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a los 60 minutos.

**O21, O22, O23, O24:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a la hora.

**O25, O26, O27, O28:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 2 horas.

**O29, O30, O31, O32:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 6 horas.

**O33, O34, O35, O36:** Observación de efecto tóxico agudo o muerte a las 24 horas.

### 3.4.3. IDENTIFICACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

#### 3.4.3.1 VARIABLES IMPLICADAS

**TABLA N°4: Operacionalización de las variables implicadas de estudio**

VARIABLE		OPERACIONALIZACIÓN							
		DEFINICIÓN CONCEPTUAL	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	INDICADOR	PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO	EXPRESIÓN FINAL
V. INDEPENDIENTE	Extracto seco etanólico al 70 % de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> ( <i>Palma Real</i> ).	Es la cantidad de una materia prima pulverizada, obtenida por una maceración en contacto con etanol al 70%, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento de evaporación (69).	Cuantitativa	Directa	Razón	Concentraciones del extracto seco etanólico	Se realizó el cálculo de dosis de acuerdo a las concentraciones requeridas en gr/ml luego se procederá a pesar los extractos secos para realizar las diferentes diluciones en agua destilada.	Balanza analítica	Porcentaje
	Actividad antihelmíntica	Capacidad de una sustancia afectando el sistema neuromuscular de la lombriz causando parálisis flácida o espástica para provocar parálisis o muerte, ya que tienen una fisiología similar a la de los helmintos, especialmente en lo que respecta al sistema neuromuscular (70).	Cuantitativa	Directa	Razón	motilidad y supervivencia	Tiempo transcurrido desde el inicio del experimento hasta que los movimientos de las lombrices cesan más allá de su motilidad normal y se expresan en tiempo de parálisis en minutos.	Observación directa Cronómetro	Minutos
			Cuantitativa	Directa	Razón	Muerte	Tiempo transcurrido desde el inicio del experimento hasta que se comprueba la muerte de las lombrices, colocando éstas durante 10 segundos en tubos de ensayos de 25 mm de diámetro conteniendo 10 ml de agua destilada a 45°C, lo que provoca la estimulación e induce movimientos en los vermes si aún se encuentran vivos.	Observación directa Cronómetro	Minutos
Toxicidad aguda	Capacidad de una sustancia que produce efectos nocivos luego de ser administrado en dosis única, en un porcentaje de animales expuestos experimentalmente, durante un tiempo específico y bajo condiciones controladas (57).	Cuantitativa	Directa	Ordinal	Grado de letalidad	Número de animales de experimentación muertos en relación a los vivos, con la administración de los extractos de los extractos de la planta.	Observación directa	Muy tóxico, Tóxico, Poco tóxico o Atóxico.	

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### 3.4.3.2. VARIABLES NO IMPLICADAS

#### 3.4.3.2.1. INTERVINIENTES

##### a. Del animal en experimentación

**Especie:** R ratones *Mus musculus* cepa Balb/c/CNPB.

**Edad:** De 2 a 3 meses

**Sexo:** macho y hembra

**Peso:** Entre 20 - 22 gr

**Especie:** *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana”

**Estadio:** Adulto

**Tamaño:** 7 - 8.5 cm de longitud

##### b. De la planta

**Estadio de crecimiento:** Se determinó el estado de maduración de la especie *Tanacetum vulgare* “Palma Real” mediante una inspección visual evaluando el período en la que florece.

**Altitud de recolección:** La especie vegetal en estudio se recolectará a 3438 m.s.n.m.

**Temporada de recolección:** En los meses de enero - abril se obtiene brotes jóvenes.

**Parte de la planta a estudiar:** Se estudiarán las partes aéreas “hojas”

#### 3.4.3.2.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN

##### a. MUESTRA VEGETAL

###### • Criterios de Inclusión

Se recolectó todas aquellas plantas íntegras y completa entre raíces hojas, tallos de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”, ejemplares sanos, libres de contaminación (hongos, microorganismos e insecticidas), que no se encuentren en contacto con la población o que estén cerca de áreas donde haya animales, que estén en estado de maduración.

- **Criterios de Exclusión**

Se excluyó las muestras vegetales que estén en mal estado, dañadas (amarillas o quemadas por el frío) con contaminación parasitaria, con polvo, bacterias, hongos; también se excluye muestras que no hayan alcanzado el estado de maduración (muy tiernas o muy maduras)

## **b. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

### **LOMBRICES**

- **Criterio de inclusión**

Se incluyó lombrices con un tamaño comprendido entre 7 – 8.5 cm de longitud, mantenida en un medio de cultivo rico en materia orgánica (humus) a 25°- 27°, humedad relativa del 80% y ph7.

- **Criterio de exclusión**

Se excluyó todas las lombrices que se encuentren fuera de los parámetros establecidos o estén muy delgadas.

### **RATONES**

- **Criterio de inclusión**

Se incluyó ratones *Mus musculus*, con una edad de un mes y medio con peso promedio de 20 – 22 gr completamente sanos.

- **Criterio de exclusión**

Se excluyó ratones *Mus musculus* que presenten alguna enfermedad o que estén fuera del rango del peso establecido.

## **3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**Técnica:** En el presente trabajo de investigación se utilizó la técnica de observación para recolectar los datos, utilizando como instrumentos: cronómetro y hojas de recolección de datos para el proceso de investigación.

Instrumentos:

- Para la determinación del porcentaje de humedad. (ANEXO N°2)
- Para la determinación del porcentaje de rendimiento (ANEXO N°2)
- Para las pruebas de solubilidad (ANEXO N°3)

- Para el análisis fitoquímico cualitativo (ANEXO N°4)
- Para la determinación de la actividad antihelmíntica (ANEXO N°5)
- Para la determinación de la dosis letal media (ANEXO N°6)

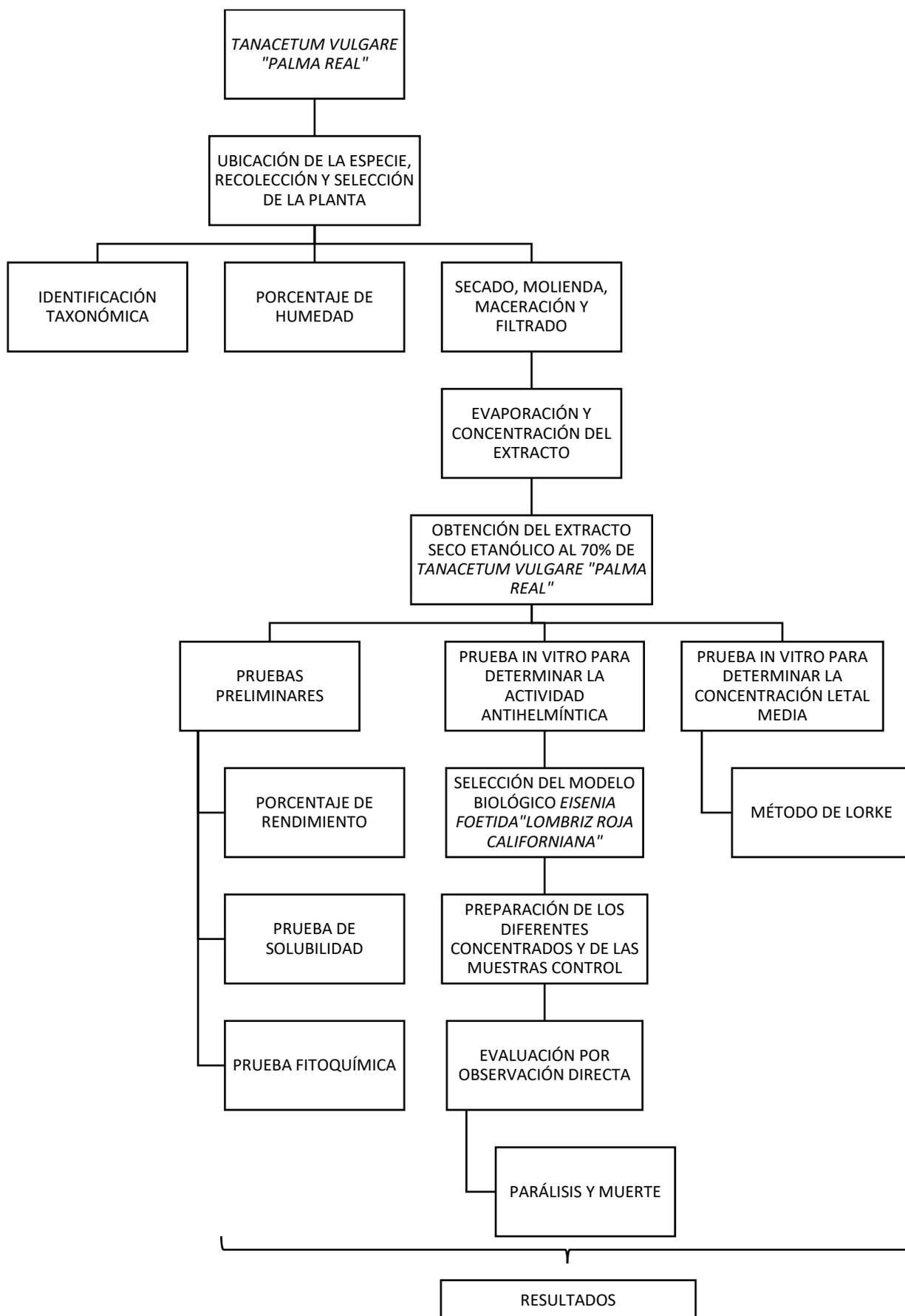
### **3.6. TÉCNICAS PARA PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN**

Para la parte estadística, los datos se organizaron y clasificaron para el adecuado procesamiento.

Después de la obtención de la determinación de la actividad antihelmíntica frente al modelo biológico de *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana” de las especies vegetales *Tanacetum vulgare* “Palma Real” se procedió analizar los datos utilizando el programa Microsoft Excel, para su posterior procesamiento mediante el paquete estadístico.

Para el manejo de variables cuantitativas, se utilizó el análisis de varianza multifactorial (ANOVA) y la prueba Tukey o HSD. El objetivo fue determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las medias de tres o más grupos, comparando la varianza entre los grupos con la varianza dentro de los mismos. Si la varianza entre los grupos resultó mayor que la varianza dentro de los grupos, se consideró probable la presencia de diferencias significativas en las medias. Por el contrario, si la varianza dentro de los grupos superó a la varianza entre ellos, las diferencias observadas en las medias podrían atribuirse al azar. La prueba post hoc de Tukey se aplicó exclusivamente cuando el ANOVA arrojó resultados significativos, con el propósito de identificar qué pares específicos de grupos diferían mediante comparaciones múltiples controladas. Este método ajustó los intervalos de confianza para limitar el error acumulado al evaluar todos los pares posibles.

## FLUJOGRAMA N°1: Esquema de la investigación



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

## 3.7. ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN

### 3.7.1. PREPARACIÓN DE LA PLANTA EN ESTUDIO

#### 3.7.1.1. Obtención de los extractos

- **Recolección**

Las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”, fueron recolectadas de la comunidad de Pumamarca perteneciente al distrito de San Sebastián, provincia de Cusco, Departamento del Cusco, zona situada a 3438 msnm, en los meses de enero – abril durante horas de la mañana en una bolsa de tela.

- **Identificación botánica:**

Se realizó en el Herbario Vargas (CUZ) de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco y con la autorización del SERFOR.

- **Selección y secado de la muestra**

Una vez obtenida la muestra se procedió a la limpieza y selección de los mejores ejemplares de hojas de la planta, tomando en cuenta que se encuentren enteras, sin manchas, insectos u hongos; luego se extendió las hojas seleccionadas en papel Kraft, sobre mallas de alambre por niveles en un área ventilado y sombreado a temperatura ambiente por un período de 30 días.

- **Molienda**

Se trituró la muestra vegetal seca con la ayuda de un molino de discos, obteniéndose una muestra homogénea pulverizada, está pasó a ser tamizada para luego ser envasado en un frasco de vidrio forrado con papel aluminio de tapa hermética.

- **Obtención del extracto**

La parte molida y envasada de la especie en estudio, se sometió a maceración en etanol al 70% en una relación de 1:2 aproximadamente, en un envase forrado de aluminio debidamente etiquetada, se agitó diariamente por un período de 15 días a temperatura ambiente, pasado este tiempo se procedió a filtrar el macerado, el producto filtrado se

traspasó a envases de boca ancha y fueron sometidos a evaporación a una temperatura de 40°C.

Estos extractos se usaron para las pruebas de solubilidad, análisis fitoquímico cualitativo, determinación del extracto etanólico y toxicidad aguda.

### **3.5.1.1 Determinación del porcentaje de humedad**

Se realizó el secado de la muestra fresca trozada en placas Petri, los cuales fueron introducidas en una estufa a 110°C hasta conseguir un peso constante. Este procedimiento se llevó a cabo por triplicado (71).

Finalmente, se determinó el porcentaje de humedad mediante la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{(M_1 - M_2) * 100}{M_1}$$

Donde:

%H: Porcentaje de humedad

M<sub>1</sub>: Peso de muestra fresca

M<sub>2</sub>: Peso de muestra seca

### **3.5.1.2 Determinación del porcentaje de rendimiento:**

El porcentaje de rendimiento de la especie en estudio se calculó mediante la siguiente fórmula: (71)

$$\%E = \frac{P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

%E: Porcentaje de extracción

P<sub>f</sub>: Peso final (peso seco)

P<sub>i</sub>: Peso inicial (muestra pulverizada)

### **3.5.1.3 Prueba de solubilidad**

Para realizar las pruebas de solubilidad se pesaron aproximadamente 10 mg del extracto y se distribuyeron en distintos tubos de ensayo. A cada tubo se le añadió 1 mL de solvente diferente, organizando los solventes en orden descendente según su polaridad (del más polar al menos polar). La evaluación de la solubilidad se realizó a temperatura ambiente, determinándose la capacidad disolutiva del extracto en cada solvente (72).

**TABLA N°5: Solventes para las pruebas de solubilidad**



FUENTE: VERA K, CARDONA AK, VERA I, VILLENA M, 2019 (72).

#### 3.5.1.4 Análisis fitoquímico cualitativo

Se realizó las pruebas para determinar la presencia o ausencia de metabolitos primarios y secundarios más importantes. Se utilizó 20 mg de extracto etanólico desecado de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”; se disolvió con el solvente más soluble y se añadió 1 mL de diversos reactivos; se identificó los metabolitos primarios y secundarios presentes en el extracto (72).

**TABLA N°6: Pruebas del análisis fitoquímico cualitativo**

METABOLITO SECUNDARIO	REACTIVO
AZUCARES REDUCTORES	Fehling
ALCALOIDES	Dragendorff modificado
LACTONA	Baljet
FLAVONOIDES	Shinoda
FENÓLICOS	FeCl <sub>3</sub>
TANINOS	Gelatina – Sal
SAPONINAS	Prueba de la espuma
ESTEROIDES - TRITERPENOIDES	Liberman Y Burchard
QUINONAS	KOH%

FUENTE: LOCK DE UGAZ OLGA; 1994 (73).

### 3.7.2. DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIHELMÍNTICO

#### 3.7.2.1. Obtención, selección de parásitos

Se eligió el centro de lombricultura de la Facultad de Agronomía y Zootecnia de la UNSAAC, lugar para extraer como modelo biológico a la especie *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana”, cuyos individuos fueron extraídos cuidadosamente del medio de cultivo donde se mantenían a una temperatura entre 25 y 27°C, humedad relativa de 80%, pH neutro y alimentación rica en materia orgánica (74).

Posteriormente fueron transferidos a un recipiente con agua destilada para su lavado y selección según tamaño asegurando así una longitud uniforme con diferencias inferiores a +- 3,0 mm para cada tratamiento, incluido los controles, se empleó una placa Petri identificadas según los grupos de experimentos y control.

### 3.7.2.2 Pruebas in vitro para determinar la Actividad Antihelmíntica

#### PRUEBA PILOTO

La prueba piloto se realizó para determinar las concentraciones máximas y mínimas del concentrado de *Tanacetum vulgare* “Palma Real” obtenida a partir del extracto etanólico, para el modelo biológico *Eisenia foetida* “Lombriz roja Californiana”. Con la finalidad de realizar una estandarización de las concentraciones antihelmínticas; para este ensayo se utilizaron diferentes concentraciones del extracto seco, los cuales se presentarán a continuación.

**TABLA N°7: Concentraciones usadas en las pruebas piloto**

Concentraciones para la actividad antihelmíntica in vitro del extracto seco etanólico de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”																
N° de muestras	0.25 %		0.5 %		2 %		4 %		6 %		8 %		10 %		H <sub>2</sub> O (d)	
	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P	M
<b>PLACA 1</b>	320	NM	135	NM	90	120	45	60	11	19	5	9	2	5	600	600
<b>PLACA 2</b>	340	NM	140	160	85	NM	40	55	16	20	7	8	5	6	600	600
<b>PLACA 3</b>	372	NM	139	NM	100	135	35	50	13	23	4	10	3	6	600	600

**Leyenda:** NM: no muere; P: parálisis; M: muerte

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Se prepararon las placas previamente rotuladas, incluidos los controles, en las que se añadieron 10 mL del extracto seco en cuestión y tres lombrices (réplicas).

#### ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA FRENTE AL MODELO BIOLÓGICO

- La actividad antihelmíntica in vitro se llevó a cabo en *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana” adultas recolectadas de suelo húmedo y lavadas con solución salina normal para eliminar toda la materia fecal, debido a su fácil disponibilidad y semejanza anatómica y fisiológica con el parásito intestinal humano. Se trabajó con un total de 66 lombrices, 24 lombrices sirvieron para evaluar la prueba piloto y 42 lombrices para la prueba in vitro.
- Se utilizaron cuatro dosis diferentes de extracto de hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”, obtenidas de la prueba piloto. También se utilizó agua destilada como control negativo y piperazina al 10% y albendazol al 2% como controles positivos.
- Se preparó los extractos etanólicos de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real” en diferentes concentraciones al 0.5%, 2%, 4% y 6% mediante la disolución de 0,05 gr, 0,2 gr, 0,4 gr y 0,6 gr de los extractos secos en agua destilada y su volumen final

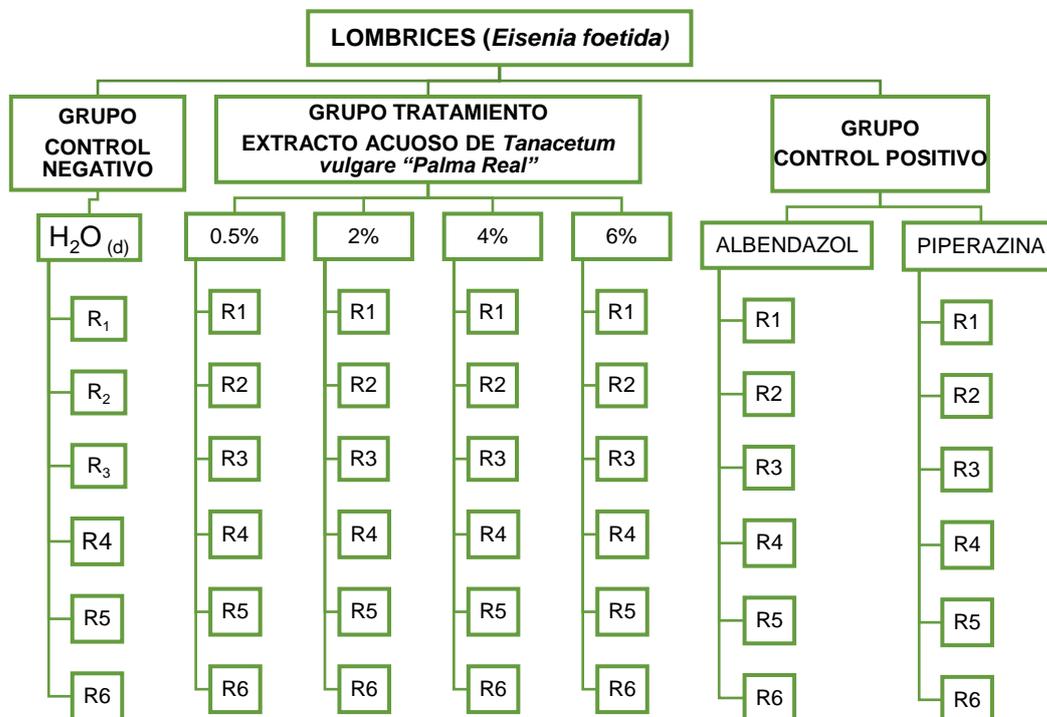
de 10 mL. El volumen final de la solución estándar del fármaco y las diferentes concentraciones de extractos se vertieron en placas de Petri por separado, formando un total de siete grupos y cada grupo por seis repeticiones de una lombriz de igual tamaño.

- La actividad antihelmíntica se evaluó mediante la observación directa y consistió en detectar en las lombrices cambios en la motilidad y alteraciones en el tegumento hasta la muerte en función del tiempo (motilidad y supervivencia) (75), según los siguientes criterios:

**Parálisis:** Tiempo transcurrido desde el inicio del experimento hasta que los movimientos de las lombrices cesan más allá de su motilidad normal y se expresó en tiempo de parálisis en minutos (75).

**Muerte:** Tiempo transcurrido desde el inicio del experimento hasta que se comprobó la muerte de las lombrices, colocando éstas durante 10 segundos en tubos de ensayos de 25 mm de diámetro conteniendo 10 mL de agua destilada a 45°C, lo que provoca la estimulación e induce movimientos en los vermes si aún se encuentran vivos (75).

### FLUJOGRAMA N°2: Proceso de la actividad antihelmíntica



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### **3.7.3. DETERMINACIÓN LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA**

Para determinar la dosis letal (DL50) se utilizó el método de Lorke (57).

#### **3.7.3.1. MÉTODO DE LORKE**

Este método propone la determinación de la toxicidad aguda en dos fases, además está basada en la suposición de que la sustancia química a ser investigada, es completamente desconocida y será llevada con número mínimo de animales experimentales (57).

Se emplearon los ratones con un peso promedio de 22 - 25 gr, la variación en peso, fue mínima y no superó el 20% del peso medio de cada sexo.

Se seleccionó al azar animales jóvenes sanos, se marcaron para permitir su identificación individual y se mantuvieron en sus jaulas durante al menos 5 días antes del inicio del estudio, a fin de que se aclimaten a las condiciones del laboratorio. Los animales se colocaron en jaulas agrupadas por sexo y dosis, pero el número de animales de cada jaula no debe obstaculizar la realización de observaciones claras de cada animal, la sustancia estudiada se administró en una sola dosis a los animales directamente con sonda gástrica o cánula adecuada de intubación.

Los animales se mantuvieron en ayuno antes de la administración durante unas tres o cuatro horas, no debe retirarse el agua.

- **FASE I:**

Inicialmente es necesario determinar el rango aproximado de la toxicidad aguda.

Esta fase requiere doce animales, estos se dividen en cuatro grupos de tres animales cada uno.

**METODOLOGÍA:** Al primer grupo (agua destilada), a los tres últimos grupos se les administraron dosis diferentes (10, 100, 1000 mg/kg) del extracto seco etanólico de la especie vegetal *Tanacetum vulgare* "Palma Real". Se calculó la dosis individual, según el peso del ratón, el extracto fue disuelto con agua destilada para ser administrado mediante la cánula nasogástrica en un volumen de 1mL (Fotografía N°16) como resultado de la fase I (57).

- **FASE II:** Con los resultados de la fase I, se utilizó la siguiente Tabla N°2 para determinar las nuevas dosis en la fase II en el que cada grupo está formado por un único animal de experimentación.

El resultado obtenido fue de 0/3,0/3, 2/3, 3/3 con las dosis empleadas de la fase I; para la fase II correspondieron las siguientes dosis 20, 40, 80 y 160 mg/kg.

Esta fase implica el uso de cuatro animales, que se distribuyeron en cuatro grupos de un animal cada uno. A los animales se les administró dosis más altas como resultado de la fase I. Al primer animal (agua destilada) y a los tres últimos animales, se les administró dosis diferentes (20, 40, 80 y 160 mg/kg) de sustancia de ensayo. Luego se observó los efectos adversos durante 24 horas para determinar el comportamiento y la mortalidad (ANEXO N°6)

Los resultados mostrarán si una sustancia es muy tóxica, tóxica, poco tóxica o débilmente tóxica según la tabla N°1. Los animales fueron observados individualmente durante los primeros 30 min con especial atención durante las primeras 4 horas y diariamente hasta los 14 días del experimento, recogiendo signos y síntomas de toxicidad tanto en la primera fase como en la segunda etapa (57).

### 3.7.3.2 DETERMINACIÓN DE DL50

La dosis letal media se calcula por la fórmula media geométrica de las dosis para las que se encontraron 0/1 y 1/1 (57).

$$DL50 = \frac{D0 + D100}{2}$$

**D0:** La dosis más alta que no dio mortalidad (0/1)

**D100:** La dosis más baja que produjo mortalidad (1/1)

**TABLA N°8: Determinación de la DL50 del extracto en ratones según el método Lorke.**

TIPO DE EXTRACTO	PRIMERA ETAPA		SEGUNDA ETAPA	
	Dosis (mg/Kg)	Mortalidad	Dosis (mg/Kg)	Mortalidad
EXTRACTO SECO DE HOJAS Y TALLOS DE <i>Tanacetum vulgare</i> (Palma Real)	10	0/3	20	0/1
	100	2/3	40	0/1
	1000	3/3	80	0/1
			160	1/1

La DL50 se determina de la siguiente manera: se obtiene el promedio geométrico de las dosis para las cuales se encuentren 0/1 y 1/1 muertes de manera subsecuentes en la segunda prueba.

FUENTE: LORKE D, 1983 (57).

## CAPÍTULO IV

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

**TABLA N°9: Resultado del porcentaje de humedad de las hojas *Tanacetum vulgare* “Palma real”.**

Muestra	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Porcentaje de humedad (%)
Muestra 1	2	0,737	63.15
Muestra 2	2	0.761	61.95
Muestra 3	2	0.741	62.95
		Promedio	62.68

FUENTE: DATOS OBTENIDOS DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Como se observa en el tabla N°9, el porcentaje de humedad para la especie *Tanacetum vulgare* “Palma Real”, de acuerdo al método gravimétrico fue de 62.68%. Cabe indicar que las hojas de esta planta presentan un porcentaje de humedad considerable, esto puede deberse a su estructura morfoanatómica y contenido interno de agua, propio de especies herbáceas con tejidos parenquimáticos bien desarrollados. Este resultado se asemeja a otro estudio, donde obtuvo un porcentaje de humedad de 71.42%, según **Quispe DL, Zapata M.** (33), lo cual respalda la presencia de un contenido hídrico elevado en esta especie. No obstante, se observa una marcada diferencia al compararlo con los resultados del estudio de **Šukele R, Lauberte L, Kovalcuka L.** (24), quienes reportaron un porcentaje de humedad de 5,5%. Esta diferencia puede deberse a diversos factores, tales como el tipo de tejido vegetal, las condiciones ambientales, método utilizado. Además, es posible que el estudio con el valor más bajo haya trabajado con extracto seco o una muestra ya liofilizada, lo cual explicaría un contenido de humedad tan reducido.

## 4.2. RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

**TABLA N°10: Resultado del porcentaje de rendimiento en hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma real”.**

Muestra	Peso de muestra inicial (g)	Solvente %	Peso del extracto final (g)	Rendimiento %
Muestra 1	10	Etanol 70%	4.392	43.92
Muestra 2	10	Etanol 70%	3.311	33.11
Muestra 3	10	Etanol 70%	3.381	33.81
			Promedio	36.94

FUENTE: DATOS OBTENIDOS DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

De acuerdo a los resultados de la tabla N°10 se muestra que, el extracto etanólico seco de *Tanacetum Vulgare* “Palma Real”, obtuvo un porcentaje de rendimiento de 36,94 % mediante el método de maceración con etanol al 70%. Este resultado indica que las hojas de esta planta tienen un rendimiento óptimo. Siendo este valor cercano al porcentaje de extracción de 18 a 20% obtenido en el estudio realizado por **Šukele R, Lauberte L, Kovalcuka L.** (24), donde utilizó el etanol al 50 % como solvente en la técnica de extracción de diferentes partes morfológicas de *Tanacetum vulgare* silvestres recolectadas en diferentes lugares de Letonia (Europa).

### 4.3. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD

**TABLA N°11: Resultado de la prueba de solubilidad del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma real”.**

Solvente	Resultados	Naturaleza del solvente
Agua destilada	++	Polar
Metanol QP	++	Polar
Etanol absoluto	++	Polar
Etanol al 70 %	+++	Polar
Etanol 40 %	++	Polar
Acetona QP	+	Intermedio
Hexano QP	-	Apolar

FUENTE: DATOS OBTENIDOS DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Leyenda			
+++	Abundante	+	Escaso
++	Moderado	-	Ausente

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N°11 se muestra el resultado de la prueba de solubilidad de extracto etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum Vulgare* “Palma Real” frente a diferentes solventes polares y apolares, donde se observa que el extracto presenta una alta solubilidad en etanol al 70% mientras en hexano es insoluble. Por lo tanto, la mayoría de los metabolitos son de naturaleza polar. El resultado de esta investigación ratifica que la planta es soluble en solventes polares (agua destilada, metanol y etanol) lo que facilitaría la disolución de principios activos tal como manifiesta **Chávez, L.; Gutiérrez, D.** (14).

#### 4.4. RESULTADOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

**TABLA N°12: Resultado del análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma real”.**

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO	RESULTADO	PROPIEDADES FARMACÉUTICAS
FLAVONOIDES	Shinoda	+++	Antioxidantes Cardioprotectores Neuroprotectores
FENÓLICOS	FeCl <sub>3</sub>	+++	Antioxidantes Antiinflamatorios Antimicrobianos
TANINOS	Gelatina – Sal	++	Antioxidante Anticancerígena Antimicrobiana Hemostática Antiinflamatoria Antidiabética Cicatrizante Astringente
AZUCARES REDUCTORES	Reacción Fehling	+++	Prebióticos Energéticos
SAPONINAS	Prueba de la espuma	++	Expectorantes Inmunomoduladores Antiinflamatorias Antimicrobianas
LACTONA- SESQUITERPENOS	Baljet	++	Anticarcinógenas Antimalariales Antiulcerosas Antimicrobianas
ESTEROIDES	Liebermann Y Burchard	-	Antiinflamatorios Anabólicos Inmunosupresores
QUINONAS	KOH	++	Anticancerígenas Antioxidantes
ALCALOIDES	Dragendorff modificado	+	Analgésicos Anticonvulsivos Antitumorales Hipotensores Sedantes Antivirales Antimicrobianos Antiinflamatorios

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Leyenda			
+++	Abundante	+	Escaso
++	Moderado	-	Ausente

#### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

De acuerdo a la tabla N°12, se muestra el análisis fitoquímico cualitativo del extracto seco etanólico de *Tanacetum Vulgare* “Palma Real” mediante pruebas de precipitación para cada metabolito a determinar, donde se observó la presencia en mayor concentración de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas, azúcares reductores y lactonas, moderada concentración de terpenos, quinonas y ausencia de esteroides.

En función a estos resultados el estudio por **Chávez, L.; Gutiérrez, D.** (14) presenta una similitud en la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, azúcares reductores a excepción de los esteroides. Así también el estudio de **Šukele R, Lauberte L, Kovalcuka L.** (24) indicó la presencia de compuestos fenólicos, principalmente taninos, flavonoides y ácidos fenólicos en la planta *Tanacetum vulgare* “Palma real”. Esta abundante cantidad de metabolitos secundarios en taninos y saponinas, serían considerados responsables del efecto antihelmíntico según **Jerelly Hernández** (76). En otro estudio **Borges A. Y., Reinoso M.** indica que la presencia de compuestos fenólicos principalmente taninos tienen la capacidad para formar complejos con las proteínas de los parásitos afectando así la biología y supervivencia de los helmintos. Así como, otros metabolitos como los alcaloides, flavonoides, terpenos y saponinas también contribuyen a la actividad antihelmíntica (77).

#### 4.5. RESULTADOS DEL ESTUDIO FARMACOLÓGICO

**TABLA N°13: Media y mediana de los resultados descriptivos de la parálisis y muerte de la actividad antihelmíntica en términos de según el tiempo (minutos)**

Actividad antihelmíntica	Grupos	Media (minutos)	Mediana (minutos)
PARÁLISIS	Blanco	360,00	360,00
	0.50%	31,33	31,00
	2%	20,83	21,00
	4%	13,33	14,00
	6%	9,17	9,00
	Albendazol 2%	9,50	9,00
	Piperazina 10%	6,67	7,00
MUERTE	0.50%	129,33	128,00
	2%	65,67	67,50
	4%	26,33	26,00
	6%	19,67	19,50
	Albendazol 2%	15,17	15,50
	Piperazina 10%	11,00	10,50

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

#### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el tabla N°13, se muestran la media y la mediana de los resultados descriptivos de la parálisis y muerte de la actividad antihelmíntica del extracto etanólico 70 % de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma real” expresados en tiempo (minutos). En ambos grupos, el control blanco tiene el tiempo (min) más alto posible de 360 minutos, debido a que es un solvente inerte que no modifica las características de la lombriz y por lo tanto su uso no significa una interferencia en la determinación de la actividad antihelmíntica. Los controles positivos muestran claramente la rapidez de la aparición del efecto farmacológico esperado.

**TABLA N°14: Análisis de varianza (Anova) de la parálisis y muerte del efecto antihelmíntico del extracto etanólico 70% de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”**

TRATAMIENTO		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	P=sig.
PARÁLISIS	Entre grupos	614258,952	6	102376,492	60560,742	0,000
	Dentro de grupos	59,167	35	1,690		
	Total	614318,119	41			
MUERTE	Entre grupos	575275,952	6	95879,325	5161,409	0,000
	Dentro de grupos	650,167	35	18,576		
	Total	575926,119	41			

FUENTE: TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.

### ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el tabla N°14, nos muestra el análisis de varianza ANOVA, donde compara el efecto antihelmíntico de la parálisis y muerte entre grupos de tratamiento y el efecto antihelmíntico dentro de los grupos de tratamiento. Ambos muestran diferencias significativas en el tiempo de actividad antihelmíntica entre los diferentes niveles de tratamiento ( $p < 0.001$ ), lo que implica que la dosis influye significativamente en el efecto. Para el grupo parálisis, la alta relación F (60560,742) sugiere que las diferencias entre las dosis son muy marcadas y consistentes, con muy poca variabilidad dentro de los grupos (media cuadrática de 1,690). Similarmente, el grupo muerte muestra una fuerte influencia de la dosis en el efecto antihelmíntica también con una alta relación F (5161,409) y baja variabilidad dentro de los grupos (media cuadrática de 18,576). Estos resultados apoyan fuertemente el objetivo de determinar una dosis efectiva, indicando que la actividad antihelmíntica del extracto puede ser dosificada de manera precisa para obtener el efecto deseado.

**TABLA N°15: Análisis de prueba post-hoc de tukey del tiempo promedio de parálisis con los grupos de tratamiento de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”.**

Actividad antihelmíntica (parálisis)							
Grupos	N	subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
<b>piperazina 10%</b>	6	6,67					
<b>extracto al 6%</b>	6		9,17				
<b>albendazol 2%</b>	6		9,50				
<b>extracto al 4%</b>	6			13,33			
<b>extracto al 2%</b>	6				20,83		
<b>extracto al 0.50%</b>	6					31,33	
<b>Blanco</b>	6						360,00
<b>sig.</b>		1,000	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.							
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.							

FUENTE: DATOS ESTADÍSTICOS

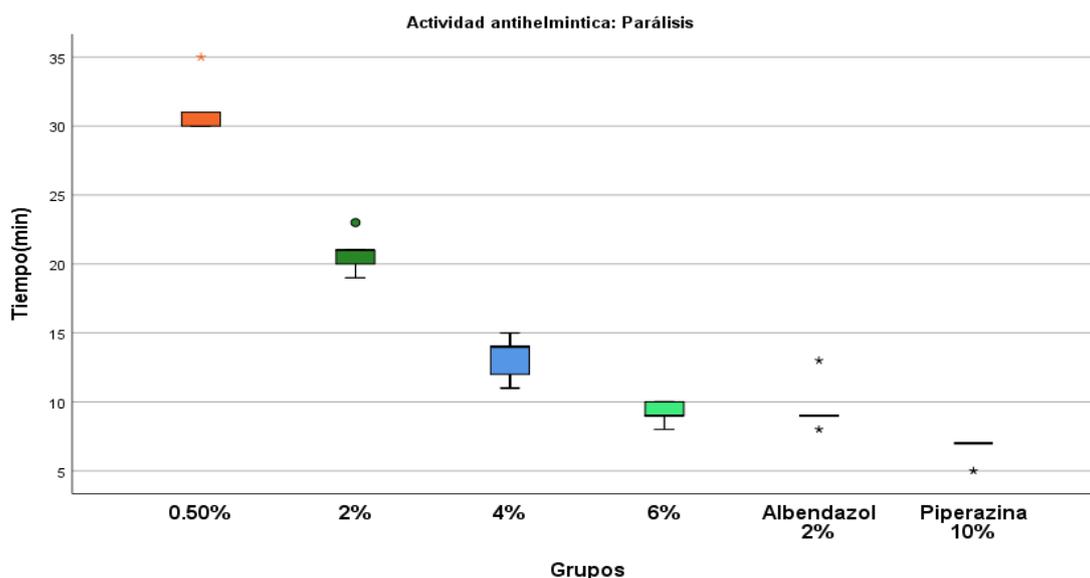
### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el tabla N°15, el análisis post-hoc de tukey muestra la actividad antihelmíntica del tiempo promedio de parálisis, entre los diferentes grupos de tratamiento (0.50%, 2%, 4% y 6%) de las hojas de *Tanacetum vulgare* “*Tanacetum vulgare*” y los grupos control estándar (blanco, albendazol 2% y piperazina 10%), estos varían significativamente entre grupos a una confianza del 95%. La piperazina al 10% es la más eficaz, con la menor media de tiempo (6,67 minutos), seguida de cerca por el extracto al 6% con tiempo medio de (9,17 minutos) y el albendazol al 2% (9,50 minutos), ambos con medias de tiempo inferiores a diez minutos y agrupados en el mismo subconjunto, indicando que no hay diferencias significativas entre ellos. A medida que disminuye la concentración del extracto, el tiempo medio necesario para observar la actividad antihelmíntica aumenta, pasando 13,33 minutos para el extracto al 4%, 20,83 minutos para el extracto al 2%, y 31,33 minutos para el extracto al 0,50%, cada concentración formando su propio subconjunto. El grupo blanco, no recibió ningún tratamiento, mostrando la media de tiempo más alta con 360 minutos. La significancia estadística (sig.) de 1,000 en todos los subconjuntos, indica que no hay diferencias estadísticamente significativas dentro de cada subconjunto específico, pero sí entre grupos, lo que permite determinar la dosis efectiva

para el extracto en función de su proximidad a los resultados de los agentes antihelmínticos estándar.

Se pudieron evidenciar tres reacciones de ensayo al presenciar una sustancia altamente irritante debido a la concentración de principios amargos al poner en contacto las lombrices con los extractos al 4%, 6%, albendazol 2% y piperazina 10% donde se presencia a los 2 min contorsiones violentas y con los segundos se pronunciaron contorsiones se vuelven lentas pero continuas, se pudo evidenciar una parálisis flácida en los extractos al 6% a través de sus signos y síntomas clínicos donde se observó la pérdida de la capacidad de movimiento activo, disminución del tono muscular, pérdida de la rigidez y por la falta de respuesta a estímulos, basándonos en la observación directa en comparación con el grupo blanco y la manipulación suave del organismo.

**GRÁFICO N°1: Variación del tiempo de parálisis por efecto del extracto etanólico de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”.**



FUENTE: DATOS EXPERIMENTALES, LA GRÁFICA NO MUESTRA EL GRUPO DEL BLANCO

## ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la gráfica de caja N°1, se muestra la variación del tiempo parálisis de *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana” entre los diferentes grupos de tratamiento (0.50%, 2%, 4%, 6%, y fármacos control albendazol 2%, piperazina 10%, sin incluir el grupo blanco en la gráfica. Donde se observa que el tiempo medio para el grupo de extracto al 6% no está lejos de los controles positivos, lo cual podría indicar que a esta concentración el extracto tiene una eficacia cercana a la de los tratamientos estándar reconocidos.

**TABLA N°16: Análisis de prueba post-hoc de tukey del tiempo promedio de muerte con los grupos de tratamiento de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma real”.**

Actividad antihelmíntica (muerte)							
Grupos	N	subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
piperazina 10%	6	11,00					
albendazol 2%	6	15,17	15,17				
6%	6		19,67	19,67			
4%	6			26,33			
2%	6				65,67		
0.50%	6					129,33	
blanco	6						360,00
sig.		,637	,551	,134	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

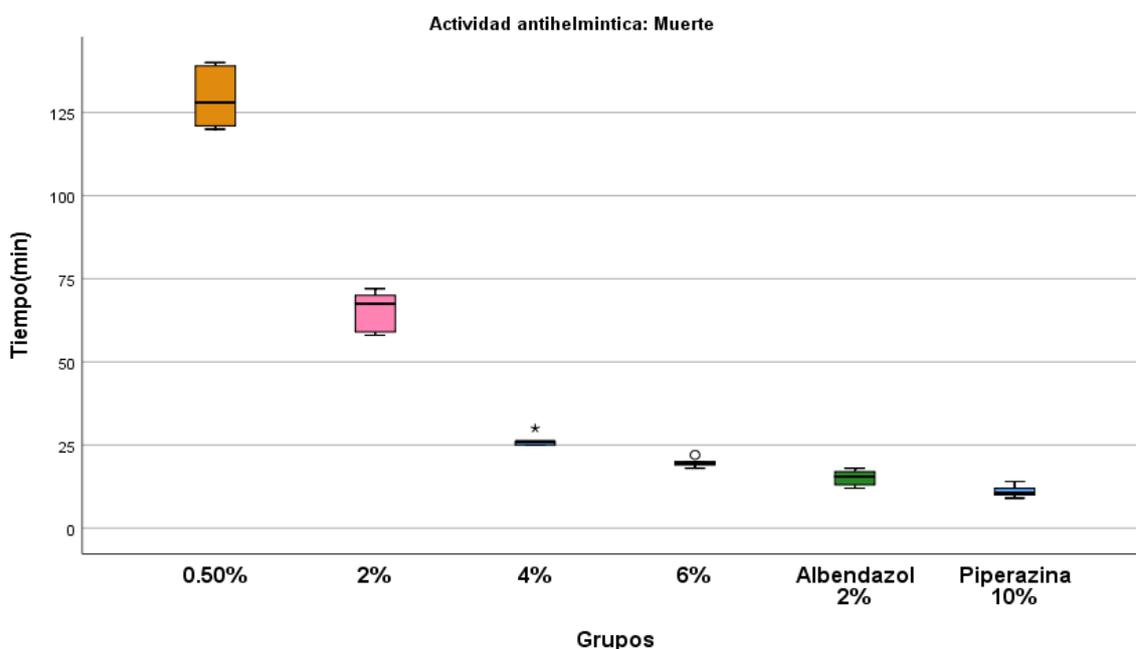
FUENTE: DATOS ESTADÍSTICOS

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el tabla N°16, el análisis de prueba post-hoc de tukey muestra la actividad antihelmíntica del tiempo promedio de muerte, entre los diferentes grupos de tratamientos (0.50%, 2%, 4% y 6%) del extracto etanólico de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma real” y grupos control (blanco, albendazol 2% y piperazina 10%), mostrando que hay diferencias en la eficacia entre los distintos tratamientos a un nivel de confianza del 95%. Los grupos control positivo con piperazina al 10% y albendazol al 2% muestran los tiempos más bajos (11,00 y 15,17 minutos respectivamente) y están agrupados en el mismo subconjunto, lo que indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre ellos. A medida que disminuye la concentración del extracto de *Tanacetum vulgare*, desde el 6% hasta el 0.50%, los tiempos medios necesarios para observar la actividad antihelmíntica aumentan y cada concentración forma su propio subconjunto, reflejando una menor eficacia. El grupo blanco, actúa como control sin tratamiento, tiene el tiempo medio más alto de 360 minutos, ubicándose en su propio subconjunto y destacándose como significativamente diferente de los demás tratamientos. Los valores de significancia estadística (sig.) que varían entre 0,134 y 1,000 indican que las diferencias entre algunos tratamientos no son estadísticamente significativas, especialmente en los tratamientos con mayor concentración de extracto y los controles positivos. El extracto etanólico de *Tanacetum vulgare* “Palma real” al 6% mostró una

reducción llamativa del tiempo de sobre vida en comparación a los controles positivos, encontrándose una relación directa entre la concentración del extracto etanólico al 4% y 6% y el fármaco de referencia albendazol 2% en la eficacia antihelmíntica de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real”; según los autores **de la Cruz, F.** (78) y **de la Paz Naranjo, José, Maceira Cubiles, et al.** (79), si se compara los resultados de los extractos vemos que a mayor concentración disminuye el tiempo de muerte, debido a que a más concentrado o mayor dosis se garantiza más efecto antihelmíntico, siendo estudios de otras plantas, pero tiene la misma metodología y la misma actividad antihelmíntica.

**GRÁFICO N°2: Variación del tiempo de muerte por efecto del extracto etanólico de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma real”.**



FUENTE: DATOS EXPERIMENTALES, LA GRÁFICA NO MUESTRA EL GRUPO DEL BLANCO

## ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el gráfico de caja N°2 se muestra la variación del tiempo de muerte de *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana”, entre los diferentes grupos de tratamiento 0.50%, 2%, 4%, 6%, y fármacos control albendazol al 2%, piperazina al 10%, sin incluir el grupo blanco en la gráfica. Donde se observa una disminución progresiva en la variabilidad del tiempo a medida que la concentración del extracto se incrementa, aunque el grupo de 0.50% tiene una variabilidad notablemente mayor en comparación con los otros tratamientos.

#### 4.6. RESULTADOS DE LA TOXICIDAD AGUDA POR VÍA ORAL (MÉTODO DE LORKE)

**TABLA N°17: Determinación de la toxicidad aguda del extracto etanólico al 70%  
de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma real” fase I**

GRUPO		Dosis a administrar	N°	Mortalidad	Observaciones
GRUPO CONTROL	1	1 ml/kg	3	0 / 3	Estado aparentemente normal
	2	10 mg/kg	3	0 / 3	Estado aparentemente normal
TANACETUM VULGARE (Palma Real)	3	100 mg/kg	3	2 / 3	El primer ratón muere a las 20 h y el segundo a las 22h; Sobrevive 1 ratón, el pelaje no cambia, el aletargamiento disminuye a las 24h y cada vez recupera la capacidad de moverse.
	4	1000 mg/kg	3	3 / 3	el primer ratón muere a las 8h, el segundo ratón muere a las 10h y el tercer ratón presenta una muerte lenta a las 14h

FUENTE: DATOS OBTENIDOS DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

#### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Como se observa en el tabla N°17, la Fase I del ensayo de la toxicidad aguda por vía oral del extracto seco etanólico de la especie vegetal *Tanacetum Vulgare* “Palma Real” en ratones albinos sometidos a dosis crecientes de acuerdo al método de Lorke, los resultados muestran que a dosis 1000 mg/kg se registra la muerte de los 3 ratones a las 8h, a las 10h y a las 14h con una muerte lenta, a dosis 100 mg/kg se registra dos muertes a las 20h y 22h, el que sobrevive su pelaje no cambia, el aletargamiento disminuye a las 24h y cada vez recupera la capacidad de movimiento, en las dosis 1 mg/kg (control) y 10 mg/kg no hay presencia de muerte, todos con un estado aparentemente normal. Este resultado indica que las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma Real” produce toxicidad a dosis de 100 y 1000mg/kg en la fase I, por lo que se procedió a pasar a la fase II del ensayo.

**TABLA N°18: Resultado del ensayo de la toxicidad aguda del extracto seco etanólico de las hojas *Tanacetum vulgare* “Palma real” fase II**

GRUPO	DOSIS ADMINISTRAR	N°	MORTALIDAD	OBSERVACIONES
<i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”	20 mg/kg	1	0/1	Estado aparentemente normal
	40 mg/kg	1	0/1	Estado aparentemente normal, con un poco de aletargamiento, piloerección
	80 mg/kg	1	0/1	Estado aparentemente normal, con un poco de aletargamiento, piloerección
	160 mg/kg	1	1/1	Muerte a las 12h

FUENTE: DATOS OBTENIDOS DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Como se observa en el tabla N°18 se aprecian los reportes de la Fase II para la determinación de la toxicidad aguda por vía oral en animales de experimentación sometidas a dosis crecientes del extracto seco etanólico de la especie vegetal *Tanacetum Vulgare* “Palma Real”, según el método Lorke y comparadas con el grupo de control, se observó que a dosis de 20 mg/kg presentaron estado aparentemente normal, a dosis de 40 mg/ y 80 mg/kg los animales de experimentación presentaron un poco de aletargamiento, piloerección y finalmente a dosis de 160 mg/kg presentó muerte a las 12 horas. El resultado indica que las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma real” es poco tóxica debido al número de muerte a dosis altas de 100 mg/kg y 1000 mg/kg en la primera fase I y en la fase II solo se presentó una muerte a la dosis 160 mg /kg. También se observa que a dosis menores 100 mg/kg de peso, los animales de experimentación presentan un estado aparentemente normal, con el cual se estaría confirmando que la dosis 100 mg/kg es un límite para la determinación de las dosis utilizadas en el presente trabajo. En la revisión de antecedentes se encontraron referencias para evaluar la seguridad del extracto acuoso de hojas de tanaceto *Tanacetum vulgare* determinando su toxicidad potencial después de la administración aguda y crónica en roedores en las cuales indican que en el estudio agudo en ratones y a la falta de un efecto significativo sobre los parámetros biológicos y hematológicos en rata después de 90 días de dosis diarias, el extracto de tanaceto no parece tener una toxicidad significativa estudio realizado por **Lahlou S, Israili ZH,**

**Lyoussi B.** (80). En otro estudio se probó la toxicidad aguda del aceite esencial en dosis única en ratas Wistar y se encontró que no era tóxico por administración oral, **Karcheva-Bahchevanska D, Benbassat N, Georgieva y et al.** (81). El contenido de tujona que presenta esta planta en diferentes referentes realizados, serían la causa de los posibles efectos tóxicos de acuerdo a la ingesta diaria permitida independientemente de la parte de la planta o del disolvente de extracción utilizado (24), (14), (15). Otro estudio de la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg en ratones *Mus musculus*, al realizar cortes anatomopatológicos se evidenció una toxicidad muy leve en el estómago, así como en los tejidos del hígado y los riñones **Chávez, L.; Gutiérrez, D.** (14).

**TABLA N°19: Dosis letal media del extracto etanólico seco al 70% por vía oral en ratones.**

DOSIS mg/kg	PROPORCIÓN DE MUERTE	DL50 (mg/kg)
80	0/1	120 mg/kg
160	1/1	

FUENTE: DATOS OBTENIDOS DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

## ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Como se observa en el tabla N°19, la dosis letal media de *Tanacetum vulgare* “Palma real”, de acuerdo al método Lorke es de 120 mg/kg. Este resultado indica que se requiere una dosis de 120 mg/kg para ocasionar la muerte del 50% de animales de experimentación. Existe estudios relacionados sobre la toxicidad aguda de la especie *Tanacetum vulgare* “Palma real”, uno de los estudios realizó del aceite esencial de la planta, en dosis única en ratones Wistar, donde reportan que no es tóxico por administración oral según **Karcheva Bahchevanska D, Benbassat N, Georgieva y et al.** (81), el otro estudio fue toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg en ratones *Mus musculus* del extracto etanólico se evidenció una toxicidad muy leve en el estómago y hubo toxicidad en hígado y riñones según **Chávez L., Gutiérrez D.** (14).

## CONCLUSIONES

1. El extracto seco etanólico al 70% obtenidos de las hojas de *Tanacetum vulgare* “*Palma real*” ha demostrado poseer actividad antihelmíntica sobre el modelo biológico de *Eisenia foetida* “*lombriz roja californiana*” y poca toxicidad aguda.
2. La obtención del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “*Palma Real*” presentó un porcentaje de humedad de 62.68%, un porcentaje de rendimiento de 36.94%, las pruebas de solubilidad mostraron una naturaleza polar, se identificó a través del análisis fitoquímico la presencia de metabolitos secundarios presentes en el extracto como flavonoides, taninos, azúcares reductores y cantidad moderada de saponinas.
3. La obtención de las cuatro concentraciones empleadas de extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “*Palma real*” presentan actividad antihelmíntica del 100% frente al modelo biológico de *Eisenia foetida* “*lombriz roja californiana*”, concluyendo que, a mayor concentración del extracto, menor es el tiempo de supervivencia de las lombrices.
4. La dosis efectiva del extracto seco etanólico de las hojas de *Tanacetum vulgare* “*Palma real*” se presentó a la concentración del 6% donde mostró mayor actividad antihelmíntica produciendo la muerte de *Eisenia foetida* “*lombriz roja californiana*” en un tiempo aproximado frente al fármaco de referencia albendazol al 2%.
5. En la determinación de la concentración letal media frente a ratones albinos “*Mus musculus*”, el extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* “*Palma Real*” se encuentra sobre los 120 mg/kg para ocasionar la muerte del 50% de animales de experimentación, presentando una leve a moderada toxicidad oral.

## SUGERENCIAS

### **A las autoridades y docentes de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco**

- Buscar convenios para las diferentes escuelas profesionales de nuestra Universidad, para que los tesisistas no limiten los objetivos trazados dentro del trabajo de investigación.
- Implementar un bioterio en la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica, por ser una carrera con fines de investigación científica experimental y la práctica docente, brindando los requerimientos que necesitan los animales.

### **A la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

- Promover investigaciones similares de temas pocos estudiados, pero con gran demanda en el ámbito hospitalario, para generar una alternativa más para la medicina complementaria.
- Incentivar el estudio de especies nativas de la región Cusco en la formación de pre grado, incentivando al alumno a realizar trabajos de investigación.

### **A los estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

- Valorar el gran potencial de las plantas nativas y la medicina tradicional
- Ampliar la evaluación farmacológica de la especie vegetal *Tanacetum vulgare* “Palma real”, ya que se le atribuye más propiedades que podrían ser objeto de estudio.
- Realizar la cuantificación e identificación de metabolitos secundarios presentes en los distintos métodos de extracción de la especie *Tanacetum vulgare* “Palma real”, para poder conocer los metabolitos específicos responsables de la actividad antihelmíntica.
- Realizar estudios fisiopatológicos de los órganos para evaluar la toxicidad de la planta en estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Soria N. Medicinal Plants and their Application in Public Health. J Pharma Pharma Sci. [Online]. Paraguay; 2016; 1(1):1-25. Available from: [https://www.gavinpublishers.com/assets/articles\\_pdf/1510573528article\\_pdf1889392349.pdf](https://www.gavinpublishers.com/assets/articles_pdf/1510573528article_pdf1889392349.pdf).
2. Rodriguez AY, Camacho JM, Baracaldo CM. Estado nutricional, Parasitismo intestinal y sus factores de riesgo en una población vulnerable del municipio de Iza (Boyacá). Rev Chil Nutr. [Online].; 2015; 43(1):10-25. Available from: <https://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v43n1/art07.pdf>.
3. Flores U, Franco LG, Oronzo N, Trejo II, Tlazola RY, Barragán N, et al. Enfermedades parasitarias dependientes de los estilos de vida. Journal of Negative and No Positive Results. [Online].; 2018; 3(6):398-411. Available from: <https://www.jonnpr.com/PDF/2409.pdf>.
4. Iannacone J, Osorio M, Utia R, Alvaríño L, Ayala Y, Del Águila CA, et al. Enteroparasitosis en Perú y su relación con el índice de desarrollo humano. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social. [Online].; 2021;59(5):368-376. Available from: <https://www.redalyc.org/journal/4577/457769670004/html/>.
5. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Esquistosomiasis, geohelminCIAS y saneamiento en América Latina y el Caribe. Relación entre la prevalencia de esquistosomiasis y geohelminCIAS y las condiciones sanitarias en América Latina y el Caribe: una revisión sistemática. Rev Panam Salud Public. [Online].; 2023; 47(1):320-345. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>.
6. Bravo RH. Factores de Riesgo Asociados a Giardia Lamblia en Niños de la I.E.I. 075 Divino Niño Jesús Chivay Caylloma. [Online]. Arequipa; [Tesis de pregrado]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín; 2019. Available from: <https://repositorio.unsa.edu.pe/bitstreams/3a66767d-9c6a-4ab8-8e61-8f5ba354ffc6/download>.

7. González G, Vargas M, Quiroz P, et al. Prevalencia de infecciones por nematodos en comunidades rurales de Cusco. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*. [Online].; 2018; 35(2):123-130.
8. Mendoza R, Castillo L, Flores M, et al. Impacto de la geohelmintiasis en el estado nutricional y rendimiento escolar de niños en el sur del Perú. *Rev Salud Pública Andina*. [Online].; 2020; 42(1):45-52.
9. Ramírez S, Torres A, Rojas J, et al. Factores ambientales y sanitarios asociados a la transmisión de nematodos en comunidades de la región Cusco, Perú. *Bol Asoc Med P*. [Online].; 2023; 115(3):156-162.
10. Gerencia Regional de Salud Cusco. Documento de Investigación Operativa de Análisis de Situación de Salud en la Región Cusco, al mes de Diciembre del año 2020. [Online]. Cusco; 2021. Available from: <http://www.diresacusco.gob.pe/bdata/asis/asis-2021.pdf>.
11. Curicó G, García P, Pinedo T, Shapiama W, Moncada Y, Romaína L, et al. Resistencia a Dosis Única de Albendazol y Reinfeción por Helminthos Intestinales en Niños de 2 a 11 años de la Amazonía Peruana: Protocolo de Estudio. *BMC Infect Dis*. [Online].; 2022; 22(528):1471-2334. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07494-0>.
12. Organización Mundial de la Salud (OMS). Estrategias de la OMS sobre la Medicina Tradicional 2014-2023. [Online].; 2013. Available from: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098\\_spa.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf).
13. Khatib S, Sobeh M, Faraloni C y Bouissane L. Tanacetum species: Bridging empirical knowledge, phytochemistry, nutritional value, health benefits and clinical evidence. *Frontiers in pharmacology*. [Online].; 2023; 14:234-302. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10157496/#s17title>.
14. Chávez L, Gutiérrez D. Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L. "Palma Real". [Online]. Lima; [Tesis de pregrado]. Lima, Universidad Norbert Wiener; 2013.

Available from:  
[http://209.45.73.22/bitstream/UNSCH/1160/1/Tesis%20Far425\\_Hua.pdf](http://209.45.73.22/bitstream/UNSCH/1160/1/Tesis%20Far425_Hua.pdf).

15. Solis L, Solis JA, Aragon LJ, Fernandez MD, Hernandez RI, Pino JA. Composición Química y Actividad Antioxante de Aceites Esenciales de *Tanacetum vulgare* y *Mentha x piperita* L. var. *vulgaris* cultivados en Cusco, Perú. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. [Online]. 2018; 2017; 48(1):41-47. Available from: <https://revista.cnice.edu.cu/index.php/RevQuim/article/view/123>.
16. Choqueapaza MB. Factores Sociodemográficos y Uso de Plantas Medicinales frente a la Covid-19 en padres de una institución educativa inicial. *Investigación e Innovación Rev. Científica de Enfermería*. [Online].; 2021; 1(1):113-123. Available from: <https://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/iirce/article/view/1145>.
17. Longuefosse JL, Nossin E. *Tramiloteca: Programa de investigación aplicada a la medicina popular del caribe*. [Online]. México: Tramil; 2017. Available from: <https://www.tramil.net/es/plant/tanacetum-vulgare>.
18. Baeza R, Manuel V. *Los nombres vulgares de las plantas silvestres de Chile y su concordancia con los nombres científicos*. 2nd ed. Santiago: Imprenta El Globo; 1930. [Online]. Santiago: Imprenta El Globo. Available from: <https://www.memoriachilena.gob.cl/archivos2/pdfs/MC0059615.pdf>.
19. Belloli E, Mazurek I, Pellegrino D, Szudruk MN y Velázquez L. *Tanaceto: Planta Medicinal de la Región. Desde la Patagonia Difundiendo Saberes*. [Online]. ARGENTINA; 2008; 5(7):48 -53. Available from: <https://revele.uncoma.edu.ar/index.php/desdelapatagonia/article/view/4133>.
20. Knaak N, Da Silva LD, Andreis TF. Chemical characterization and anti-fungal activity of plant extracts and essential oils on the *Bipolaris oryzae* and *Gerlachia oryzae* phytopathogens. *Australasian Plant Pathology*. [Online]. Australia; 2013;42:469-475. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13313-013-0220-4#citeas>.
21. Rohloff J, Mordal R, Draglandia S. Chemotypical Variation of Tansy (*Tanacetum vulgare* L.) from 40 Different Locations in Norway. *J.Agric. Food Chem*. [Online].;

- 2004;52(6):1742-1748. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0352430>.
22. Martino V, Sülsen VP. Lactonas Sesquitérpenicas Promisorio grupo de compuestos naturales bioactivos. *Revista Farmacéutica*. [Online].; 2019; 161(1):24-37. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf0352430>.
23. Kļaviņa A, Keidāne D, Ganola K, Lūsis I, Šukele R, Bandere, D, Kovalcuka L. Anthelmintic Activity of *Tanacetum vulgare* L. (Leaf and Flower) Extracts against *Trichostrongylidae* Nematodes in Sheep In Vitro. *Journal from MDPI*. [Online].; 2023;13(13):2176. Available from: <https://doi.org/10.3390/ani13132176>.
24. Sukele R, Lauberte L, Kovalcuka L, Logviss K, Bārzdīņa A, Brangule A, Horváth ZM, Bandere D. Chemical Profiling and Antioxidant Activity of *Tanacetum vulgare* L. Wild-Growing in Latvia. *Plants*. [Online]. Letonia; 2023;12(10):1968. Available from: <https://doi.org/10.3390/plants12101968>.
25. Babich O, Larina V, Krol O et al. In Vitro Study of Biological Activity of *Tanacetum vulgare* Extracts. *Pharmaceutics*. [Online].; 2023;15(2):616. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36839938/>.
26. Borges A, Reinoso M, Espinosa R et al. Actividad antihelmíntica “in vitro” de extractos acuosos obtenidos a partir de la biomasa comestible de *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et Arn. *Producción Animal*. [Online]. Cuba; 2020;32(2):1-11. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpa/v32n2/2224-7920-rpa-32-02-92.pdf>.
27. Ivănescu I, Tuchilus C, Corciova A et al. Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activity of *Tanacetum vulgare*, *Tanacetum Corymbosum* and *Tanacetum Macrophyllum* extracts. *Pharmacy*. [Online].; 2018;66(2):282-288. Available from: [https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/2018-02-art-13-Ivanescu\\_Tuchilus\\_Vlase\\_282-288.pdf](https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/2018-02-art-13-Ivanescu_Tuchilus_Vlase_282-288.pdf).
28. Vasquez Morales, Rosy Yanett. Actividad vermífuga in vitro del extracto etanólico de *Ruta graveolens* L. “ruda” y *Artemisia absinthium* L. “ajenjo”. Ayacucho, 2019. [Online]. Huamanga; [Tesis de posgrado]. Ayacucho, Universidad Nacional de San Cristoba de Huamanga; 2020. Available from:

<https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstreams/182faba0-1724-4acc-811f-54d410235b5d/download>.

29. Robles , N. Actividad vermífuga in vitro del aceite de las semillas de Cucurbita maxima Duch "zapallo" y Cucurbita ficifolia Bouché "calabaza" en Eisenia foetida "lombriz de tierra", Ayacucho 2015. [Online]. Huamanga; [Tesis de pregrado]. Ayacucho, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2016. Available from: <https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstreams/b3b0388c-a602-4ade-bd72-f00b54e1c59b/download>.
30. Huayanay F. Actividad antioxidante y antiinflamatoria del extracto hidroalcoholico de las flores de Tanacetum parthenium L. Sch Bip "Santa María". [Online]. Ayacucho: Universidad Nacional De San Cristóbal de Huamanga; [Tesis de pregrado]. Ayacucho, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2015. Available from: <https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstreams/8252827b-fc6d-41d5-9d11-d6736e62ca62/download>.
31. Prado R. Efecto antiespasmódico del extracto hidroalcohólico de las hojas de Tanacetum parthenium ( L.) Sch Bip. "Santa maria" en intestino de ratas Wistar. Ayacucho 2013. [Online]. Ayacucho; [Tesis de pregrado]. Ayacucho, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2013. Available from: <https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstreams/364c787c-c3d9-44a6-90f0-bae53d62df66/download>.
32. Tomaylla C. Composición Química y efecto insecticida de los aceites esenciales de Tanacetum vulgare Linnaeus y Mentha x piperita var. Vulgaris (Ehrh) Briq sobre Epitrix spp”, Cusco, Perú. [Online].; [Tesis de posgrado]. Cusco, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2016 Available from: [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUNS\\_3790b0cbe30df28ed0b507ffce69be79](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUNS_3790b0cbe30df28ed0b507ffce69be79). Available from: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/2850/253T20161082.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
33. Quispe D, Zapata M. Determinación de los componentes mayoritarios y toxicidad letal media (Artemia Salina) del aceite esencial Tanacetum vulgare L.- Palma Real (sin

- floración). [Online]. Cusco; [Tesis de posgrado]. Cusco, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2004.
34. Hartón J, Olivera J, Vargas Y et al. *Tanacetum Vulgare* L. (palma real). [Online]. Abancay; [Informe Académico]. Apurímac, Instituto de Educación Superior Tecnológico de Abancay; 2018. Available from: <https://es.scribd.com/document/487412513/palma-real>.
35. Beltrán H, Rodríguez E. Las Asteráceas cultivadas en el Perú. *Arnaldoa*. [Online]. Lima; 2023; 30(2):143-160.. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v30n2/2413-3299-arnal-30-02-143.pdf>.
36. Mantilla J, Olazábal O. Pachamama Hampi Qhoranchiskuna (Las plantas medicinales de nuestra madre tierra). Experiencias sobre cultivo ecológico de plantas medicinales y aromáticas andinas en el Valle sagrado de los Incas. Cusco - Perú. *Ciencias Agroveterinarias*. [Online].; 2006; 5(1):32-41. Available from: [https://issuu.com/lelysgutierrez/docs/plantas\\_medicinales\\_cusco/41](https://issuu.com/lelysgutierrez/docs/plantas_medicinales_cusco/41).
37. Acosta L. Cultivo de plantas medicinales, su producción agroecológica. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. [Online].; 2005;10:3-4. Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962005000300001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000300001).
38. Hurtado J. Importancia cultural de las plantas medicinales en el distrito de Quinua (Ayacucho, Perú). *Ecología Aplicada*. [Online].; 2024; 23(1): 33-46. Available from: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-22162024000100033](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162024000100033).
39. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. [Online].; [Informe]. Lima; 2018. Available from: [https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001\\_spa.pdf](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf).
40. Dominguez J, Perez M. *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) y *Eisenia andrei* Bouché, 1972 son dos especies diferentes de lombrices de tierra. *Acta zoológica mexicana*. [Online]. Mexico; 2010; 26(2): 321. Available from: <https://doi.org/10.21829/azm.2010.262897>.

41. Somarriba R, Guzman F. Guia de lombricultura. [Online]. Managua, Nicaragua; [Guia Tecnica]. Nicaragua, Universidad Nacional Agraria; 2004. Available from: <https://repositorio.una.edu.ni/2409/1/nf04s693.pdf>.
42. Núñez Ana. Monitoreo de la Dinámica Poblacional de la Lombriz de Tierra Roja Californiana (*Eisenia foetida* L) en Cuatro Sustratos Orgánicos. [Online]. buenavista; [Tesis de pregrado]. Mexico, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Coahuila; 2017. Available from: <https://repositorio.uaaan.mx/bitstream/handle/123456789/42174/K%2064730%20%20ANA%20MINERVA%20NU%C3%91EZ%20DIAZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
43. Niama Barreto, Joffre Alexander. Evaluación de Adaptabilidad de *Eisenia foetida* en lodos lixiaviados del camal de la municipalidad de Riobamba. [Online].; [Tesis de posgrado]. Ecuador, Escuela Superior Politecnica de Chimborazo; 2022. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17609/1/236T0608.pdf>.
44. Dominguez J, Gómez B. Ciclos de vida de las Lombrices de tierra aptas para el vermicompostaje. Acta zoológica mexicana. [Online]. España; 2010; 26. Available from: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0065-17372010000500023](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372010000500023).
45. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A et al. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio : Ratón. [Online]. Lima; 2010. Available from: [http://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/962\\_INS68.pdf](http://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/962_INS68.pdf).
46. Fox J, Barthold S, Davisson M et al. The Mouse in Biomedical Research History, Wild Mice, and Genetics. ScienceDirect. [Online].; 2007;2(11): 321-326. Available from: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123694546/the-mouse-in-biomedical-research>.
47. Giraldo Gómez J, Lora F et al. Prevalencia de Giardiasis y Parásitos Intestinales en Preescolares de Hogares atendidos en un programa estatal en Armenia. Salud Pública. [Online]. Colombia; 2005; 7(3): 291-314. Available from: <https://www.scielosp.org/pdf/rsap/v7n3/v7n3a08.pdf>.

48. Gómez M, Jaramillo G. Parasitosis Intestinal: Un tema para tener en cuenta en gastroenterología. Medicina. [Online].; 2022; 44(3):415-426. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/365869777\\_Parasitosis\\_intestinal\\_un\\_tema\\_para\\_tener\\_en\\_cuenta\\_en\\_gastroenterologia](https://www.researchgate.net/publication/365869777_Parasitosis_intestinal_un_tema_para_tener_en_cuenta_en_gastroenterologia).
49. Fuentes M, Lázaro M. Factores de riesgo asociados a la prevalencia de parasitosis intestinal en niños de 1 a 12 años en la Comunidad Campesina de Chocco, Cusco - 2020. [Online].; [Tesis de posgrado]. Cusco, Universidad Continental, 2022. Available from: [https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/11274/2/IV\\_FCS\\_508\\_TE\\_Fuentes\\_Vargas\\_2022.pdf](https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/11274/2/IV_FCS_508_TE_Fuentes_Vargas_2022.pdf).
50. Cruz A, Camargo B. Glosario de términos en parasitología y ciencias afines. [Online]. Mexico; 2001;362. Available from: <https://booksmedicos.org/glosario-de-terminos-en-parasitologia-y-ciencias-afines/>.
51. Chuquipata P. Determinación de los factores epidemiológicos asociados al parasitismo intestinal en escolares de nivel primario de la I.E. N° 40034 “Mario Vargas Llosa”. [Online]. Arequipa; [Tesis de pregrado]. Arequipa, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2018. Available from: <https://repositorio.unsa.edu.pe/bitstreams/9c2e72fd-0710-4455-bfae-656a32f11ef6/download>.
52. Rivera M. D. Factores de riesgo asociados a parasitosis intestinal en niños de 1 a 5 años. Puesto de Salud José Olaya. Sullana. [Online]. Sullana; [Tesis de pregrado]. Sullana, Universidad San Pedro; 2019. Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/288302681.pdf>.
53. Dylan V, Velasco. Influencia de la parasitosis intestinal en el Índice de masa corporal y rendimiento escolar en alumnos de primero y segundo grado de la primaria “Prof. Isaías Q. Domínguez”. [Online]. México; [Tesis de pregrado]. Mexico, Universidad Autónoma del Estado de México, 2019. Available from: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/104784/Tesis%20Parasitosis%20intestinal.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

54. Uribe A, Rojas A, Reyes P et al. Desarrollo de fármacos antihelmínticos: actualización de candidatos a fármacos y dianas terapéuticas en el manejo de las geohelmintiasis. *Revista Med.* [Online].; 2022; 30(2). Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-52562022000200009](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-52562022000200009).
55. Laurence B, Björn K. Goodman & Gilman. *Las bases farmacológicas de la Terapéutica.* [Online]. Laurence L. Brunton, Björn C. Knollman: Mc Graw Hill Interamericana S. A.; 2022. Available from: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3218&sectionid=268953156>.
56. Giannuzzi L, Ortega F, Ventosi E. *Toxicología General y Aplicada.* [Online]. Argentina: Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas; [Libro de Catedra]. Argentina, Universidad de la Plata; 2018. Available from: <https://fcen.uncuyo.edu.ar/upload/62018giannuzzi-toxicologia-general-y-aplicadaunlp.pdf>.
57. Lorke D. A new approach to practical acute toxicity testing. *Archives of Toxicology.* [Online]. Federal Republic of Germany: *Archives of Toxicology*; 1983; 54(4): 275-287. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6667118/>.
58. Acuña R. Gastroenterología: diarrea aguda. *Revista Médica Clínica Las Condes.* [Online].; 2015; 26(5):676-686. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmclc.2015.09.010>.
59. Martínez E, Pérez A. Uso de antihelmínticos en el tratamiento de parasitosis intestinales. [Online].; 2017; 40(3): 147-154. Available from: <https://www.revistasalud.com/antihelminticos>.
60. Guerrero A, Pérez M. Consideraciones sobre la dosis terapéutica en el tratamiento farmacológico. *Revista Latinoamericana de Farmacología.* [Online].; 2019; 48(2): 85-92. Available from: [Consideraciones sobre la dosis terapéutica en el tratamiento farmacológico.](#)

61. Vera O. La terapia farmacologica razona. Revista Médica La Paz. [Online].; 2018; 29(2). Available from: [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-89582023000200065](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-89582023000200065).
62. Sánchez M, González M. Evaluación del efecto analgésico del extracto etanólico de plantas medicinales. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. [Online].; 2016; 47(2): 35-41. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmexfarm/rmf-2016/rmf162d.pdf>.
63. González F, Carrillo J,. Toxicología: conceptos básicos y aplicaciones clínicas. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. [Online].; 2016; 47(2): 35-41.. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmexfarm/rmf-2016/rmf162d.pdf>.
64. Weller F. Principios de Medicina Interna:"Introducción a las helmintosis". [Online].: McGraw-Hill Education; 2018. Available from: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookId=2461&sectionId=209903761>.
65. Martínez F, Gómez L. Helmintiasis intestinal: diagnóstico y tratamiento de infecciones parasitaria. Revista de Infectología Clínica. [Online].; 2018; 24(2):112-120. Available from: [Helmintiasis intestinal: diagnóstico y tratamiento de infecciones parasitarias](#).
66. Torres A, y Fernández P. Maceración y sus aplicaciones en la preparación de extractos vegetales. [Online].; 2017; 12(3): 125-134. Available from: <https://www.revistasalud.com/maceracion>.
67. Gómez S, Hernández R. Parásitos humanos: clasificación, diagnóstico y tratamiento. Revista Latinoamericana de Parasitología. [Online].; 2019; 44(3): p. 120-128. Available from: <https://www.revistasalud.com/parasitos>.
68. Jiménez, A., y Rodríguez, F. Jiménez, A., & Rodríguez, F. Revista de Biología Experimental. 2016; 45(3): p. 200-208. Available from: <https://www.revistasalud.com/hospedador>.

69. Gonzales Villa A. Obtención de Aceites Esenciales y Extractos Etanolicos de Plantas del Amazonas. tesis. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia sede Manizales, Departamento de Ingenieria Quimica; 2004.
70. Ajaiyeoba, E. O., Onocha, P. A., y Olarenwaju, O. T. In vitro anthelmintic properties of Buchholzia coriacea and Gynandropsis gynandra extract. *Pharmaceutical Biology*. 2001; 39(3): p. 217- 220. Available from: <https://doi.org/10.1076/phbi.39.3.217.5938>.
71. Cano L. Cuantificación del porcentaje de humedad y cenizas. [Online].; [Tesis de pregrado]. Ecuador, Universidad Internacional Sek; 2016. Available from: <https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2499/1/Cano%20Leslie%20Tesis%20UISEK.pdf>.
72. Vera K, Cardona A, Vera I et al. Fitofarmacopea del Cusco. [Online]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2019. Available from: <https://isbn.bnpp.gob.pe/catalogo.php?mode=detalle&nt=109702>.
73. O, Lock. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. [Online].: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad; 1994. Available from: <https://doi.org/10.18800/9788483909522>.
74. Achucarro C, Echague G, Sosa L et al. Antihelmintic activity of the Stevia rebaudiana Bertoni (SRB) - ka'á he'ê: First stage of the lombricus terrestris research project. *Anales de la Facultad de Ciencias Médicas (Asunción)*. [Online].; 2009; 42(1): 19-26. Available from: [https://scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S1816-89492009000100003&script=sci\\_arttext](https://scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S1816-89492009000100003&script=sci_arttext).
75. Avello E, Silveira E, Peña F et al. Actividad antihelmíntica in vitro de extractos de Azadirachta indica A Juss, Momordica charantia L. *Revista Electrónica de Veterinaria*. [Online]. Málaga - España; 2006; 7(11):1-10. Available from: [Actividad antihelmíntica in vitro de extractos de Azadirachta indica A Juss, Momordica charantia L.](#)
76. Hernández J, Zaragoza A, López G et al. Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico veterinario*. [Online].; 2018; 8(1): 14-27. Available from:

[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-61322018000100014](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322018000100014).

77. Borges A, Reinoso M, Espinosa R. Actividad antihelmíntica “in vitro” de extractos acuosos obtenidos a partir de la biomasa comestible de *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et Arn. *Revista de Producción Animal*. [Online].; 2020;32(2): 92-102. Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2224-79202020000200092&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202020000200092&lng=es&tlng=es).
78. De la Cruz F. Actividad antihelmíntica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. "paico" Ayacucho. [Online]. Huamanga; [Tesis de pregrado]. Ayacucho, Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2011. Available from: <https://repositorio.unsch.edu.pe/bitstreams/bf226d11-c1d1-4097-a455-e8c18524344f/download>.
79. De la Paz J, Maceira M, Corral A. Actividad antiparasitaria de una decocción de *Mentha piperita* Linn. *Revista Cubana de Medicina Militar*. [Online].; 2006; 35(3):1-32. Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572006000300013&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572006000300013&lng=es&nrm=iso).
80. Lahlou S, Israili Z, Lyoussi B. Acute and chronic toxicity of a lyophilised aqueous extract of *Tanacetum vulgare* leaves in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*. [Online].; 2008;117(2):221-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18378415/>.
81. Karcheva D, Benbassat N, Georgieva Y et al. A Study of the Chemical Composition, Antioxidant Potential, and Acute Toxicity of Bulgarian *Tanacetum vulgare* L. Essential Oil. *Molecules*. [Online].; 2023; 28(16):6155. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37630407/>.

## ANEXOS

### ANEXO N°1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES IMPLICADAS	METODOLOGÍA	INSTRUMENTOS
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	INDEPENDIENTE	ÁMBITO DE ESTUDIO	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formato para la toxicidad aguda</li> <li>• Formato para el efecto antihelmíntico</li> </ul>
¿Presentará actividad antihelmíntica y toxicidad aguda en animales de experimentación el extracto seco etanólico al 70 % de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”?	Evaluar la actividad antihelmíntica y la toxicidad aguda del extracto seco etanólico al 70 % de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real” en animales de experimentación.	Existe relación entre la concentración del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real” y el grado de actividad antihelmíntica in vitro en <i>Eisenia foetida</i> “lombriz roja californiana”, así como el nivel de toxicidad aguda en ratones albinos.	Dosis del extracto seco etanólico al 70 % de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> (Palma Real)	<b>TIPO:</b> Prospectivo  <b>NIVEL:</b> Experimental	
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS		DEPENDIENTES	<b>DISEÑO:</b> Cuasi experimental  <b>MUESTRA:</b> Extracto seco etanólico al 70% de la especie <i>Tanacetum vulgare</i> .	
¿Cómo se obtendrá el extracto seco etanólico al 70% de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”?	Obtener el extracto seco etanólico al 70% de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”.		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Actividad antihelmíntica</li> <li>• Toxicidad aguda</li> </ul>		
¿Cuál será el porcentaje de humedad de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”, solubilidad y análisis fitoquímico cualitativo del extracto seco?	Realizar el porcentaje de humedad de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”, solubilidad y análisis fitoquímico cualitativo del extracto seco.				
¿Presentará actividad antihelmíntica el extracto seco etanólico al 70% de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> (Palma Real)?	Evaluar la actividad antihelmíntica del extracto etanólico al 70% de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”.				
¿Cuál será la dosis efectiva de la actividad antihelmíntica del extracto seco etanólico al 70 % de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”?	Determinar la dosis efectiva de la actividad antihelmíntica del extracto etanólico al 70% de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”.				
¿Cuál será la toxicidad aguda del extracto seco etanólico al 70 % de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real” en ratones albinos de la raza <i>Mus musculus</i> .	Determinar la dosis letal media del extracto seco etanólico al 70 % de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real” en ratones albinos de la raza <i>Mus musculus</i> .				

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

**ANEXO N°2: FICHA DE RECOLECCIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DEL  
PORCENTAJE DE HUMEDAD Y PORCENTAJE DE RENDIMIENTO**

<b>PORCENTAJE DE HUMEDAD</b>				
<i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”				
N° DE DETERMINACIONES	PESO DE LA MUESTRA FRESCA	PESO DE LA MUESTRA SECA	% DE HUMEDAD	PROMEDIO DEL 1% DE HUMEDAD
1				
2				
3				

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

<b>PORCENTAJE DE RENDIMIENTO</b>					
<i>Tanacetum vulgare</i> “Palma Real”		PESO INICIAL DE LA MUESTRA SECA MOLIDA	PESO DEL EXTRACTO SECO	% DE RENDIMIENTO	PROMEDIO DEL % DE RENDIMIENTO
PARTE AÉREA (HOJAS)	1				
	2				
	3				

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### ANEXO N°3: FICHA DE RECOLECCIÓN PARA MUESTRAS DE SOLUBILIDAD

SOLVENTE	EXTRACTO DE Tanacetum vulgare “Palma Real”			
	+++	++	+	-
Agua destilada				
Mentol				
Etanol 40%				
Etanol 70%				
Etanol 96%				
Etanol absoluto				
Acetona				
Cloroformo				
hexano				

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Leyenda:

- Muy soluble: +++
- Soluble: ++
- Poco soluble: +
- Insoluble: -

**ANEXO N°4: FICHA DE RECOLECCIÓN PARA EL ANÁLISIS FITOQUÍMICO  
CUALITATIVO**

ANALISIS	REACTIVOS	EXTRACTO DE Tanacetum vulgare “Palma Real”			
		+++	++	+	-
Flavonoides	Shinoda				
Fenólicos	Fecl3				
Taninos	Gelatina				
Quinolonas	KOH %				
Alcaloides	Dragendorff				
Lactonas	Baljet				
Azucares Reductores	Fehling				
Esteroides	Liebermann y Bourchard				
Saponinas	Espuma				

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Leyenda:

- Muy soluble: +++
- Soluble: ++
- Poco soluble: +
- Insoluble:

**ANEXO N°5: FICHA DE RECOLECCIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA**

ACCIÓN A OBSERVAR	TIEMPO en minutos											
	GRUPO 1						GRUPO 2					
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R1	R2	R3	R4	R5	R6
<b>PARÁLISIS</b>												
<b>MUERTE</b>												
ACCIÓN A OBSERVAR	TIEMPO en minutos											
	GRUPO 3						GRUPO 4					
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R1	R2	R3	R4	R5	R6
<b>PARÁLISIS</b>												
<b>MUERTE</b>												
ACCIÓN A OBSERVAR	TIEMPO en minutos											
	GRUPO 5						GRUPO 6					
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R1	R2	R3	R4	R5	R6
<b>PARÁLISIS</b>												
<b>MUERTE</b>												

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

**ANEXO N°6: FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA TOXICIDAD AGUDA POR EL MÉTODO LORKE**

<b>PRIMERA FASE</b>	<b>DOSIS (MG/KG)</b>	10	100	1000	
	<b>MORTALIDAD EN 24 Horas</b>	.../3	.../3	.../3	
	<b>OBSERVACIONES</b>				
<b>SEGUNDA FASE</b>	<b>DOSIS (MG/KG)</b>	A =	B =	C =	D =
	<b>MORTALIDAD EN 24 Horas</b>	.../1	.../1	.../1	.../1
	<b>OBSERVACIONES</b>				

\*Número de animales que mueren/número de animales usados.

Cálculo de la DL50 es igual al promedio geométrico de las dosis para las cuales se encuentren 0/1 y 1/1 muertes de manera subsecuentes en la segunda prueba.

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

# ANEXO N°7: AUTORIZACIÓN DEL SERVICIO NACIONAL FORESTAL Y DE FAUNA SILVESTRE (SERFOR)



## RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA

Cusco, 16 de Febrero del 2024

**RA N° D000047-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS - CUSCO**

### VISTO:

El Informe Técnico N° D000030-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-CUSCO del 08 de febrero de 2024 y la solicitud S/N del 12 presentada el 28 setiembre de 2023 con número de expediente 2023-0045607, presentada por la señora Fabiola Milagros Perez Curi, identificada con DNI N° 72506810, quien solicita autorización con fines de investigación científica en flora silvestre, fuera de Áreas Naturales Protegidas, como parte de la investigación titulada "Evaluación de la actividad antihelmíntica y toxicidad aguda del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* "Palma real" en animales de experimentación", a desarrollarse en la localidad de Ticapata, distrito de San Sebastián, provincia y departamento de Cusco; y todo lo actuado en el expediente administrativo, y;

### CONSIDERANDO:

Que, el artículo 66° de la Constitución Política del Perú, establece que los recursos naturales, renovables y no renovables, son patrimonio de la Nación. El Estado es soberano en su aprovechamiento; asimismo, en su artículo 68° establece que es obligación del Estado promover la conservación de la diversidad biológica;

Que, la Ley N° 26821, Ley Orgánica para el Aprovechamiento Sostenible de los Recursos Naturales, establece en su artículo 9°, referido a la investigación científica, que el Estado promueve la investigación científica y tecnológica sobre la diversidad, calidad, composición, potencialidad y gestión de los recursos naturales. Asimismo, promueve la información y el conocimiento sobre los recursos naturales. Para estos efectos, podrán otorgarse permisos para investigación en materia de recursos naturales;

Que, el artículo 13° de la Ley N° 29763, crea el Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR, como organismo público técnico especializado, con personería jurídica de derecho público interno, como pliego presupuestal adscrito al Ministerio de Agricultura y Riego. Asimismo, se señala que el SERFOR es la autoridad nacional forestal y de fauna silvestre, ente rector del Sistema Nacional de Gestión Forestal y de Fauna Silvestre (SINAFOR), y se constituye en su autoridad técnico normativa a nivel nacional, encargada de dictar las normas y establecer los procedimientos relacionados a su ámbito;

Que, el Reglamento de Organización y Funciones del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR, aprobado mediante Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI, y modificado mediante el D.S. N° 016-2014-MINAGRI, establece en su primera Disposición Complementaria Transitoria que, las Administraciones Técnicas Forestales y de Fauna Silvestre (en adelante, ATFFS) se incorporan al SERFOR, como órganos desconcentrados de actuación local del SERFOR, con pliego presupuestal adscrito al Ministerio de Agricultura y Riego, hoy Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego;

Que, el artículo 137° de la precitada Ley N° 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre, declara de interés nacional realizar la investigación, el desarrollo tecnológico, la mejora del

## RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA

conocimiento y el monitoreo del estado de conservación del patrimonio forestal y de fauna silvestre de la Nación;

Que, el Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI, que aprueba el Reglamento para la Gestión Forestal, regula el procedimiento de otorgamiento de autorizaciones con fines de investigación científica de flora silvestre, estableciendo para tal efecto los requisitos y consideraciones para su otorgamiento, de acuerdo con los lineamientos aprobados por el SERFOR, así como las obligaciones materia de cumplimiento por parte de la titular de la autorización;

Que, el artículo 154° del Reglamento para la Gestión Forestal, establece que la investigación científica del Patrimonio se aprueba mediante autorizaciones, salvaguardando los derechos del país respecto de su patrimonio genético nativo y que son las ARFFS las que otorgan las autorizaciones con fines de investigación científica que impliquen la utilización de métodos directos e indirectos para especies no categorizadas como amenazadas y no listadas en los Apéndices CITES y que en ningún caso otorgue el acceso a los recursos genéticos o sus productos derivados. Asimismo, menciona que los derechos otorgados a través de las autorizaciones de investigación científica, no otorgan derechos sobre los recursos genéticos contenidos en ellos;

Que, mediante Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE, del 01 de abril del 2016, se aprueban los "Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre";

Que, mediante solicitud S/N, presentada el 28 de setiembre de 2023, la señora Fabiola Milagros Perez Curi, identificada con DNI N° 72506810, en su calidad de investigadora principal, solicitó autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, para la investigación titulada: "Evaluación de la actividad antihelmíntica y toxicidad aguda del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* "Palma real" en animales de experimentación", a desarrollarse en la Localidad de Ticapata, distrito de San Sebastián, provincia y departamento de Cusco, por el periodo de doce (12) meses;

Que, en el actual Texto Único de Procedimientos Administrativos - TUPA del SERFOR, aprobado por Decreto Supremo N° 001-2016-MINAGRI y modificado por Resolución Ministerial N° 613-2016-MINAGRI, Resolución Ministerial N° 026-2019-MINAGRI, Resolución de Dirección Ejecutiva N° D000103-2020-MINAGRI-SERFOR-DE y Resolución de Dirección Ejecutiva N° D000099-2021-MIDAGRI-SERFOR-DE; no se contempla el procedimiento de autorización para realizar investigación científica fuera de ANP;

Que, en observancia del principio de impulso de oficio, previsto en el numeral 1.3 del artículo IV del Título Preliminar del Texto Único Ordenado de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado con Decreto Supremo N° 004-2019-JUS; se colige que, las autoridades deben dirigir e impulsar de oficio el procedimiento y ordenar la realización o práctica de los actos que resulten convenientes para el esclarecimiento y resolución de las cuestiones necesarias;

Que, por tanto, la solicitud presentada ha sido evaluada verificando el cumplimiento de los requisitos exigidos en el numeral 9° del ANEXO N° 1 del Reglamento para la Gestión

<sup>1</sup> El numeral 9 del ANEXO N° 1 del Reglamento para la Gestión Forestal, establece los requisitos para la autorización con fines de investigación de flora, con o sin contrato de acceso a recursos genéticos, conforme la siguiente documentación:



## RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA

Forestal, establece los requisitos para la solicitud de autorizaciones con fines de investigación de flora en concordancia con el numeral 6.6 de los lineamientos aprobados por Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE, se establecen los siguientes requisitos para la autorización con fines de investigación científica fuera de ANP: i) Solicitud con carácter de declaración jurada que contenga información sobre el investigador, según formato; ii) Hoja de vida del investigador principal y plan de investigación, según formato; iii) Carta de presentación de los investigadores participantes, emitida por la institución académica u organización científica nacional o extranjera de procedencia; iv) Documento que acredite el consentimiento informado previo, expedido por la respectiva organización comunal representativa, de corresponder; y v) Documento que acredite el acuerdo entre las instituciones que respaldan a los investigadores nacionales y extranjeros, en caso la solicitud sea presentada por un investigador extranjero;

Que, el Informe Técnico del visto, concluye que la administrada reúne las condiciones mínimas para el otorgamiento de la autorización solicitada y que cumple con los requisitos establecidos en el numeral 9 del anexo N° 1 del Reglamento para la Gestión Forestal y los lineamientos aprobados por Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE, y con los criterios técnicos para llevar a cabo el proyecto denominado "Evaluación de la actividad antihelmíntica y toxicidad aguda del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* "Palma real" en animales de experimentación" por el periodo de doce (12) meses, según el cronograma de trabajo del plan de investigación presentado, el cual se llevará a cabo en la localidad de Ticapata, distrito de San Sebastián, provincia y departamento de Cusco, fuera de áreas naturales protegidas y de territorios de comunidades campesinas y nativas;

Que, la investigación tiene como objetivo general la de evaluar la actividad antihelmíntica y la toxicidad aguda del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* "palma real" en animales de experimentación; y como objetivos específicos: i) Obtener el extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* "palma real"; ii) Realizar las pruebas preliminares como el porcentaje de humedad de las hojas de *Tanacetum vulgare* "palma real", solubilidad, y análisis fitoquímico cualitativo del extracto seco; iii) Evaluar la actividad antihelmíntica del extracto etanólico al 70 % de las hojas de *Tanacetum vulgare* "palma real"; iv) Determinar la dosis efectiva de la actividad antihelmíntica del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* "palma real" y v) Evaluar la toxicidad aguda del extracto etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* "palma real" mediante el procedimiento de dosificación ascendente y descendente OECD 425;

Que, respecto a la justificación del proyecto, este se basa en el resurgimiento de investigación de las plantas medicinales por la urgencia sanitaria suscitada. El estudio busca aportar a la ciencia sobre el conocimiento del potencial de las plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades parasitarias y establecer la toxicidad de las hojas y tallos de *Tanacetum vulgare* "palma real". El potencial medicinal de la especie es aplicable en el campo farmacéutico para su posible uso como terapia alternativa de tratamiento sostenible para la expulsión, reducción o muerte de helmintos, y logrando el control y prevención de enfermedades parasitarias;

Que, en cuanto a los metodología, esta consiste en la recolección de las

- Solicitud con carácter de declaración jurada dirigida a la autoridad competente, según formato, que contenga hoja de vida del investigador principal, relación de investigadores y el Plan de Investigación.
- Carta de presentación de los investigadores participantes expedida por la institución científica de procedencia.
- Documento que acredite el consentimiento informado previo, expedido por la respectiva organización comunal representativa, de corresponder.
- Documento que acredite el acuerdo entre las instituciones que respaldan a los investigadores nacionales y extranjeros, en caso la solicitud sea presentada por un investigador extranjero.

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: HHR79GN



## RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA

plantas (tallos y hojas) *Tanacetum vulgare* "palma real" en la localidad de Ticapata, distrito San Sebastián, provincia y departamento Cusco; para luego ser colocadas en bolsas de polietileno. Prosigue la selección y limpieza de las mejores muestras y ser colocadas en papel kraft para ser secadas. Luego las muestras se pulverizan, se colocan en un frasco de vidrio forrado con papel aluminio y tapa hermética. Finalmente, las muestras son maceradas con etanol al 70% en una relación de 1:2 por aproximadamente 15 días y son filtradas para su evaporación y evaluación por medio de las pruebas correspondientes;

Que, conforme a los objetivos, métodos y técnicas detallados en el plan de investigación presentado, así como los plazos establecidos en el cronograma del proyecto, analizados en el Informe Técnico N° D000030-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-CUSCO del 08 de febrero de 2024, es pertinente otorgar la autorización con fines de investigación científica de flora silvestre a la señora Fabiola Milagros Perez Curi identificada con DNI N° 73640887, como investigadora principal, para la ejecución del proyecto titulado "Evaluación de la actividad antihelmíntica y toxicidad aguda del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* "Palma real" en animales de experimentación";

Que, de conformidad a lo dispuesto en la Ley N° 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre; el Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado por Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI; el Texto Único Ordenado de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General aprobado con Decreto Supremo N° 004-2019-JUS; el Decreto Supremo N° 007-2013- MINAGRI, que aprueba el Reglamento de Organización y Funciones del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR, modificado mediante Decreto Supremo N° 016-2014- MINAGRI, en el cual incorpora a las Administraciones Técnicas Forestales y de Fauna Silvestre como Órganos desconcentrados de actuación local del SERFOR y la Resolución de Dirección Ejecutiva N° D00022-2023-MIDAGRI-SERFOR-DE;

### SE RESUELVE:

**Artículo 1°.-** Otorgar la autorización con fines de investigación científica de flora silvestre con colecta, a la señora Fabiola Milagros Perez Curi identificada con DNI N° 72506810, para la realización de la investigación científica titulada: "Evaluación de la actividad antihelmíntica y toxicidad aguda del extracto seco etanólico al 70% de las hojas de *Tanacetum vulgare* "Palma real" en animales de experimentación" en la que participará como investigadora principal, en virtud de las consideraciones antes expuestas, correspondiéndole el Código de Autorización N° **08-CUS-AUT / IFL-2024-003**.

**Artículo 2°.-** El desarrollo de la investigación científica autorizada se circunscribe a la localidad de Ticapata, distrito de San Sebastián, provincia y departamento de Cusco, fuera de áreas naturales protegidas y de territorios de comunidades campesinas y nativas, de acuerdo con las coordenadas referenciales detalladas en el Plan de Investigación presentado.

**Artículo 3°.-** La investigación científica autorizada incluye la colecta de especies de flora silvestre a realizarse en la localidad señalada en el artículo anterior, fuera de Áreas Naturales Protegidas y por el periodo señalado en el Plan de Investigación presentado.

**Artículo 4°.-** En mérito a la autorización que precede, la titular se encuentra sujeta al cumplimiento del cronograma de trabajo del plan de investigación aprobado, por el periodo comprendido de doce (12) meses, contados a partir del día siguiente de la notificación de la presente Resolución.

**Artículo 5°.-** Autorizar la participación de la investigadora:

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: HHR79GN



## RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA

N°	Nombres y Apellidos	Tipo de document	N° documento de identidad	Participación en la investigación
1	Fabiola Milagros Perez Curi	DNI	72506810	Investigador principal

**Artículo 6°.-** La titular, investigadora principal de la autorización tiene las siguientes obligaciones:

- No extraer especímenes, ni muestras biológicas de flora silvestre no autorizada, no ceder los mismos a terceras personas, ni utilizarlos para fines distintos a lo autorizado.
- No contactar ni ingresar a los territorios comunales sin contar con la autorización de las autoridades comunales correspondientes.
- Retirar todo el material empleado para la ejecución del presente estudio una vez terminado el trabajo de campo y levantamiento de información biológica.
- En caso corresponda, depositar el material colectado en una institución científica nacional depositaria de material biológico, así como entregar a la ATFFS Cusco la constancia de dicho depósito. En casos debidamente justificados, y siempre que el material colectado no constituya holotipos ni ejemplares únicos, el depósito se podrá realizar en una institución distinta a la mencionada para ellos se requiere la autorización del SERFOR.
- Solo en el caso que por razones científicas acotadas se requiere enviar al extranjero parte del material colectado, el interesado deberá gestionar el correspondiente permiso de exportación ante la Dirección General Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre del SERFOR, así como pasar el control respectivo. Los ejemplares únicos de los grupos taxonómicos colectados y holotipos solo podrán ser exportados en calidad de préstamo.
- Entregar a la ATFFS Cusco una (01) copia del informe final en idioma español (incluyendo versión digital) como resultado de la autorización otorgada, copias del material fotográfico y/o slides que pueda ser utilizadas para difusión. Asimismo, entregar una (01) copia de las publicaciones producto de la investigación realizada en formato impreso y digital.
- El informe final deberá contener una lista taxonómica de las especies objeto de la presente autorización de colecta, en formato MS Excel. Esta lista deberá contar con sus respectivas coordenadas en formato UTM (Datum WGS84), incluyendo la zona (17, 18 o 19). Asimismo, incluir los datos de colecta de cada espécimen. El informe final que debe ser usado se encuentra en el Anexo 1 de la presente resolución.
- El plazo de cumplimiento de lo señalado en el literal d) y g) no deberá ser mayor a los seis (06) meses al vencimiento de la presente autorización.
- Solicitar anticipadamente a la ATFFS Cusco y dentro del plazo de vigencia de la resolución, cualquier cambio en las características de la investigación aprobada, que demanden la modificación de la presente resolución.
- Indicar el número de la resolución en las publicaciones generadas a partir de la autorización concedida.

**Artículo 7°.-** Exhortar a la titular de la presente autorización, cumplir en estricto con las disposiciones legales en materia forestal y de fauna silvestre, caso contrario se procederá a instaurar procedimiento administrativo sancionador.

**Artículo 8°.-** La titular deberá implementar todas las medidas de seguridad y eliminación de impactos que se puedan producir por las actividades propias de la fase de campo, como toma de datos, tratamiento y transporte de muestras, transporte de equipos,

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: HHR79GN



## RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA

personal, entre otros.

**Artículo 9°.-** Los derechos otorgados a través de la presente autorización, no eximen a su titular de contar con la autorización respectiva para el ingreso a territorios de comunidades nativas o comunidades campesinas, ANP, predios privados ni áreas comprendidas en títulos habilitantes, por lo que es responsabilidad de la titular obtener las citadas autorizaciones.

**Artículo 10°.-** La Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre Cusco del SERFOR, no se responsabiliza por accidentes o daños sufridos por la solicitante y su equipo durante la ejecución del proyecto; asimismo, se reserva el derecho de demandar al proyecto de investigación, los cambios a que hubiese lugar en los casos en que se dicten nuevas disposiciones legales o se formulen ajustes sobre la presente autorización.

**Artículo 11°.-** Informar que el incumplimiento de los compromisos adquiridos podrá ser causal para denegar futuras autorizaciones a nivel institucional.

**Artículo 12°.-** Notificar la presente resolución y el Informe Técnico N° D000030-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-CUSCO del 08 de febrero de 2024, a la señora Fabiola Milagros Perez Curi, para su conocimiento y fines. Contra la presente resolución, es posible la interposición de los recursos impugnativos previstos en el TUO de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado por Decreto Supremo N° 004-2019-JUS, en el plazo de quince (15) días hábiles más el término de la distancia (en caso corresponda), contados a partir del día siguiente de notificada la presente.

**Artículo 13°.-** Remitir la presente resolución y el Informe Técnico N° D000030-2024-MIDAGRI-SERFOR-ATFFS-CUSCO a la Dirección General de Información y Ordenamiento Forestal y de Fauna Silvestre, para su correspondiente registro; así como, a la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre.

**Artículo 14°.-** Disponer la publicación de la presente Resolución en el Portal Web del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre: [www.gob.pe/serfor](http://www.gob.pe/serfor)

Regístrese y comuníquese,

Documento firmado digitalmente

**RONALD SENIN CHANCASANAMPA MEDINA**  
ADMINISTRADOR TECNICO FFS  
ATFFS - CUSCO

Esta es una copia auténtica imprimible de un documento electrónico archivado en el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre, aplicando lo dispuesto por el Art. 25 de D.S. 070-2013-PCM y la Tercera Disposición Complementaria Final del D.S. 026-2016-PCM. Su autenticidad e integridad pueden ser contrastadas a través de la siguiente dirección web: Url: <https://sgd.serfor.gob.pe/validadorDocumental/> Clave: HHR79GN

ANEXO N°8: CERTIFICADO SANITARIO DE LOS ANIMALES DE  
EXPERIMENTACIÓN (RATONES) EMITIDOS POR EL BIOTERIO DEL INS



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD  
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS  
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 087-2023

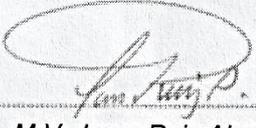
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M – 29- 2023
Especie	: <i>Mus musculus</i>	Cantidad	: 15
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 30 a 32 días
Peso	: 20 a 22 gr.	Sexo	: Hembra (08) Macho (07)
Boleta de venta	: B002-0003861	Destino	: Perez Curi, Fabiola Milagros
Fecha	: 26-07-2023		

El Médico Veterinario, que suscribe, **Jorge Ruiz Alarcón** Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias \*.

\*Referencia : PRT-CNPB-002-BIO, Procedimiento: "Control Sanitario de Animales del Bioterio"

Chorrillos, 01 de agosto del 2023

(Fecha de emisión del certificado)

  
M.V. Jorge Ruiz Alarcón.  
C.M.V.P. 5052

**NOTA:** El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.

**ANEXO N°9: RESULTADOS DESCRIPTIVOS PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DEL EXTRACTO SECO ETANÓLICO AL 70 % DE LAS HOJAS DE *Tanacetum vulgare* “Palma real” en *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana”.**

GRUPOS	PARÁLISIS		MUERTE	
	N°	TIEMPO (MIN)	N°	TIEMPO (MIN)
AGUA DESTILADA	R1 R2 R3 R4 R5 R6	360 360 360 360 360 360	R1 R2 R3 R4 R5 R6	360 360 360 360 360 360
0.5%	R1 R2 R3 R4 R5 R6	31 30 31 31 30 35	R1 R2 R3 R4 R5 R6	120 121 124 132 140 139
2%	R1 R2 R3 R4 R5 R6	20 21 19 21 21 23	R1 R2 R3 R4 R5 R6	59 70 72 70 65 58
4%	R1 R2 R3 R4 R5 R6	15 14 12 14 14 11	R1 R2 R3 R4 R5 R6	26 25 26 26 25 30
6%	R1 R2 R3 R4 R5 R6	26 25 26 26 25 30	R1 R2 R3 R4 R5 R6	19 18 19 20 20 22
ALBENDAZOL 2%	R1 R2 R3 R4 R5 R6	8 9 9 9 9 13	R1 R2 R3 R4 R5 R6	15 16 12 18 13 17
PIPERAZINA 10%	R1 R2 R3 R4 R5 R6	7 7 7 7 7 5	R1 R2 R3 R4 R5 R6	11 12 10 14 9 10

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA, DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

## ANEXO N°10: DESCRIPCIÓN DE PRUEBAS DE SOLUBILIDAD Y ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

### 1.- PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Para realizar las pruebas de solubilidad en diferentes tubos de ensayos, tomar aproximadamente 10 mg de extracto y a cada uno agregar un mL de solvente de diferente polaridad y luego observar su solubilidad.

Los solventes a utilizar son:

Agua destilada, Metanol QP, Etanol 40°, Etanol 70°, Etanol absoluto, Acetona QP, Hexano QP

### 2.- REACCIONES DE RECONOCIMIENTO

#### FLAVONOIDES

**Reacción de Shinoda:** Tomar 0,5 ml del extracto y agregar una granalla de Zn o Mg más 0,2 ml de ácido clorhídrico concentrado. Esperar la disolución de la granalla. Agregar 0,2 ml de alcohol amílico y luego 2 ml de agua destilada. Observar la aparición de coloración marrón, pardo rojiza o rosada en la fase orgánica. La aparición de una tonalidad desde rosado tenue hasta guinda indica la presencia de flavonoides.

#### TANINOS Y OH FENÓLICOS

**Reacción de Cloruro Férrico:** Llevar a seco 3 ml de la muestra calentando a Baño María (se puede hacer directamente sin llevar a seco). El residuo seco se disuelve en 1 ml de agua destilada y se le agregan 3 gotas de FeCl<sub>3</sub> al 1% acuoso. La aparición de coloración varía de acuerdo a la cantidad y posición de los oxhidrilos fenólicos presentes: amarilla indica la presencia de 1 -OH, verde grisáceo 2 -OH adyacentes y azul negro 3 -OH adyacentes.

#### AZUCARES REDUCTORES

**Reactivo Fehling:** Para preparar el reactivo, consta de dos soluciones separadas: Fehling A (cobre (II) sulfato) y Fehling B (solución alcalina de tartrato de potasio y sodio). Se mezcla una cantidad de la solución de Fehling A y Fehling B en una proporción 1:1. La muestra vegetal o el extracto de la planta se calienta en presencia de este reactivo. Si hay

azúcares reductores, el ión cúprico ( $\text{Cu}^{2+}$ ) en el reactivo se reducirá, formando un precipitado de color rojo-naranja, indicando la presencia de azúcares reductores.

## **SAPONINAS**

**Prueba de la espuma:** Aproximadamente 0.1g de extracto se solubiliza en 5 ml de agua o en 5ml de etanol al 40%, filtrar si es necesario, el filtrado agitar vigorosamente por 30 segundos. La formación de espuma persistente por 30 minutos indica presencia de saponinas.

## **LACTONAS (Proteínas y péptidos)**

**Reacción de Biuret:** Tomar 2 ml de la muestra y agregar 2 ml del reactivo de Biuret. El mismo se prepara mezclando partes iguales de una solución acuosa de  $\text{CuSO}_4$  al 0,25 % (0,25 g en 100 ml de agua caliente) y una solución acuosa de NaOH al 10%. Si el color no se presenta inmediatamente, dejar reposar de 10 a 15 minutos. La aparición de coloración violeta-púrpura o violeta-rosada indica la presencia de péptidos y/o proteínas.

## **ESTEROIDES (Núcleos esteroidales y triterpenos)**

**Reacción de Liebermann-Burchard:** Mezclar con cuidado 1,8 ml de anhídrido acético con 0,2 ml de ácido sulfúrico concentrado en medio anhidro. Tomar 0,2 ml de la fracción B y agregar 0,2 ml del reactivo de Liebermann-Burchard. Se observará una coloración verde oscura que, al poco tiempo del agregado del reactivo, pasa a negra. La formación de colores azul-verdoso indica la presencia de grupo esteroide; la coloración rosada a púrpura evidencia grupo triterpénico.

## **QUINONAS**

La reacción de borntrager sirve para quinonas en general

**Reacción de borntrager:** 200mg de extracto se disuelven en 1 ml de cloroformo. Se adicionan 1ml de hidróxido de potasio al 5%, se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su separación. El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina se colorea de rosado (++) o rojo (+++).

## ALCALOIDES

**Reacción de Dragendorff:** Disolver 8 gramos de subnitrito de bismuto en 20 ml de HNO<sub>3</sub> al 30%. Volcar esta solución sobre otra que contiene 22,7 g de KI en 20 ml de agua. Dejar en reposo y separar el KNO<sub>3</sub> decantado, diluir a 100 ml. El reactivo así preparado se utiliza para identificar alcaloides. Para la reacción tomar 0,2 ml de la muestra, llevar a sequedad, retomar con 2 ml de HCl 1% y agregar 2 gotas del reactivo. La aparición de un precipitado color pardo-naranja indica la presencia de alcaloides.

## ANEXO N°11: ARCHIVO FOTOGRÁFICO



FOTOGRAFÍA N°1: Ubicación en la Comunidad de Pumamarca perteneciente al Distrito de San Sebastián, Provincia de Cusco, Departamento del Cusco, zona situada a 3438 msnm. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°2: Recolección de la parte aérea de la especie vegetal “Palma real”  
FUENTE: FMPC, 2024.



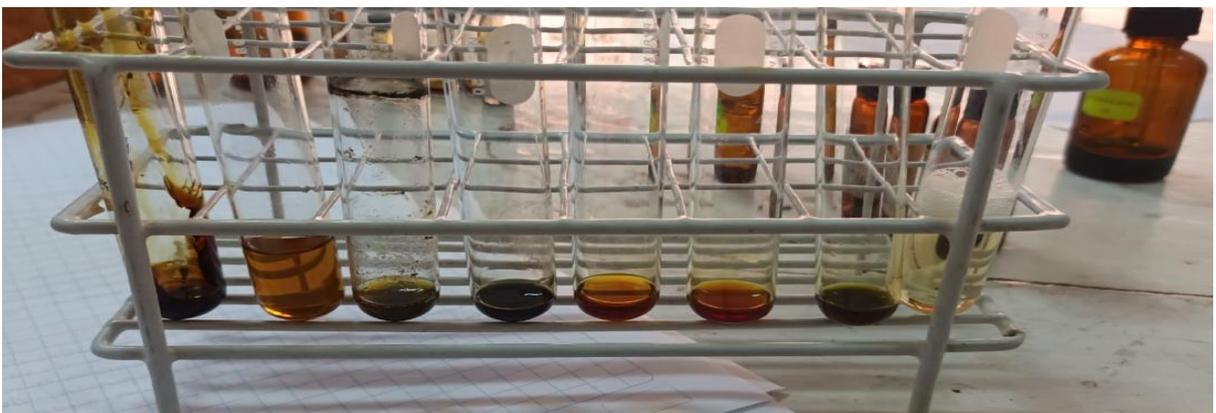
FOTOGRAFÍA N°3: Selección, secado, molienda de las hojas seleccionadas en ambiente fresco y ventilado, tamizaje de las hojas secas para facilitar la extracción del principio activo, filtración del macerado, extracción sólido-líquido, mediante el alcohol de 70°. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°4: Porcentaje de rendimiento, mediante una estufa a una temperatura de 37°C a baño maría muestra la evaporación de los extractos y pesado de los extractos. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°5: Porcentaje de humedad pesado, secado y humificación de las hojas frescas de la especie vegetal “Palma real”. FUENTE: FMPC, 2024



FOTOGRAFÍA N°6: Determinación de la solubilidad. FUENTE: FMPC 2024



FOTOGRAFÍA N°7: Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios de extracto etanólico de “Palma real”. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°8: Centro de lombricultura UNSAAC, Facultad de Agronomía y Zootecnia, ubicados en canteros donde hay producción de humus de lombrices. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°9: Recolección Y Selección de la *Eisenia foetida*, según las características requeridas. FUENTE: FMPC, 2024.



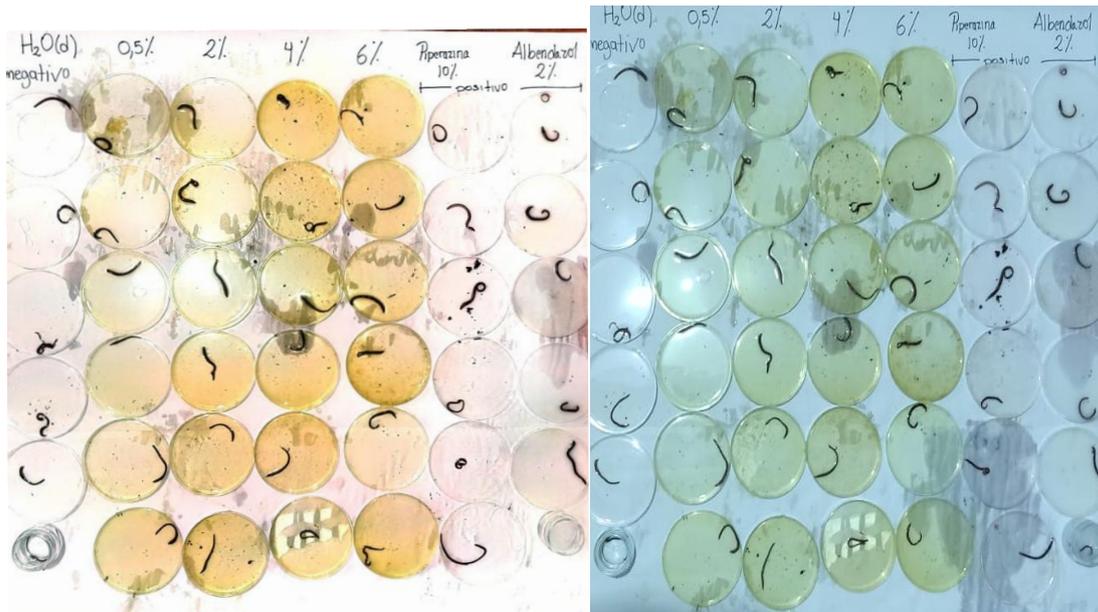
FOTOGRAFÍA N°10: Prueba preliminar del extracto etanólico a distintas concentraciones 0.5%, 2%, 4%, 6%, 8% y 10% en *Eisenia foetida*. FUENTE: FMPC, 2024.



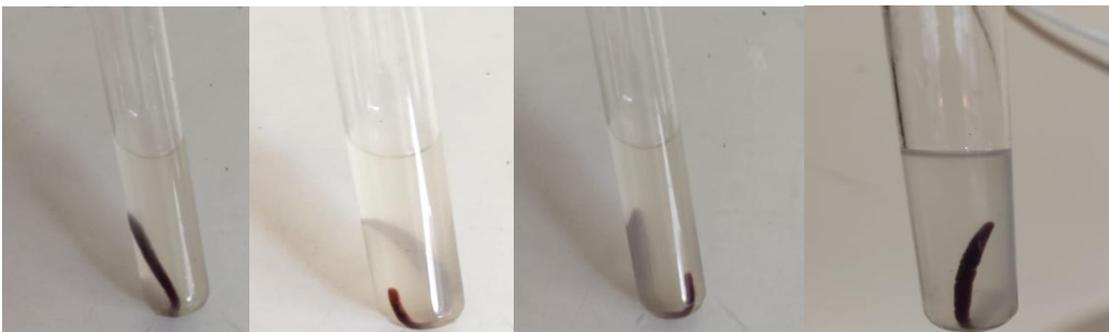
FOTOGRAFÍA N°11: Proceso de pesado de las distintas concentraciones, de lavado de *Eisenia foetida*, y preparación de materiales antes del ensayo de la actividad antihelmíntica. FUENTE: FMPC, 2024



FOTOGRAFÍA N°12: Preparación del extracto a las dosis de 0.5%, 2%, 4% y 6%, patrón (agua destilada) y controles (albendazol 2% y piperazina 10%) del ensayo de la actividad antihelmíntica del extracto seco etanólico. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°13: Exposición de *Eisenia foetida* “lombriz roja californiana” frente al extracto etanólico de las hojas de *Tanacetum vulgare* “Palma real”. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°14: Observación del estímulo en tubos de ensayos con 10 ml de agua destilada a 45°C que induce movimientos en los vermes si aún se encuentran vivos. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°15: Peso de los ratones para la prueba de toxicidad aguda. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°16: Prueba de toxicidad, administración a ratones albinos *Mus musculus* en las dosis requeridas. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°17: Primera fase de la prueba de toxicidad. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°18: Resultados de la prueba de la primera fase, donde se observa la muerte de cinco ratones. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°19: Segunda de la prueba de toxicidad, a las concentraciones de 20 mg/kg, 40 mg/kg, 80 mg/kg y 160 mg/kg. FUENTE: FMPC, 2024.



FOTOGRAFÍA N°20: Resultados de la segunda fase de toxicidad, presencia la muerte de un ratón a la dosis de 160 mg/kg. FUENTE: FMPC, 2024.