

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE ESTUDIO DE FARMACIA Y
BIOQUIMICA



**Toxicidad aguda del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus*
(cadillo) en *Poecilia reticulata* (pez guppy).**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Autor:

Guevara Cadenillas Cela Siria

Rodriguez Pereda Leyda Diana

Asesor

Mariños Ginocchio, Julio Cesar

(Código ORCID: 0000-0003-3323-2943)

Nuevo Chimbote - Perú

2022

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS.....	ii
PALABRA CLAVE	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	1
Tipo y Diseño de investigación	18
Población - Muestra y Muestreo.....	18
Técnicas e instrumentos de investigación	19
Procesamiento y análisis de la información	19
RESULTADOS	15
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	22
CONCLUSIONES.....	30
RECOMENDACIONES	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXOS	38

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1	Porcentaje de rendimiento al obtener el extracto etanólico de <i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo).	22
Tabla 2	Estudio fitoquímico del extracto etanólico de <i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo).	23
Figura 1	Número de muertes de alevines expuestos al extracto etanólico de cadillo.	24
Figura 2	Porcentaje de muertes de alevines expuestos al extracto etanólico de cadillo.	25
Figura 3	CL50 del extracto etanólico de cadillo en peces guppy.	26

1 Palabras clave

Tema	toxicidad
Especialidad	Farmacoterapia

Keywords

Subject	toxicity
Speciality	Pharmacotherapy

Línea de investigación

Línea de investigación	Recursos naturales y terapéuticos
Área	Ciencias médicas y de la salud
Subárea	Medicina básica
Disciplina	Farmacología y farmacia

2 Título

Toxicidad aguda del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) en *Poecilia reticulata* (pez guppy).

3 Resumen

La presente investigación tiene como objetivos evaluar la toxicidad aguda del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) en *Poecilia reticulata* (pez guppy), para tal fin se utilizarán 72 alevines de peces guppys, se preparará cuatro soluciones el primero agua de pecera, el segundo, tercero y cuarto recibirán una solución del extracto a concentraciones de 0.05 mg/L; 0.5 mg/L y 5 mg/L con tres repeticiones donde se colocará 6 peces y se observarán las muertes a las 24, 48 y 72 horas. Se obtuvo el extracto con un porcentaje de rendimiento del 7%. El estudio fitoquímico identificó la presencia de taninos, compuestos fenólicos, alcaloides y flavonoides, como principales metabolitos secundarios, también se encontró una CL50= 487,9983 mg/L siendo inocua según la OCDE 203. Por lo tanto, el extracto de *Cenchrus echinatus* (cadillo) es una especie que no presenta toxicidad aguda en el modelo de *Poecilia reticulata*.

Palabras clave: Toxicidad aguda, CL50, extracto etanólico, *Cenchrus echinatus*, *Poecilia reticulata*.

4 Abstract

The present investigation has as objectives to evaluate the acute toxicity of the ethanolic extract of *Cenchrus echinatus* (cadillo) in *Poecilia reticulata* (guppy fish), for this purpose 72 guppy fish fingerlings will be used, four solutions will be prepared, the first fish tank water, the second, third and fourth will receive a solution of the extract at concentrations of 0.05 mg/L; 0.5 mg/L and 5 mg/L with three repetitions where 6 fish will be placed and deaths will be observed at 24, 48 and 72 hours. The extract was obtained with a yield percentage of 7%. The phytochemical study identified the presence of tannins, phenolic compounds, alkaloids and flavonoids, as main secondary metabolites, an $LC_{50} = 487.9983$ mg/L was also found, being innocuous according to OECD 203. Therefore, the extract of *Cenchrus echinatus* (cadillo) is a species that does not present acute toxicity in the *Poecilia reticulata* model.

Keywords: Acute toxicity, LD50, ethanolic extract, *Cenchrus echinatus*, *Poecilia reticulata*.

5 Introducción

Antecedentes y fundamentación científica.

Guerrero-López et al., (2021), buscaron determinar la toxicidad aguda del extracto metanólico de Árnica mexicana en *Poecilia reticulata* ya que ésta especie es un indicador biológico de contaminación ambiental por su elevada sensibilidad a contaminantes del medio acuático. Así también, el uso de plaguicidas sintéticos estos generan una elevada bioacumulación y por ende dañan a la red trófica, y como alternativa natural se vienen utilizando productos naturales que disminuirían el impacto ambiental. En este sentido, el árnica mexicana es utilizada de manera tradicional por sus propiedades insecticidas, siendo necesario evaluar, los efectos toxicológicos y ecotoxicológicos. Este modelo midió el número de muertes de alevinos por unidad de concentración, llegándose a encontrar que éste producto es mínimamente tóxico para peces debido a que se evidenció concentraciones letales medias (CL50) de 224 (machos) y 154 mg/L (hembras); Por tanto se concluyó que el extracto metanólico podría ser una buena alternativa como plaguicida botánico que cumple con los requisitos de seguridad ecológica.

Por otro lado, López en el 2021, evaluó la toxicidad de extractos metanólicos y acetónicos de las hojas de *Heterotheca inuloides* en el modelo de pez guppy - *Poecilia reticulata*. Así mismo buscaron determinar cómo afecta el compuesto principal de los extractos (7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno), utilizando el modelo de alevines de peces guppy (*Poecilia reticulata*). La toxicidad se evaluó durante cuatro días de exposición. Se encontró que las concentraciones letales medias (CL50) de los extractos acetónicos y metanólicos para alevines fueron: 15,7 y 187,2 mg/L respectivamente. Mientras que para peces adultos machos: 63 y 224 mg/L; adultas hembras: 103,7 y 153,7 mg/L. También se evaluó la CL50 del componente 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno encontrándose una CL50 de 0,9 mg/L (alevines), 4,1 mg/L (adultos machos) y 1,0 mg/L

(adultas hembras). Finalmente se pudo concluir que los extractos metanólico y acetónico de *Heterotheca inuloides* presentaron una ligera toxicidad en peces guppys comparados con algunos plaguicidas sintéticos, siendo los sexquiterpenos fueron elevadamente tóxicos en peces machos y extremadamente tóxico para los alevines y peces hembras adultas.

Lozada, Rivera y Ho en el 2019, realizaron una investigación consistente en evaluar la toxicidad de sedimentos de lagunas de lixiviación, para tal fin se evaluó el procedimiento de lixiviación, su toxicidad aguda, evaluándose los rellenos sanitarios como una alternativa para la disposición de residuos sólidos de las municipalidades, generando un grado de contaminación al generar lixiviados, sedimentos y emisión de gases tóxicos. La sedimentación produce la precipitación de materia orgánica e inorgánica des lixiviados depositados en lagunas de almacenamiento produciendo sustancias tóxicas que afectarían al medio ambiente. Se evaluó la toxicidad de los materiales sedimentados de una laguna de lixiviado municipal, se utilizaron modelos de toxicidad aguda de *Daphnia pulex* y *Poecilia reticulata*. Se encontró que la sustancia sedimentada no llegó a exceder las concentraciones permitidas ni llegaron a ser tóxicos para los organismos utilizados, lo que permite sugerir su utilización potencial en la agricultura sobre todo en suelos ácidos, debido a su pH básico y elevado contenido de nutrientes y materia orgánica.

Zambrano et al., (2018), realizaron bioensayos agudos y crónicos con plomo, en peces guppy (*Poecilia reticulata*) buscando determinar la concentración letal media (CL50) y en peces guppy, enfrentados con nitrato de plomo. Se utilizaron 200 peces guppys adultos, los que fueron aclimatados por 15 días, posteriormente se expusieron al tóxico durante cuatro días. Siendo los parámetros controlados fueron la temperatura ($17,0 \pm 1^\circ\text{C}$), oxígeno disuelto ($7,8 \pm 0,2$ ppm) y pH ($6,9 \pm 0,1$). Se encontró una concentración letal 50 (CL50) de 4,5 ppm. Cuya concentración provoca el 50% de las muertes de una población de peces que fueron expuestos al nitrato de plomo. Los resultados del ensayo evidenciaron una notoria sofocación o falta de oxígeno, ya que los

peces permanecieron la mayor parte en la parte superior del acuario, también se vio daño en el epitelio de las branquias, presentando un recubrimiento de una mucosa blanquecina transparente, las que inicialmente fueron de color rojo a rosado, también se evidenció un daño del sistema nervioso central representado por un nado desorientado. Se encontró una CL50 para plomo evaluada en la especie *Carpita cabezona* (*Pimephales promelas*) de 5,4 ppm en cuatro días. Se podría concluir que la CL50 igual a 4,5 ppm manifiesta que el plomo es tóxico, así también se concluye que la especie pez guppy es más sensible que la especie carpita o que la especie carpita es más resistente a las toxinas.

Núñez y Lozano (2017), evaluaron la toxicidad aguda de dos insecticidas derivados del Dimetoato (pez guppy y Tilapia del nilo) se estableció como diseño para la experimentación una densidad de 5 peces guppys por cada litro y 10 tilapias por cada 3 litros. Las concentraciones finales de 0.15, 0.115, 0.08, 0.045 y 0.01 mg/L (formulación 1) y de 0.03, 0.023, 0.016, 8×10^{-3} , y 1×10^{-3} mg/L (formulación 2) para peces guppys; también las formulaciones: 0.03, 0.023, 0.015, 8×10^{-3} , y 1.3×10^{-6} mg/L (formulación 1) y 3×10^{-4} , 2.3×10^{-4} , 1.5×10^{-4} , 8×10^{-5} , y 2×10^{-6} (formulación 2) en tilapia. El estudio se realizó durante cuatro días y se evaluó la cantidad de muertes acumuladas. Se encontró una CL50 de 0.082 y 2.8×10^{-3} mg/L para la formulación 1 y 2 en guppys y 2.9×10^{-50} y 7.7×10^{-6} mg/L para la formulación 1 y 2 en tilapia.

Cisneros et al., (2022), buscaron hallar la seguridad del extracto de cadillo en roedores. Los resultados mostraron que el extracto de cadillo es inocuo, ya que provocó alteraciones de los parámetros hematológicos, bioquímicos e histopatológico, así mismo se obtuvo una DL50=16 222 mg/Kg, el mismo que fue asociado a la presencia de los componentes bioactivos como los taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, quinonas y glicósidos. Concluyendo que el extracto de cadillo posee propiedades anticancerígenas de mama y no es tóxico en roedores.

Marco teórico

Ensayos de Toxicidad de productos vegetales.

En empleo de productos naturales para curar ciertas enfermedades está aumentando, debido a su accesibilidad de las especies como la económica y la confianza de la población que erróneamente no le atribuye efectos adversos (Larrey, 1994). Mientras que en algunos casos son rechazados por no tener estudio científico de eficacia comprobada (Ernst, 2005). Siendo indispensable realizar estudios que puedan validar su eficacia y riesgos. A pesar de ello en el Perú, posee alrededor de 50 mil especies vegetales (20% de las existentes en la Tierra) de las cuales sólo 2000 han sido empleadas con fines medicinales (Li, 2010).

Después de la medicina convencional se utilizan los productos naturales (Baumann, et al., 1986), más aún, el 80% de la población en todo el mundo no tiene acceso a un sistema de salud, siendo las plantas a veces su única alternativa terapéutica (Farnsworth et al., 1984).

En 2002 la OECD recomendó que el test de DL50 se sustituya por el de tóxica aguda (Diener et al., 1999; OECD 2000), el procedimiento de sube y baja (OECD, 2001) y el de dosis fijas (OECD, 2000). Con la finalidad de reducir el número de especímenes.

El método de dosis fijas establece utilizar concentraciones preestablecidas como 5, 50, 300 y 2000 mg/kg (OECD, 1998), dónde las dosis elegidas deben de cumplir requisitos como ser no letal, no provocar dolor y no provocar estrés en el espécimen, además de no ser irritante ni corrosiva.

Los estudios de seguridad de productos naturales son indispensables ya que muchos de ellos a pesar de tener efecto terapéutico pueden llegar a presentar toxicidad aguda e interferir con el desarrollo y crecimiento de diversas especies (Pascual-Villalobos, 1998; Barra et al., 2007; Lagarto et al., 2008).

Clasificación de toxicidad

TIPOS DE TOXICIDAD	Descripción
Toxicidad aguda	Se administra una sola dosis a un espécimen por una determinada vía y se evalúan los efectos adversos.
Toxicidad subaguda	Se administran dosis repetidas de una sustancia durante 28 días por una determinada vía y se observan los efectos tóxicos.
Toxicidad subcrónica:	Se administran dosis repetidas de una sustancia durante 45 días a 3 meses por una determinada vía y se observan los efectos tóxicos.
Toxicidad crónica:	Se administran dosis repetidas de una sustancia durante 3 meses hasta dos años por una determinada vía y se observan los efectos tóxicos.

A. Estudios de toxicidad aguda o de dosis única: Estos estudios buscan evaluar la dosis letal 50 (DL50) o los diversos eventos adversos, donde se consideran como parámetros las muertes producidas por el tóxico durante 24 horas, 7 días, 15 días y 30 días, también incluye un estudio histológico de los animales, pruebas dérmicas en conejos, pruebas en diversas especies como roedores y no

roedores, se evalúan las diversas vías de administración con una sola exposición del tóxico.

- B. Estudios de toxicidad crónica o dosis diarias:** Éstos estudios se realizan dependiendo el tiempo de exposición, siendo crónica (medio plazo) o de dosis repetidas durante 14, 28 y 90 días, así mismo la toxicidad crónica (largo plazo) en donde el tiempo de exposición es de tres meses a dos años; los estudios generalmente se realizan en roedores con diversos niveles de dosis, varios lotes, así también se determina la DL-50, utilizando como mínimo 10 animales (cinco e cada sexo).
- C. Estudios especiales:** Para evaluar la carcinogénesis, fertilidad, viabilidad, teratogénesis, lactancia, metabolismo, comportamiento operante, adicción, órganos aislados.

***Cenchrus echinatus* (cadillo).**

Planta originaria de América, pero también tiene una distribución secundaria en la flora de Norteamérica, también llamado cadillo, carretón morado, espolón, grano de mazote, zacate erizo, olotillo, roseta, carrapicho, abrojo, espolón, grano de mozote, pega-pega, huizapol, ojo de hormiga, pasto, (Silva, 2012)

El cadillo es una planta que crece durante todo el año, crece erecta, generalmente crece rodeado de varios individuos de su misma especie, cuya altura puede llegar a unos 60 cm, su tallo es ramificado, con nudos manifiestos. Tiene hojas alternar con pelos en el ápice; hojas ciliadas y laminadas, lanceoladas, con espinas purpuras. Tiene espiguillas unifloras, con frutos ovoides y semillas pequeñas. (Lebniz, 2018)

Diversos estudios han demostrado que la especie vegetal cadillo contiene alcaloides, taninos, flavonoides y compuestos fenólicos en regular cantidad (Cisneros, 2016). Los metabolitos secundarios hallados le atribuyen propiedades antiinflamatorias atribuido a los compuestos fenólicos (Quiñones,

2012), y gran actividad antioxidante, anticancerígenas y frente a desordenes cardíacos (Cisneros & Arroyo, 2017; Cisneros & Córdova, 2011; Cisneros et al., 2013 & Cisneros et al., 2015).

Justificación de la investigación

Ésta investigación se justifica teóricamente ya que su aporte científico, contribuirá al conocimiento en cuanto a ofrecer información relevante de la seguridad y toxicidad del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo).

También se justifica de manera metodológica, ya que pondrá a disposición un instrumento para la recolección de información relacionado al evaluar la toxicidad del extracto etanólico de la planta completa de *Cenchrus echinatus* (cadillo).

Se justifica de manera social ya que brindará una alternativa medicinal al alcance de la población, ya que los productos medicinales y las terapias son muy costosas, pero sobre todo brindará la seguridad de su consumo, reduciendo al máximo las posibles Reacciones adversas medicamentosas.

Problema

¿Cuál será la toxicidad aguda del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) en *Poecilia reticulata* (Pez guppy)?

Conceptuación y operacionalización de las variables

<i>Definición conceptual de la variable</i>	Dimensiones (factores)	Indicadores	Tipo de escala de medición
Toxicidad aguda: Es el conjunto de manifestaciones negativas que puede presentar una especie que es sometida o expuesta a una sustancia por vía oral o cutánea tras una sola exposición (OECD, 2000).	Daño	Muertes	Unidades, porcentaje
<i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo): Es una planta cosmopolita tipo arbusto que contiene abundante cantidad de flavonoides, compuestos fenólicos los que le confieren propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias, hipolipemiantes e hipoglicemiantes (Garzón, 2019).	Estudio fitoquímico	Metabolitos secundarios.	Ausencia, poca, regular y abundante cantidad.

Hipótesis

Hipótesis alternativa:

Ha= El extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) no es toxico en *Poecilia reticulata* (pez guppy).

Hipótesis nula:

Ho= El extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) es toxico en *Poecilia reticulata* (pez guppy).

Objetivos

Objetivo general:

Determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) en *Poecilia reticulata* (pez guppy).

Objetivos específicos:

1. Obtener el extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo)
2. Realizar el estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo)
3. Evaluar la toxicidad aguda del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) en *Poecilia reticulata* (pez guppy).

6 Metodología

a) Tipo y diseño de investigación

Tipo de investigación:

El estudio es de naturaleza básica ya que permitirá aportar con nuevos conocimientos relacionados a las variables de estudio, esto permitirá que futuras investigaciones cuenten con información confiable y pertinente (Duran-Gomez, Rodriguez-benito, 2020).

Diseño de la investigación:

El presente trabajo es de naturaleza experimental permite manipular las diversas variables de manera intencional (independiente), para analizar la variable dependiente Hernández et al., (2006). Por lo tanto, se buscó determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) en *Poecilia reticulata* (Pez guppy), considerando el diseño que se expresa a continuación:

Grupos farmacológico	tratamiento
Grupo 1	Agua de pecera
Grupo 2	Solución de extracto 0.05 mg/L
Grupo 3	Solución de extracto 0.5 mg/L
Grupo 4	Solución de extracto 5 mg/L

b) Población, muestra y muestreo

Población

La población es un conjunto de individuos, maquinas, mediciones, juicios u observaciones que el investigador requiere para poder estudiar algún fenómeno

(Arias, et al., 2016). La población, estará constituida por una población *Poecilia reticulata* y plantas completas de *Cenchrus echinatus*.

Criterios de inclusión

- Se incluyen alevines de peces guppy
- Se incluye plantas completas de cadillo

Criterios de exclusión

Se excluirán peces de otras especies

Se excluirán plantas de especies diferentes a *Cenchrus echinatus*.

Muestra

La muestra está representada por un grupo de unidades de una población, los mismos que cumplen ciertos criterios de inclusión y exclusión, deben estar en una cantidad representativa y es factible de precisar sus características durante la elaboración del plan de investigación (Hernández, et al., 2014). La muestra estuvo conformada por 72 alevines de *Poecilia reticulata* y 2 gramos del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus*.

Técnica de muestreo

Dentro del proceso de investigación, el muestreo puede ser probabilístico o no probabilístico (Kinnear y Taylor1998), en el caso nuestro es de tipo es probabilístico ya que cada miembro de la población tiene igual posibilidad de ser escogido para la presente investigación.

c) Técnicas e instrumentos de investigación

Obtención de la muestra vegetal:

La especie vegetal estuvo conformada por plantas completas de *Cenchrus echinatus* L. las que fueron recolectadas en el centro poblado de San José, distrito de Santiago de Cao, Provincia de Ascope, perteneciente al Departamento de la Libertad.

Determinación fitoquímico del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo).

Las plantas completas de cadillo fueron secadas a temperatura ambiente, sobre papel craft y bajo la sombra, luego de una semana y con la ayuda de un mortero se pulverizaron, la muestra pulverizada se agregó en una botella de vidrio y se le agregó etanol de 96° (3 cm sobre el borde superior), se forró con una bolsa negra para evitar la inactivación de algún componente con la luz y se colocó en un lugar oscuro, cada día mañana, tarde y noche se agitó por un par de minutos y ayudar a extraer los metabolitos secundarios, posterior a siete días el macerado se filtró haciendo uso de un embudo y papel filtró, el líquido obtenido se colocó en una fuente de vidrio y con la ayuda de una estufa se colocó a 40° hasta que sólo quede un residuo seco a peso constante, el mismo que se colocó en un frasco con tapa y se mantuvo en refrigeración.

Screening fitoquímico del extracto (Lock de Ugaz, 2017).

El presente estudio permitió identificar los principales compuestos bioactivos presentes en el extracto de la muestra vegetal *Cenchrus echinatus* L. (cadillo), el mismo que consistió en preparar una solución acuosa del extracto, haciendo uso de polisorbato de sodio 80 para facilitar su disolución, luego se colocó en tubos de ensayo un mililitro de la solución del extracto y se les agregó los siguientes reactivos: Gelatina, tricloruro férrico, Dragendorff y Shinoda, (Lock, 1994).

Determinación de la toxicidad aguda del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (cadillo) en *Poecilia reticulata* (pez guppy) (Vega y Carrillo, 1997; Williams et al., 1985).

Se emplearon 72 alevines de peces guppys, se preparó cuatro soluciones el primero conteniendo agua tratada para pecera, el segundo, tercero y cuarto recibieron una solución del extracto a concentraciones de 0.05 mg/L; 0.5 mg/L y 5 mg/L con tres repeticiones donde se colocaron 6 peces y se observaron las muertes a las 24, 48 y 72 horas, sirviendo para determinar la CL50 del extracto.

d) Procesamiento y análisis de la información

El proceso de análisis estadístico dentro de una investigación, juega un papel fundamental (Valderrama, 2015), ya que los datos obtenidos requieren de un procesamiento oportuno que permita aceptar o rechazar la hipótesis. El parámetro evaluado fue el número de muertes de los alevines por cada grupo experimental, utilizando el método de los probits, además de un análisis descriptivo y un análisis de varianza, con elevada confiabilidad (95%), cuyo análisis será expresado con tablas y figuras.

7 Resultados

Tabla 1

Porcentaje de rendimiento al obtener el extracto etanólico de Cenchrus echinatus (cadillo).

Muestra utilizada para obtención del extracto	Fórmula
Planta completa de <i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo). Cantidad: 100 g	$\%R = \frac{\text{Cantidad obtenida}}{\text{Cantidad de muestra}} \times 100$ $\%R = (7 \text{ g}/100\text{g}) \times 100 = 7\%$ Se obtiene un rendimiento del 7%

Dónde: %R = porcentaje de rendimiento

En la tabla N 1 se muestra el porcentaje de rendimiento del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) por cada 100 gramos de muestra, siendo el valor obtenido de 7%

Tabla 2

*Estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo).*

Reactivo	Tipo de Metabolito Secundario	Abundancia
Rx. Gelatina	Taninos	XXX
Rx. Cloruro de hierro (III)	Compuestos Fenólicos	XXX
Rx. Shinoda	Flavonoides	XXX
Rx. Dragendorff	Alcaloides	XXX

Dónde: Rx: reactivo, abundante=XXX, regular=XX, poco=X, ausencia= -

En la tabla 2. El estudio fitoquímico mostró que el extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo), contiene una abundante cantidad de flavonoides, taninos, alcaloides y compuestos fenólicos.

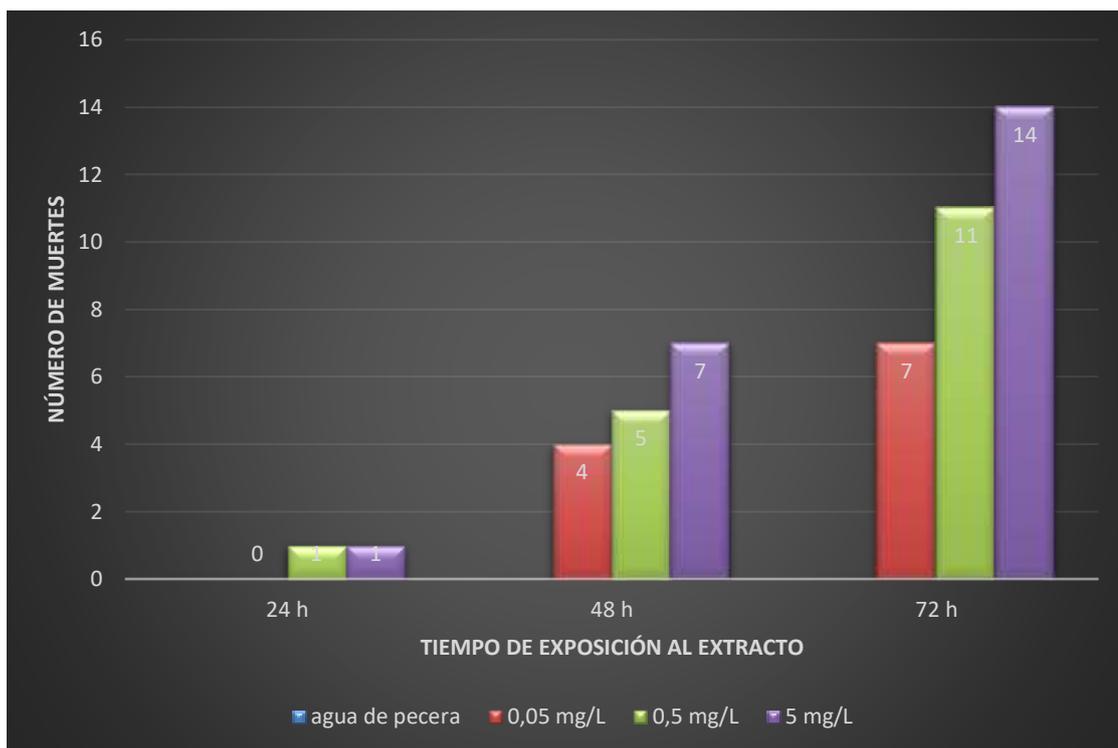


Figura 1. Número de muertes de alevines expuestos al extracto etanólico de cadillo.

En la figura 1, se puede observar el número de muertes de los alevines de peces guppy donde en primer grupo control (agua de pecera) no presentó ninguna muerte durante las 72 horas, en cambio en los grupos que recibieron extracto en dosis de 0,05 mg/mL, 0,5 mg/mL y 5 mg/mL en este orden se evidenció que en las 24h primeras horas presentaron 0, 1 y 1 muertes, en las 48 horas 4, 5 y 7 muertes y en las 72 horas 7, 11 y 14 muertes.

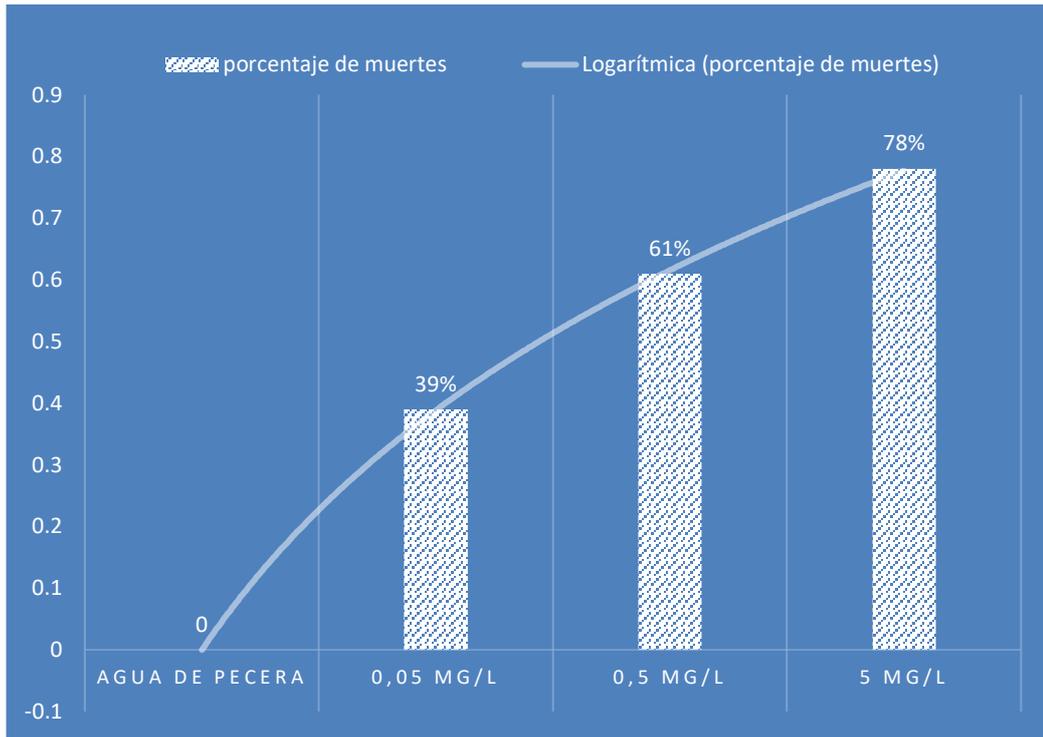


Figura 2. Porcentaje de muertes de alevines expuestos al extracto etanólico de cadillo.

En la figura 2, se puede observar el porcentaje de muertes de los alevines de peces guppy que fueron expuestos al extracto etanólico del cadillo, donde en el grupo control (agua de pecera), no se observó ninguna muerte en agua de pecera, el 39% de muertes con extracto 0,05 mg/mL, un 61% de muertes con el extracto 0,5 mg/mL y un 78% de muertes con el extracto al 78%.

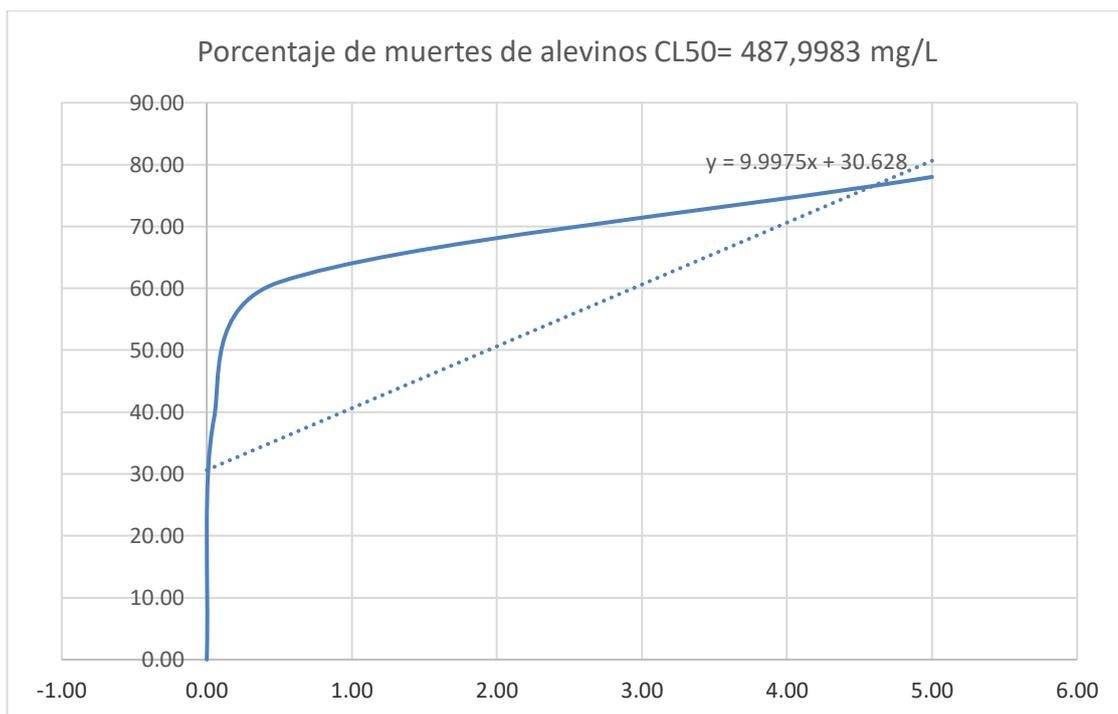


Figura 3. CL50 del extracto etanólico de cadillo en peces guppy.

En la figura 3, se puede observar la concentración letal 50 que logra la muerte del 50% de peces guppy tras la administración del extracto etanólico de cadillo, siendo de CL50= 487,9983 mg/L.

8 Análisis y discusión

En la tabla 1. Se expresa el porcentaje de rendimiento de 7%, relacionado a la cantidad de extracto de cadillo se obtuvo por cada 100 g de muestra vegetal, que para este caso estuvo conformado por la planta completa, cuya cantidad es similar a lo obtenido por Cisneros et al., (2022), quién utilizó una muestra vegetal de cadillo de la misma localidad. Obteniendo un porcentaje del 6,8%.

En la tabla 2. Se muestran los principales metabolitos secundarios que se encuentran en el extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo), donde mediante reacciones se encontró abundante cantidad de taninos, compuestos fenólicos, alcaloides y flavonoides, éstas sustancias se les asocia múltiples efectos farmacológicos, lo que queda conformado con el estudio de Cisneros et al., (2022), quienes encontraron que el extracto de cadillo contiene: taninos, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, quinonas y glicósidos, a los mismos que se les atribuye sus propiedades medicinales.

En la figura 1 se muestran las cantidades de alevines muertos de peces guppy donde el primer grupo control no recibió ninguna sustancia por tanto los alevines estuvieron mantenidos en agua de pecera y no se presentó ninguna muerte, por otro lado los otros grupos expusieron a una solución de extracto en dosis de 0,05 mg/mL, 0,5 mg/mL y 5 mg/mL presentaron 1, 7 y 14 muertes de alevines a las 72 horas de exposición, cuyos resultados son similares con los obtenidos por Guerrero-López et al., (2021), quienes al evaluar el efecto tóxico de árnica mexicana en alevinos de *peces guppy* encontró una mínimamente toxicidad

siendo la CL50=224 (machos) y CL50=154 mg/L (hembras), constituyéndose en un buena alternativa como plaguicida ecológico.

La figura 2 se puede observar el porcentaje de muertes de los alevines de peces guppy que fueron expuestos al extracto etanólico del cadillo, los mismos que son dosis dependientes y también incrementa el número de muertes con el tiempo de exposición, donde en el grupo control (agua de pecera), no se observó ninguna muerte en agua de pecera, el 39% de muertes con extracto 0,05 mg/mL, un 61% de muertes con el extracto 0,5 mg/mL y un 78% de muertes con el extracto al 78%, los mismos que coinciden con Zambrano et al., (2018), donde se demostró que ciertos extractos podría dañar la calidad de vida de especies acuáticas como minorar el oxígeno, daño a nivel branquial y del sistema nervioso central, inclusive Núñez y Lozano (2017), demostró que el daño en esta especie afectaría a no sólo alevines sino a adultos machos y hembras de esta especie.

La presente investigación busca evaluar el impacto que tienen los productos como insecticidas, plaguicidas sobre el medio ambiente, siendo actualmente reemplazados por productos orgánicos que generen el mínimo impacto sobre las especies, por tanto es importante determinar su toxicidad ya que a pesar de su origen tienen un conjunto de metabolitos secundarios con propiedades farmacológicas, éstas podrían causar un fuerte impacto en el desarrollo de diversas especies, por tanto fue imprescindible determinar la CL50 del extracto en es peces guppy con un valor de 487,9983 mg/L (Figura 3), el mismo cuyo valor es superior a lo establecido por la OCDE 203, quien establece que cuando los valores de CL50 son menores a 100 mg/L son tóxicas para especies acuáticas y

podría dañar el medio donde se desarrollan, siendo el extracto de cadillo inocuo para especies como *Poecilia reticulata*. (OCDE 203, 2019).

9 Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

1. Se logró obtener el extracto etanólico de cadillo con un porcentaje de rendimiento del 7%.
2. Se realizó el screening fitoquímico identificando la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides y compuestos fenólicos como principales metabolitos secundarios.
3. Se encontró una la CL50= 487,9983 mg/L la misma que llegaría ser inocua según la OCDE 203.
4. En conclusión, el extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) es una especie que no presenta toxicidad aguda según el modelo de *Poecilia reticulata*.

Recomendaciones

1. Realizar estudios de toxicidad en otras especies como artemia salina y ratones.
2. Realizar estudios de toxicidad aguda, subcrónica y crónica, el mismo que contempla periodos mayores de exposición al extracto.
3. Preparar extractos *Cenchrus echinatus* (cadillo) de tipo acuoso y metanólico para evaluar su toxicidad.
4. Realizar el estudio fitoquímico de extractos *Cenchrus echinatus* (cadillo) de tipo acuoso y metanólico.

10 Referencias bibliográficas

- Arias-Gómez, J., Villasís-Keever, M. N., & Miranda-Novales, M. G. (2016). El protocolo de investigación III: La población de estudio. *Revista Alergia México*, 63(2), p.202. <https://doi.org/10.29262/ram.v63i2.181>
- Barra A, Coroneo V, Dess S, Cabras P, Angioni A. (2007). Characterization of the volatile constituents in the essential oil *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *J. Agric. Chem*, 55: 7093-7098.
- Cisneros, C., Arroyo, J. (2017). Actividad antioxidante in vitro del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. (cadillo). *Revista Conocimiento para el Desarrollo*, 137-144. Obtenido de: <https://revista.usanpedro.edu.pe/index.php/CPD/about>
- Cisneros, C. (2016). Efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* (cadillo) sobre cáncer de mama inducido con 7,12-dimetilbenzo[a]antraceno en ratas: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/5409/Cisneros_hc-Resumen.pdf?sequence=3&isAllowed=y
- Cisneros, C., Acevedo, J. (2016). Efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. “cadillo” en lesiones hepáticas inducidas por etanol en “ratas”. *Revista Conocimiento para el Desarrollo*, 73-80.
- Cisneros, C., Acevedo, J. L., Araujo, B. M., & Bazalar, P. M. (2013). Efecto protector del extracto etanólico de *Cenchrus echinatus* L. “cadillo” sobre la cirrosis hepática inducida en ratas. *Conocimiento para el desarrollo*, 45-52.
- Cisneros, C., Arroyo, J., Bedoya, M., Lázaro, B., Mendoza, K., Cisneros, E. (2022). Seguridad y efecto protector de *Cenchrus echinatus* en el cáncer de mama inducido en *Rattus rattus*. *Rev Fac Med Hum*.22(3):452-462
- CYTED. (1995). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I.. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 220.
- Duran-Gomez, M., & Rodriguez-Benito, A. J. (2020). Fortalecimiento de Competencias Matemáticas de Predicción, Interpretación y Cálculo de Probabilidades, Mediante Schoology, Scratch y Aplicación del Pensamiento Computacional en Estudiantes de Grado Cuarto.

- Ernst, E. (2005). The efficacy of herbal medicine an overview. *Fundam. Clin. Pharmacol*: 19: 405-409.
- Farnsworth, N., Akerele, O., Bingel, A.S., Soejarto, D.D., Guo, Z. (1985). Medicinal Plants in Therapy. *Bull. of the World Health Organization.*; 63 (6), 965 - 981.
- Farnsworth, N. (1984). Natural Products and Drug Development (Krogsgaard-Larsen, P.; Christensen SG, Kofod H. eds.), Munksgaard, Copenhagen, Dinamarca: 17 - 30.
- Guerrero-López, L., Ramos-López, M. A., Rodríguez-Chávez, J. L., Monroy-Dosta, C., & Campos-Guillén, J. (2021). Toxicidad aguda del extracto metanólico de *Heterotheca inuloides* sobre *Poecilia reticulata*. *RINDERESU*, 5(2).
- Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, P. (2006). *Metodología de la Investigación*. México: Mc Graw Hill.
- Hernández, R., Fernández, C y Baptista, M. (2014). *Metodología de la investigación sexta edición*. México D.F, México: McGRAW –HILL.
- Kinnear, C y Taylor, R. (1998). *Investigación de mercados*. México. Mc. Graaw Hill.
- Lagarto A, Couret M, Guerra I, López R. (2008). Toxicidad aguda oral y ensayos de irritación de extractos acuoso e hidroalcohólico de *Momordica charantia* L. *Rev Cubana Plant Med*, vol.13, n.3. Citado 14 de diciembre del 2010. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S10284796200800030005&lng=es&nrm=iso
- Larrey D. (1994). Liver involvement in the course of phytotherapy. *Presse Med*: 23: 691-693.
- Lebniz, B. (2018). Efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de cadillo *Cenchrus echinatus* L. (cadillo) sobre el granuloma inducido por carregenina en ratas. Disponible en: http://200.48.38.121/bitstream/handle/USANPEDRO/5999/Tesis_57670.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Li E. (2010). El Futuro de las Plantas Medicinales del Altiplano y los Valles Centrales de los Andes. Disponible en http://www.unido.org/fileadmin/import/69934PERU_Informe_final_plantas_medicinales_2vf.pdf

- Lock, O. (2017). Generalidades sobre el análisis fitoquímico. En Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales (3.a ed.). Recuperado de http://167.249.11.60/anc_j28.1/index.php?option=com_content&view=article&id=333:3ra-edicion-del-libro-investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-estudio-de-productos-naturales-de-a-t-dra-olga-lock&catid=61
- López, L. G. (2021). Actividad toxicológica de los extractos acetónico y metanólico de las partes aéreas de *Heterotheca inuloides* sobre *Poecilia reticulata*.
- Lozada, PT, Rivera, YC y Ho, LEB (2019). Evaluación de la toxicidad de sedimentos de lagunas de lixiviados, utilizando el procedimiento de lixiviación para la característica de toxicidad-TCLP y ensayos de toxicidad aguda Dyna , 86 (208), 192.
- Núñez, F., Lozano, N. A. (2017). Evaluación toxicológica aguda de dos formulaciones del insecticida Dimetoato sobre *Poecilia reticulata* " guppy"(Poeciliidae) y *Oreochromis niloticus* " Tilapia del nilo"(Cichlidae).
- OECD (1995). Guidelines for the Testing of Chemicals. Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. N° 47. Citado 15 octubre 2010. Disponible en: <http://www.oecd.org>.
- OECD. (1998). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental. Effects of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, 1998 in November 1998. Organisation for Economic Co-operation and Development. URL. Citado el 13 de diciembre de 2010. Disponible en: <http://www.oecd.org/ehs/class/HCL6.htm>
- OECD. (1999). Organisation for Economic Cooperation and Development. Guidelines for the Testing of Chemical. Citado el 30 setiembre del 2009; disponible en: <http://www.oecd.org>.
- OECD. (2000). Guidelines for testing of chemicals. Acute oral toxicity. Acute Toxic Class Method. Organization for Economic Co-operation and Development. Guide No. 423. Citado el 01 de diciembre del 2010. Disponible en: <http://www.oecd.org>.

- OECD. (2001). Guideline for testing of chemicals. Organization for Economic Co-operation and Development. Guide No. 425. Up and Down Procedure. URL. Citado el 12 de diciembre del 2010. Disponible en: <http://www.oecd.org>.
- OECD. (2019). Directrices de la OCDE para el ensayo de productos químicos, sección 2. Prueba 203: Peces, prueba de toxicidad aguda. Citado el 09 de diciembre del 2022. Disponible en: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-203-fish-acute-toxicity-test_9789264069961-en.
- Organization for Economic Co-operation and Development. (2000). Revised Draft Guideline 420. Acute Oral Toxicity-Fixed Dose Procedure. OECD Guideline for Testing of Chemicals. URL. Citado el 16 de noviembre del 2010. Disponible en: <http://www.oecd.org>.
- Pascual-Villalobos MJ. (1998). Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). Bol. San. Veg. Plagas: 24: 143-154.
- Quiñones., M. Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 77.
- Silva, A., Haraguch, S., Pacheco, T., Albrecht, I., Sarragiotto, M., Vidotti, G., Melo, J., Bersani-Amado, C., Zanoli, K., Vataru, C. (2012): Resveratrol-derived stilbenoids and biological activity evaluation of seed extracts of *Cenchrus echinatus* L., *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 26:9, pág.865. <https://doi.org/10.1080/14786419.2011.561538>
- Soukup S.J. Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana (1970). Lima ; 70-72
- Vega, R., Carrillo, C. (1997). Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto de *Ocimum gratissimum* L. (orégano cimarrón). *Rev Cubana PlantMed.* ; 2(2-3): 14-18.
- Williams, P., Burson, J. (1985). *Industrial Toxicology Safety and Health Applications in the Work Place*. Ed Van Nostrand Rein Hold Company. N York.
- Zambrano, W., Alvarez, C., Taype, L., Molina, G. (2018). Bioensayos agudo y crónico con plomo, en peces (guppy *Poecilia reticulata*) Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Oceanografía, Pesquería, Ciencias Alimentarias y Acuicultura, Laboratorio de Biotoxicología. Lima-Perú.

11 Agradecimiento.

A Dios por darme las fuerzas para poder lograr mis objetivos académicos.

A mis padres y amigos, que me dieron su apoyo.

Gracias infinitas por ponerlos en mi camino.

¡Gracias!

12 Anexos

Anexo 1

Ficha de recolección de datos (instrumento)

Concentraciones	Muertes 24horas			Muertes 48 horas			Muertes 72 horas			m/V	%M	N°
agua de pecera	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/18	0	18
Extracto 0,05 mg/mL	0	0	0	2	1	1	2	2	3	7/18	0,39	18
Extracto 0,5 mg/mL	0	0	1	1	2	2	3	4	4	11/18	0,61	18
Extracto 5 mg/mL	1	0	0	3	2	2	5	4	5	14/18	0,78	18
TOTAL	0	0	1	3	3	3	5	6	7			

Tratamiento	Concentración g/mL	muertes de alevinos de peces guppy			porcentaje de muertes de alevinos	CI50 (g/mL) $y = 9,9975x + 30,628$
		24h	48h	72h		
EXTRACTO	0,00	0	0	0	0,00	487,9983
	0,05	0	4	7	39,00	
	0,50	1	5	11	61,00	
	5,00	1	7	14	78,00	

Anexo 2

Matriz de consistencia

Problema	Variabes	Objetivos	Hipótesis	Metodología
<p><i>¿Cuál será la toxicidad aguda del extracto etanólico de <i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo) en <i>Poecilia reticulata</i> (Pez guppy)?</i></p>	Toxicidad aguda	<p>Objetivo general</p> <p>Determinar la toxicidad aguda del extracto etanólico de <i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo) en <i>Poecilia reticulata</i> (pez guppy).</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>1. Obtener el extracto etanólico de <i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo)</p>	<p>Hipótesis alternativa:</p> <p>Ha= El extracto etanólico de <i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo) no es toxico en <i>Poecilia reticulata</i> (pez guppy).</p> <p>Hipótesis nula:</p> <p>Ho= El extracto etanólico de <i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo) es toxico en <i>Poecilia reticulata</i> (pez guppy).</p>	<p>Tipo de Investigación: Básica</p> <p>Diseño de Investigación: Experimental</p> <p>Población: <i>Poecilia reticulata</i>, plantas completas de cadillo</p> <p>Muestra: 72 alevinos de <i>Peces guppys</i>, 2 gramos de extracto etanólico de cadillo</p> <p>Técnica e Instrumento de recolección de datos: Se utilizó la técnica de la observación y como instrumento una tabla de recolección de datos.</p>
	<i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo)	<p>2. Realizar el estudio fitoquímico del extracto etanólico de <i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo)</p> <p>3. Evaluar la toxicidad aguda del extracto etanólico de <i>Cenchrus echinatus</i> (cadillo) en <i>Poecilia</i></p>		

		<i>reticulata</i> (pez guppy).		
--	--	--------------------------------	--	--

Anexo 3

Base de datos

Anexo 3.1. Estadística descriptiva de valores obtenidos, referidos al número de muertes peces guppy expuestos al extracto etanólico de *Cenhrus echinatus* durante 24 horas.

Parámetro	Agua de pecera	Extracto 0,05 mg/mL	Extracto 0,5 mg/mL	Extracto 5 mg/mL
Media	0	0	0,333333	0,333333
Error típico	0	0	0,333333	0,333333
Mediana	0	0	0	0
Moda	0	0	0	0
Desviación estándar	0	0	0,57735	0,57735
Varianza de la muestra	0	0	0,333333	0,333333
Curtosis	0	0	0	0
Coefficiente de asimetría	0	0	1,732051	1,732051
Rango	0	0	1	1
Mínimo	0	0	0	0
Máximo	0	0	1	1
Suma	0	0	1	1
Cuenta	3	3	3	3
Nivel de confianza(95,0%)	0	0	1,434218	1,434218

Anexo 3.2. Análisis de varianza de los datos obtenidos, referidos al número de muertes peces guppy expuestos al extracto etanólico de *Cenhrus echinatus* durante 24 horas.

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	2	0	0	0
0	2	0	0	0
0	2	1	0,5	0,5
1	2	0	0	0

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0,375	3	0,125	1	0,478949	6,591382
Dentro de los grupos	0,5	4	0,125			
Total	0,875	7				

Anexo 3.3. Estadística descriptiva de valores obtenidos, referidos al número de muertes peces guppy expuestos al extracto etanólico de *Cenhrus echinatus* durante 48 horas.

Parámetro	Agua de pecera	Extracto	Extracto	Extracto
		0,05 mg/mL	0,5 mg/mL	5 mg/mL
Media	0	1	2	2
Error típico	0	0	0	0
Mediana	0	1	2	2
Moda	0	1	2	2
Desviación estándar	0	0	0	0
Varianza de la muestra	0	0	0	0
Curtosis	0	0	0	0
Coefficiente de asimetría	0	0	0	0
Rango	0	0	0	0
Mínimo	0	1	2	2
Máximo	0	1	2	2
Suma	0	2	4	4
Cuenta	2	2	2	2
Nivel de confianza(95,0%)	0	0	0	0

Anexo 3.4. Análisis de varianza de los datos obtenidos, referidos al número de muertes peces guppy expuestos al extracto etanólico de *Cenhrus echinatus* durante 48 horas.

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN						
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
0	2	0	0	0	0	0
2	2	2	2	1	0	0
1	2	4	4	2	0	0
3	2	4	4	2	0	0

ANÁLISIS DE VARIANZA							
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>	
Entre grupos	5,5	3	1,833333	65535	#¡DIV/0!	6,591382	
Dentro de los grupos	0	4	0				
Total	5,5	7					

Anexo 3.5. Estadística descriptiva de valores obtenidos, referidos al número de muertes peces guppy expuestos al extracto etanólico de *Cenhrus echinatus* durante 48 horas.

Parámetro	Agua de pecera	Extracto 0,05 mg/mL	Extracto 0,5 mg/mL	Extracto 5 mg/mL
Media	0	2,5	4	4,5
Error típico	0	0,5	0	0,5
Mediana	0	2,5	4	4,5
Moda	0	#N/A	4	#N/A
Desviación estándar	0	0,707107	0	0,707107
Varianza de la muestra	0	0,5	0	0,5
Curtosis	0	0	0	0
Coefficiente de asimetría	0	0	0	0
Rango	0	1	0	1
Mínimo	0	2	4	4
Máximo	0	3	4	5
Suma	0	5	8	9
Cuenta	2	2	2	2
Nivel de confianza(95,0%)	0	6,353102	0	6,353102

Anexo 3.6. Análisis de varianza de los datos obtenidos, referidos al número de muertes peces guppy expuestos al extracto etanólico de *Cenhrus echinatus* durante 72 horas.

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
0	2	0	0	0
2	2	5	2,5	0,5
3	2	8	4	0
5	2	9	4,5	0,5

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	24,5	3	8,166667	32,66667	0,002846	6,591382
Dentro de los grupos	1	4	0,25			
Total	25,5	7				