

Efecto contráctil del extracto acuoso de *Artemisia absinthium* (ajenjo) frente a oxitocina en útero aislado de ratas

Contractile effect of aqueous extract of *Artemisia absinthium* (ajenjo) against oxytocin in isolated uterus of rats

Rosmary Belinda Osorio-Prudencio^{1,a}, Diana Pamela Palacios-Vivanco^{1,b}, Ruth Adeline Paulet-Mendoza^{1,c}, Patricia Robles-Mamani^{1,d}, Daisy Flores-Cortez^{2,e}, Victor Moquillaza Alcántara^{3,f}

¹ Escuela Profesional de Obstetricia. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

² Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

³ Facultad de Salud Pública y Administración, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.

^a Estudiante de obstetricia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5814-1242>

^b Estudiante de obstetricia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6414-9985>

^c Estudiante de obstetricia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3352-2377>

^d Estudiante de obstetricia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3007-185X>

^e Médico cirujana, doctora en ciencias de la salud. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3207-4293>

^f Licenciado en obstetricia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0362-907X>

An Fac med. 2022;83(2):118-22. / DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v83i2.21444>.

Correspondencia:

Daisy Flores Cortez
dflores@unmsm.edu.pe

Recibido: 21 de octubre 2021

Aprobado: 12 de mayo 2022

Publicación en línea: 22 de junio 2022

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Autofinanciado

Contribuciones de autoría: RBOP, DPPV, RAPM, PRM, DFC, VMA participaron en la concepción, desarrollo de la investigación y redacción del artículo. DFC, VMA realizaron la revisión crítica del artículo. Todos los autores participaron en la evaluación de resultados, su interpretación y la aprobación de la versión final del artículo.

Citar como: Osorio-Prudencio R, Palacios-Vivanco D, Paulet-Mendoza R, Robles-Mamani P, Flores-Cortez D, Moquillaza-Alcántara V. Efecto contráctil del extracto acuoso de *artemisia absinthium* (ajenjo) frente a oxitocina en útero aislado de ratas. An Fac med. 2022;83(2):118-22. DOI: <https://doi.org/10.15381/anales.v83i2.21444>.

Resumen

Introducción. El uso de *Artemisia absinthium* (ajenjo) en el trabajo de parto es ampliamente empleado en países de la región; sin embargo, no hay evidencia científica suficiente de su eficacia y seguridad, lo que representa un alto riesgo materno-fetal. **Objetivo.** El propósito fue evaluar el efecto contráctil de la *Artemisia absinthium* (ajenjo) en comparación a la oxitocina en útero aislado de ratas. **Métodos.** Se separaron 8 ratas Holtzman en i) Grupo experimental: *Artemisia* dosis 5, 10, 20, 30, 40 y 50 mg y ii) Grupo control: oxitocina 10⁶ M. Se montaron los úteros en un baño de órganos aislados y se registraron contracciones por 5 minutos. **Resultados.** La frecuencia de contracciones con ajeno 40 y 50 mg fueron comparables con oxitocina (p>0,05). Asimismo, dosis de 20 y 30 mg de *Artemisia* provocaron contracciones significativamente más duraderas que la oxitocina. La intensidad resultó ser comparable con oxitocina con dosis de 20, 40 y 50 mg de *Artemisia*. **Conclusión.** El extracto acuoso de *Artemisia absinthium* presentó efecto contráctil similar a la oxitocina y dependiente de la dosis en útero aislado de ratas.

Palabras clave: Oxitocina; Absinthium; Contracción Muscular; Animales de Laboratorio (fuente: DeCS BIREME).

Abstract

Introduction. The use of *Artemisia absinthium* (wormwood) in labour is widely used in countries in the region; however, there is not enough scientific evidence of its efficacy and safety, which represents a high maternal-fetal risk. **Objective.** The purpose was to assess the contractile effect of *Artemisia absinthium* (wormwood) compared to oxytocin in utero isolated from rats. **Methods.** Eight Holtzman rats were separated into i) Experimental group: *Artemisia* dose 5, 10, 20, 30, 40, and 50 mg and ii) Control group: oxytocin 10⁶ M. The uteruses were mounted in an isolated organ bath, and contractions were recorded for 5 minutes. **Results.** The frequency of contractions with wormwood 40 and 50 mg were comparable with oxytocin (p>0.05). Likewise, doses of 20 and 30 mg of *Artemisia* caused significantly longer-lasting contractions than oxytocin. The intensity was found to be comparable with oxytocin at doses of 20, 40, and 50 mg of *Artemisia*. **Conclusion.** The aqueous extract of *Artemisia absinthium* has a contractile effect similar to oxytocin and is dose-dependent in utero isolated from rats.

Keywords: Oxytocin; Absinthium; Muscle Contraction; Animals, Laboratory (source: MeSH, NCBI).

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) alrededor del 80% de las personas en los países en desarrollo utilizan la medicina tradicional herbolaria para resolver sus problemas de salud ⁽¹⁾. En países de la región se estima que el consumo de plantas medicinales durante la gestación es alrededor del 38%, y en mayor proporción en el primer trimestre fundamentado, en el conocimiento tradicional sin tomar en cuenta los riesgos materno-fetales ^(2,3).

Entre las diversas especies vegetales medicinales se encuentran el ajenjo (*Artemisia absinthium*), una planta aromática de la familia Compositae (Asteraceae), nativa de Europa y ampliamente distribuido en el Perú ^(4,5). Esta especie contiene muchos compuestos fitoquímicos como lactonas, terpenoides, aceites esenciales, ácidos orgánicos, resinas, taninos, flavonoides y fenoles implicadas en los efectos digestivo, antiinflamatorio, antidepresivo, antioxidante, antiséptico, antibacteriano, antiparasitario y antifúngico ^(6,7). En el campo de la obstetricia, la *Artemisia* es tradicionalmente utilizada como acelerador y facilitador del trabajo de parto ^(8,9), también se ha descrito su uso como “regulador de la menstruación” y abortivo ^(8,10,11); no obstante, en especies como *Artemisia mexicana* se ha reportado su efecto antiespasmódico en dismenorrea ^(9,12).

Las evidencias escasas y contradictorias sobre los efectos de esta especie vegetal; así como los potenciales riesgos fetales de su uso tradicional en el campo de la obstetricia nos motivan a profundizar en el conocimiento de su acción en la duración, frecuencia e intensidad de la contracción uterina.

Es importante aportar preliminarmente mediante investigaciones preclínicas para llegar a una información consensuada sobre el perfil farmacológico de *Artemisia absinthium* en el trabajo de parto, antes de iniciar las investigaciones en sujetos humanos ⁽¹³⁾. En este contexto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto contráctil del extracto acuoso de *Artemisia absinthium* (ajenjo) en comparación con la oxitocina en útero aislado de ratas.

MÉTODOS

Diseño del estudio

Estudio de enfoque cuantitativo de diseño experimental, preclínico, en útero aislado de ratas albinas, donde se comparó el efecto contráctil del extracto acuoso de *Artemisia absinthium* (grupo experimental) frente a oxitocina (grupo control) en músculo liso uterino. La asignación de los cuernos uterinos a cada grupo se realizó de manera aleatoria; además, la aplicación de sustancias y el análisis de los resultados fueron realizados por un investigador ciego a la identificación de los grupos.

Animales de experimentación

Para el estudio se emplearon 8 ratas de cepa Holtzman hembras de 3 meses de edad con un peso corporal aproximado de 250±20 g, adquiridas en el Instituto Nacional de Salud del Perú (INS), quienes fueron alojadas en jaulas de acero quirúrgico en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Todos los animales recibieron una dieta balanceada y agua *ad libitum*. El periodo de adaptación previo al inicio del experimento fue de 7 días.

Obtención y preparación del extracto acuoso

Para la obtención del extracto de *Artemisia absinthium* se utilizaron 240 gramos de hojas de esta especie, las cuales fueron lavadas 3 veces con agua destilada, para eliminar cualquier tipo de contaminante. Luego fueron llevadas a una cámara de secado por 24 horas. Seguidamente se procedió a realizar la infusión en 1 litro de agua destilada hervida, se filtró y finalmente se dejó secar por 48 horas en una estufa a 40°C, hasta obtener el extracto concentrado que fue refrigerado hasta su uso.

Procedimiento experimental

Montaje y protocolo de útero aislado de rata

Las ratas fueron estrogenizadas 48 horas antes del experimento mediante la administración de 17-hemisuccinato de estradiol 150 mg/kg por vía intramus-

cular, con el propósito de sensibilizar las células miometriales ⁽¹⁴⁾. Posteriormente fueron distribuidos en grupo experimental y control de 4 animales por grupo.

Se privó de alimentos, a los animales, durante la noche y luego se sometieron a eutanasia mediante la administración de pentobarbital 60mg/kg y posterior dislocación cervical. Se realizó una laparotomía abdominal y se disecaron dos secciones de 2 cm de la parte central de cada cuerno uterino. Cada sección uterina se montó en un baño de órganos que contenía 20 ml de solución de Tyrode (NaCl 136 mM, KC1 2,68 mM, CaCl₂ 1,80 mM, MgCl₂ 1,05 mM, NaHCO₃ 11,9 mM, NaH₂PO₄ 0,42 mM, glucosa 5,55 mM), se aireó con una mezcla de 5% de CO₂ en 95% de O₂ y a 37 °C de temperatura del baño. El equipo de órganos aislados se acoplo a un quimógrafo con una velocidad de desplazamiento de 7,5mm/min, la cual permitía la representación gráfica de las contracciones uterinas.

Evaluación de la respuesta contráctil uterina

Una vez acoplada la muestra en el equipo de órgano aislado, se dejó estabilizar hasta obtener contracciones espontáneas uterinas sin estimulación farmacológica que confirmó la vitalidad histológica.

Se registraron contracciones uterinas basales y luego se agregó al baño 5 mg de extracto acuoso de *Artemisia absinthium*; observando sus efectos por un periodo de cinco minutos. Posteriormente se realizó el lavado del tejido con 20ml de solución Tyrode para evitar la impregnación de las sustancias anteriormente utilizadas y se dejó estabilizar al órgano por aproximadamente 15 minutos. Este procedimiento se realizó a dosis crecientes de *Artemisia* (5, 10, 20, 30, 40 y 50 mg). De manera similar se repitió el mismo procedimiento con oxitocina sol 10⁻⁶ M.

Se evaluó la contracción en 3 dimensiones: frecuencia, duración e intensidad. La frecuencia de contracciones uterinas se evaluó como el número de contracciones que se registraban en un periodo de 5 minutos. La duración de las contracciones uterinas se determinó como el tiempo promedio en segundos de cada con-

tracción y, finalmente, la intensidad se evaluó mediante la siguiente gradación (1=leve, 2=moderada, 3=intensa).

Análisis de datos

Los registros obtenidos fueron incluidos en una base de Microsoft Excel v16, a fin de poder evaluar la calidad y consistencia de los datos, para luego ser exportado al software STATA versión 14,0. Debido a la naturaleza numérica de las variables y a la distribución normal que presentaron, evaluada mediante la prueba Shapiro-Wilk, se reportaron medias y desviaciones estándar, con intervalos de confianza al 95%. La diferencia entre grupos se evaluó mediante la prueba T student, donde se comparó el promedio de indicadores obtenidos con *Artemisia absinthium* frente a los obtenidos con oxitocina. Se consideró un nivel de confianza del 95%.

Consideraciones éticas

Se respetaron los protocolos establecidos en consideración de las recomendaciones brindadas por la guía de ética para animales de investigación "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" ⁽¹⁵⁾ y según lo dispuesto por la Ley peruana de Protección y Bienestar Animal N° 30407 ⁽¹⁶⁾.

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestra la frecuencia de contracción que se generaron ante la presencia de ajeno en un periodo de cinco minutos; observándose que la media de la frecuencia se incrementó de manera proporcional a la dosis del extracto acuoso; mientras que con oxitocina la frecuencia se incrementó desde la primera dosis. Las contracciones uterinas generadas con ajeno a dosis inferiores a 40 mg fueron significativamente menor que la oxitocina ($p < 0,05$); mientras que con dosis de 40 y 50 mg la frecuencia de contracciones con ajeno fue de 6,83 [5,42–8,24] y 8,50 [6,77–10,23], respectivamente. Ambas dosis con un $p = 0,06$ y $p = 0,50$ comparado con oxitocina, no habiendo diferencias estadísticas entre estos grupos (figura 1A).

En la tabla 2 se muestra la duración

Tabla 1. Frecuencia de contracciones generadas por el extracto de *Artemisia absinthium* en comparación oxitocina en útero aislado de ratas Holtzman.

Dosis	Frecuencia de contracciones en 5 minutos			Oxitocina*	p valor†
	<i>Artemisia absinthium</i>				
	Media	DS	(IC 95%)		
5mg	2,17	1,94	(0,76 – 3,58)	8	<0,01
10mg	2,67	2,16	(1,26 – 4,07)	9	<0,01
20mg	4,16	1,72	(2,76 – 5,58)	11	<0,01
30mg	5,16	1,47	(3,76 – 6,58)	11	<0,01
40mg	6,83	1,17	(5,42 – 8,24)	8	0,06
50mg	8,50	1,29	(6,77 – 10,23)	8	0,50

DS: Desviación estándar; IC95%: Intervalo de confianza al 95%

† Evaluado mediante prueba T de Student para una muestra, comparado con oxitocina

* Estimación puntual obtenida mediante una medición

de las contracciones uterinas, en donde se evidenció que, en dosis de 5, 10, 40 y 50 mg la duración de contracciones generadas con *Artemisia absinthium* y oxitocina no presentaron diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$). Por otro lado, a dosis de 20 y 30 mg de *Artemisia*, la duración de las contracciones fue de 56,33 [35,08 – 77,59] y 53,58 [32,33 – 74,84] segundos; superior a los resultados obtenidos con oxitocina (figura 1B).

Respecto a la intensidad de las contracciones generadas con *Artemisia absinthium* y oxitocina, en la tabla 3 se muestra que a dosis de 20, 40 y 50 mg de *Artemisia* la intensidad no difería significativamente ($p > 0,05$) de los resultados obtenidos con oxitocina. Mientras que a dosis de 5, 10 y 30 mg la diferencia entre la intensidad de la contracción con ajeno fueron menores que oxitocina (figura 1C).

DISCUSIÓN

De acuerdo con nuestros hallazgos, el extracto acuoso de *Artemisia Absinthium* aumenta la actividad contráctil del músculo liso uterino; y a dosis superiores de 40 mg, los efectos en la frecuencia y duración de la contracción son comparables al efecto de la oxitocina.

Similares resultados fueron reportados por Sevillano et al ⁽¹⁷⁾, donde se muestra que la *Artemisia absinthium* puede llegar a generar una mayor frecuencia de contracciones que la acetilcolina, y mantiene esta contracción aún después del efecto relajante de la adrenalina sobre útero de ratas Holtzman.

Al igual que la frecuencia, en nuestros resultados, el extracto de *Artemisia absinthium* en todas las dosis mostró igual o superior tiempo de duración de las contracciones comparado con oxitocina; respaldando que sea catalogada histó-

Tabla 2. Duración de las contracciones generadas por el extracto de *Artemisia absinthium* en comparación a la oxitocina en útero aislado de ratas.

Dosis	Duración de contracciones (segundos)			Oxitocina*	p valor†
	<i>Artemisia absinthium</i>				
	Media	DS	(IC95%)		
5mg	47,50	39,72	(26,25 – 68,75)	37,50	0,56
10mg	45,83	35,97	(24,58 – 67,09)	33	0,42
20mg	56,33	24,63	(35,08 – 77,59)	27	0,03
30mg	53,58	8,80	(32,33 – 74,84)	27	<0,01
40mg	44,68	6,71	(23,42 – 65,94)	37	0,30
50mg	35,63	5,25	(9,59 – 61,66)	36	0,90

DS: Desviación estándar; IC95%: Intervalo de confianza al 95%

† Evaluado mediante prueba T de Student para una muestra, comparado con oxitocina

* Estimación puntual obtenida mediante una medición

Tabla 3. Intensidad de las contracciones generadas por el extracto de *Artemisia absinthium* comparada a la oxitocina en ratas albinas cepa Holtzman

Dosis	Intensidad de contracciones (en cruces)			Oxitocina*	p valor [†]
	<i>Artemisia absinthium</i>				
	Media	DS	(IC95%)		
5mg	1,16	0,41	(0,55 – 1,78)	2	<0,01
10mg	1,50	0,55	(0,88 – 2,12)	3	<0,01
20mg	2,33	0,82	(1,82 – 2,95)	3	0,10
30mg	2,50	1,05	(1,88 – 3,12)	4	0,02
40mg	3,00	0,63	(2,38 – 3,62)	3	1,00
50mg	3,67	0,82	(3,05 – 4,28)	4	0,36

DS: Desviación estándar; IC95%: Intervalo de confianza al 95%

[†] Evaluado mediante prueba T de Student para una muestra, comparado con oxitocina

* Estimación puntual obtenida mediante una medición

ricamente como una planta con propiedades abortivas y que sea comúnmente utilizada en los medios rurales y urbanos por ser más accesible.

Otros autores han demostrado, también, que la *Artemisia* estimula notablemente el bloqueo de la actividad de la acetilcolinesterasa; de manera que esta puede ser la principal causa de estímulo contráctil del músculo liso debido al aumento de la concentración de acetilcolina necesaria para estimular los receptores muscarínicos⁽¹⁸⁾. Sin embargo, dichos receptores no son abundantes en tejido uterino; por tanto, no se podría atribuir completamente este mecanismo.

La *Artemisia* contiene el terpenoide, tuyona y a dosis altas puede provocar vómitos, dolor abdominal, dolor de cabeza y mareos; además de convulsiones epileptiformes y se ha reportado abortos en mujeres gestantes^(19,20). Otro de los componentes es la absintina y el alcaloide, abotina, que provocan hiperexcitabilidad uterina, posiblemente mediante diversos mecanismos como aumento de la contractura, congestión y hemorragia con el posterior desprendimiento del huevo y las membranas⁽¹⁰⁾.

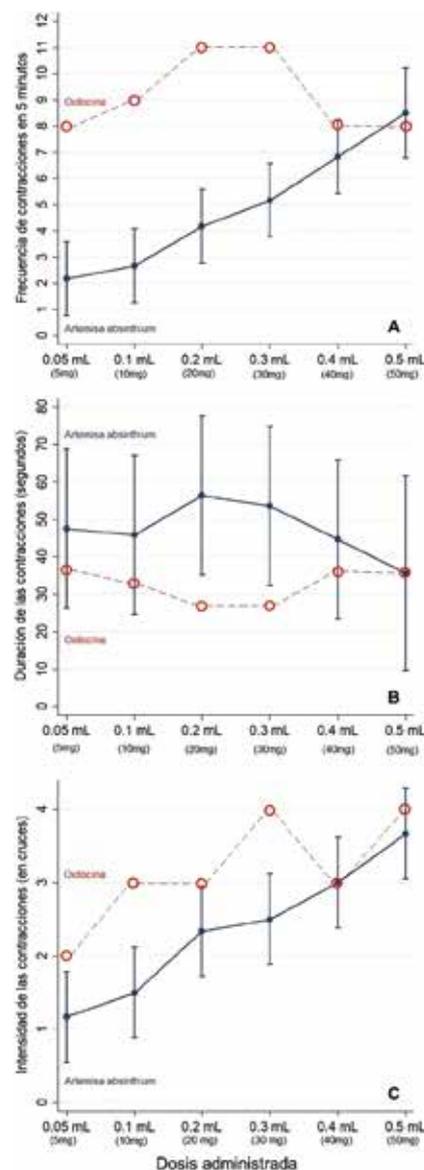
El efecto contracturante uterino y embriotóxico también ha sido reportado por Alvarado⁽²¹⁾ donde se evidencia que en ratas expuestas a dosis mayores de 150 mg de extracto hidroalcohólico de ajeno produce aumento de la contractibilidad uterina y malformaciones y reabsorciones fetales significativas en relación al control. Esto último podría vincularse con la

acción de los metabolitos de *Artemisia* en la disminución del crecimiento de células tumorales humanas posiblemente por la actividad antiproliferativa de los sesquiterpenos⁽²²⁾. Estos componentes citotóxicos, afectarían el desarrollo embrionario, actuando sobre el organismo materno o embriofetal como objetivo primario, cuando la acción es directa; o en el organismo embrio-fetal como objetivo secundario, resultante de la intoxicación materna⁽²³⁾.

De modo contrario Desaulniers y col.⁽²⁴⁾ encontraron que el tratamiento con *Artemisia absinthium* no altera la tasa de concepción, tasa de embarazo, peso corporal grávido, peso uterino grávido, tamaño de la camada, número de implantaciones, número de ovulaciones, supervivencia embrionaria temprana o embrionaria tardía.

La principal limitación del estudio fue el empleo de una muestra pequeña, que no permitió explorar otras dosis. Por otro lado, solo se comparó con oxitocina, por lo que recomendamos la comparación con otras sustancias oxitócicas como derivados de prostaglandina o alcaloides derivados del cornezuelo de centeno, acetilcolina, entre otros. Aunque aún no podemos extrapolar nuestros resultados a la especie humana, este es un estudio preliminar que permite plantear nuevas evidencias preclínicas para futuras investigaciones.

Concluimos, según nuestros hallazgos, que el extracto acuoso de *Artemisia absinthium* presentó efecto contráctil similar a la oxitocina y dependiente de la dosis en útero aislado de ratas.

**Figura 1.** Frecuencia (A), duración (B) e Intensidad (C) de las contracciones generadas por el extracto de *Artemisia absinthium* y la oxitocina en ratas albinas cepa Holtzman con útero aislado.

AGRADECIMIENTO

Al Sr. Reynaldo Esteban Madrid Prado (técnico de laboratorio), por el cuidado y conservación del material biológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rummun N, Neergheen V, Pynee K, Baidar C, Bahurun T. The role of endemic plants in Mauritian folkloric medicine – therapeutic efficacy or placebo effect? *J Ethnopharmacol.* 2018;213:111–7. DOI: 10.1016/j.jep.2017.10.006
- Bussmann R, Sharon D. Plantas medicinales de los andes y la amazonia-La flora mágica y medicinal

- del Norte del Perú [Internet]. Trujillo; 2015. 150 p. DOI: 10.13140/RG.2.1.3485.0962
3. Flores-Cortez D. Plantas medicinales y su empleo en el campo de la obstetricia. *Rev Int Salud Matern Fetal*. 2018;3(2):1–2.
 4. Nguyen HT, Radácsi P, Gosztola B, Rajhárt P, Németh ÉZ. Accumulation and composition of essential oil due to plant development and organs in wormwood (*Artemisia absinthium* L.). *Ind Crops Prod*. 2018;123:232–7. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.06.076
 5. Szopa A, Pajor J, Klin P, Rzepiela A, Elansary HO, Al-Mana FA, et al. *Artemisia absinthium* L.—importance in the history of medicine, the latest advances in phytochemistry and therapeutical, cosmetological and culinary uses. *Plants*. 2020;9(9):1–33. DOI: 10.3390/plants9091063
 6. Koyuncu I. Evaluation of anticancer, antioxidant activity and phenolic compounds of *Artemisia absinthium* L. extract. *Cell Mol Biol*. 2018;64(3):25–34. DOI: 10.14715/cmb/2018.64.3.5
 7. Batiha GE, Olatunde A, El-Mleeh A, Hetta HF, Al-Rejaie S, Alghamdi S, et al. Bioactive Compounds, Pharmacological Actions, and Pharmacokinetics of Wormwood (*Artemisia absinthium*). *Antibiotics*. 2020;9(6):353. DOI: 10.3390/antibiotics9060353
 8. Ministerio de Salud-Chile. Medicamentos herbarios tradicionales [Internet]. 2009. Disponible en: <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2018/02/Libro-MHT-2010.pdf>
 9. Waizel-Bucay J W-HS. Las plantas con principios amargos y su uso medicinal. ¿Un futuro dulce?. *An Orí Mex*. 2019;64(4):202–28.
 10. Artuz MA, Restrepo H. El aborto inducido. Una visión histórica de su manejo. *Colomb Med*. 2002;33(2):65–71.
 11. Duke AJ. 1996. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases [Internet]. Disponible en: <https://phytochem.nal.usda.gov/phytochem/search/list>
 12. Montesdeoca V. Elaboración y control de calidad de comprimidos fitoterapéuticos de ajeno, romero y manzanilla para combatir la menstruación dolorosa [Tesis de Grado] [Internet]. Riobamba: Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2010.
 13. Ernst E. Herbal medicinal products during pregnancy: Are they safe?. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 2002;109(3):227–35. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2002.t01-1-01009.
 14. Ngadjui E, Kouam JY, Fozin GRB, Momo ACT, Deeh PBD, Wankeu-Nya M, et al. Uterotonic Effects of Aqueous and Methanolic Extracts of *Lannea acida* in Wistar Rats: An In Vitro Study. *Reprod Sci*. 2021;21. DOI: 10.1007/s43032-021-00465-x
 15. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. 8thEd. Washington: National Academies Press; 2011. [Internet]. Disponible en: <https://nap.nationalacademies.org/catalog/18952/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals-eighth>
 16. El Peruano [Internet]. Ley N° 30407. Ley de protección y bienestar animal. 2016. Disponible en: <https://busquedas.elperuano.pe/normas-legales/ley-de-proteccion-y-bienestar-animal-ley-n-30407-1331474-1/>
 17. Sevillano OP, Nomberto Rodríguez C, Canchachi Sánchez W, Torres CL, Mostacero CP, Torres Plasencia P. Efecto contracturante del extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* en útero de *Rattus rattus*. *REBIOL*. 2013;33(2):5–10.
 18. Kocaoglu C, Ozel A. Persistent metabolic acidosis and severe diarrhoea due to *Artemisia absinthium* poisoning. *J Pak Med Assoc*. 2014;64(9):1081–3.
 19. Hamiduddin, Aslam M, Sofi G, Wadud A. Use of traditional drugs in pregnant and nursing mothers: a review of associated adverse drug reactions. *J Pharm Sci Innov*. 2016;5(1):12–7. DOI: 10.7897/2277-4572.0514
 20. Costa KC da S, Bezerra SB, Norte CM, Nunes LMN, de Olianda TM. Medicinal plants with teratogenic potential: Current considerations. *Brazilian J Pharm Sci*. 2012;48(3):427–33. DOI: 10.1590/S1984-82502012000300009
 21. Alvarado Reyna, Maria Alejandra. Efecto embriotóxico y contracturante uterino de extracto hidroalcohólico de *Artemisia absinthium* "Ajeno" en *Rattus rattus* raza Holzman var. albinus. [Tesis de Grado] [Internet]. Trujillo: Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo; 2012.
 22. Lee SH, Lee M-Y, Kang H-M, Han DC, Son K-H, Yang DC, et al. Anti-tumor activity of the farnesyl-protein transferase inhibitors arteminolides, isolated from *Artemisa*. *Bioorg Med Chem*. 2003;11(21):4545–9. DOI: 10.1016/j.bmc.2003.08.008
 23. Montanari T, Farret AB. Efeito de *Artemisia* L. (Asteraceae) no ciclo reprodutivo feminino: uma revisão. *Rev Fitos*. 2019;13(2):163–77. DOI: 10.17648/2446-4775.2019.695
 24. Desaulniers AT, Lamberson WR, Safranski TJ. Prenatal heat stress reduces male anogenital distance at birth and adult testis size, which are rescued by concurrent maternal *Artemisia absinthium* consumption. *J Therm Biol*. 2016;57:84–91. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2016.01.011