



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y  
BIOQUÍMICA**

**EFEECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO  
ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Peumus boldus* (boldo)  
COMPARADO CON SILIMARINA EN TOXICIDAD  
HEPÁTICA INDUCIDA CON TETRACLORURO DE  
CARBONO EN *Rattus norvegicus var. Albinus***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR**

**FRANCO ARGOMEDO, JOSE LUIS**

**ORCID: 0000-0002-8697-2235**

**ASESOR**

**LEAL VERA CESAR ALFREDO**

**0000-0003-4125-3381**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2021**

## **EQUIPO DE TRABAJO**

### **AUTOR**

Franco Argomedo, José Luis

ORCID: 0000-0002-8697-2235

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado  
Trujillo, Perú.

### **ASESOR**

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de ciencias de  
la Salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú.

### **JURADO**

Ramírez Romero, Teodoro Walter (Presidente)

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Arteaga Revilla, Nilda María (Miembro)

ORCID: 0000-0002-7897-8185

Matos Inga, Matilde Anais (Miembro)

ORCID: 0000-0002-3999-8491

**JURADO EVALUADOR DE TESIS**

Mgtr. Ramírez Romero, Teodoro Walter

**PRESIDENTE**

Mgtr. Arteaga Revilla, Nilda María

**MIEMBRO**

Mgtr. Matos Inga, Matilde Anais

**MIEMBRO**

## **AGRADECIMIENTO**

### ***A Dios***

*Con su infinita bondad me permite  
seguir adelante para lograr mis metas*

### ***A mis docentes***

*Que con paciencia y sabiduría supieron  
guiarme en el paso por las aulas  
universitarias*

### ***A mis compañeros***

*Gracias por brindarme su amistad  
y comprensión, siempre los recuerdo*

## **DEDICATORIA**

*A mi familia, que con su apoyo incondicional, permitieron mis logros, siempre les  
estaré eternamente agradecido*

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo por objetivo comparar el efecto hepatoprotector de *Peumus boldus* (boldo) versus Silimarina, en la toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono, en ratas. . La investigación es de tipo cuantitativo in vivo, nivel experimental y de corte longitudinal. La población vegetal estuvo constituida por la planta de *Peumus boldus* (boldo) y el material biológico estuvo constituido por 16 especímenes de *Rattus norvegicus var albinus* divididos en cuatro grupos blanco, control, experimental y patrón silimarina de cuatro especímenes cada uno, a los grupos control, experimental y patrón silimarina se les administró 2 ml/kg de peso de tetracloruro de carbono, al grupo experimental se le administró 160 mg/kg de peso de extracto acuoso de *Peumus bolbus* (boldo); al grupo patrón se le administró 100 mg/kg de peso de silimarina. Como resultado se observó la disminución de transaminasas TGO y TGP, evidenciándose el efecto protector hepático tanto con boldo, como con silimarina. Se concluye que existe mayor efecto protector con silimarina que con *Peumus boldus*.

**Palabras clave:** Hepatoprotector, toxicidad hepática, *Peumus boldus*, Silimarina

## ABSTRACT

The present research work aimed to compare the hepatoprotective effect of *Peumus boldus* (boldo) versus Silymarin, on carbon tetrachloride-induced liver toxicity, in rats. The research is quantitative in vivo, experimental level and longitudinal. The plant population consisted of the *Peumus boldus* (boldo) plant and the biological material consisted of 16 specimens of *Rattus norvegicus* var albinus divided into four target groups, control, experimental and silymarin pattern of four specimens each, to the control groups, experimental and silymarin standard were administered 2 ml / kg of weight of carbon tetrachloride, the experimental group was administered 160 mg / kg of weight of aqueous extract of *Peumus boldus* (boldo); Silymarin 100 mg / kg was administered to the standard group. As a result, a decrease in TGO and TGP transaminases was observed, showing the hepatic protective effect with both boldo and silymarin. It is concluded that there is a greater protective effect with silymarin than with *Peumus boldus*.

**Keywords:** Hepatoprotective, liver toxicity, *Peumus boldus*, Silymarin

## INDICE DE CONTENIDO

EQUIPO DE TRABAJO.....	ii
JURADO.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
DEDICATORIA.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INDICE DE TABLAS.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	2
2.1. Antecedentes.....	2
2.2. Bases teóricas.....	6
III. HIPÓTESIS.....	9
IV. METODOLOGÍA.....	10
4.1. Diseño de la investigación.....	10
4.2. Población y muestra.....	10
4.3. Definición y operacionalización de variables.....	11
4.4. Técnicas e instrumentos.....	12
4.5. Plan de análisis.....	15
4.6. Matriz de consistencia.....	16
4.7. Principios éticos.....	17
V. RESULTADOS.....	18
5.1. Resultados.....	20

5.2. Análisis de resultados.....	20
VI.CONCLUSIONES.....	22
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS.....	23
REFERENCIAS BLIBLIOGRÁFICAS.....	24
ANEXOS.....	28

## INDICE DE TABLAS

TABLA 1: Variación a través del tiempo del efecto hepatoprotector luego de la administración del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) a una concentración de 160 mg/Kg de peso, observado en los niveles de transaminasa TGO.....Pag 24

TABLA 2: Variación en el tiempo del efecto protector hepático, después de la administración del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) a una concentración de 160 mg/Kg de peso, evidenciado a través de TGO.....Pag 25

## **I. INTRODUCCION**

La fuente primaria para la elaboración de medicinas la constituyen las plantas, desde tiempos remotos el ser humano ha apelado a la naturaleza para tratar diversas dolencias y mejorar su salud; experimentando constantemente descubrió los efectos beneficiosos, como tóxicos de las plantas, transmitiendo estos conocimientos por generaciones, del mismo modo aumentó su conocimiento con la experiencia <sup>(1)</sup>.

Las plantas medicinales contienen principios activos con potencial terapéutico, más de los dos tercios de la población mundial los usa. En nuestro medio el conocimiento de las propiedades medicinales de las plantas está muy arraigado, en el ande existen más de 4400 especies de plantas medicinales con valor terapéutico conocido por la población autóctona. La importancia del producto natural en la medicina radica en sus efectos curativos y la posibilidad de crear nuevas estructuras químicas a partir de sus principios activos <sup>(2,3)</sup>.

El hígado cumple un papel muy importante en el organismo, es la glándula con más peso, cerca de 1400 g. Formado por células con núcleo llamadas hepatocitos y conforman el 80% de las células hepáticas. El hígado lleva a cabo funciones como el metabolismo de carbohidratos, mantiene la glucemia, también se encarga del metabolismo de lípidos y proteínas, lleva a cabo la biotransformación de fármacos <sup>(4)</sup>.

Dentro de las enfermedades que afectan a este órgano se encuentra las hepatitis causadas por virus, donde los hepatocitos sufren un proceso de necrosis, pero la mayoría de células hepáticas sigue funcionando, en las hepatitis crónicas se da un proceso de fibrosis, afectando el funcionamiento, pudiendo llegar a cirrosis <sup>(5)</sup>.

En el alcoholismo, la función hepática se afecta, ocurriendo un desequilibrio, hay depósito de grasa, inflamación, fibrosis llegando a cirrosis <sup>(5)</sup>.

Se puede simular una injuria hepática con modelos experimentales con tetracloruro de carbono, puesto que en su biotransformación genera radicales libres como el  $\bullet\text{CCl}_3$  que, al reaccionar con oxígeno, produce el radical triclorometilperoxil que degenera los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana celular <sup>(6)</sup>.

El efecto protector hepático de *Peumus boldus* ha sido estudiado, siendo usado por sus propiedades coleréticas y colagogas, se le atribuye efectos antioxidantes debido al alcaloide boldina, en afecciones hepáticas.

- El motivo para la realización del trabajo de investigación de lo antes descrito fue comprobar la propiedad terapéutica del extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) como hepatoprotector, con el fin de aportar alternativas fitoquímicas a los tratamientos convencionales de enfermedades hepáticas. Es por ello, que se planteó el siguiente problema de investigación ¿Tendrá efecto protector el extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) comparado con silimarina en la toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono en *Rattus norvegicus* var Albinus?

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Determinar el efecto hepatoprotector de *Peumus boldus* (boldo) comparado Silimarina en la toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono *Rattus norvegicus var Albinus*

### **Objetivos específicos**

Determinar el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) en la toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono en *Rattus norvegicus var Albinus* mediante las pruebas de transaminasas GTP y GOT.

Comparar el efecto hepatoprotector de *Peumus boldus* (boldo) con Silimarina en la toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono en *Rattus novergicus var Albinus* mediante las pruebas de transaminasa GTP y GOT.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Antecedentes

Veloz, en el 2013, en Ecuador, en su estudio para determinar de la actividad hepatoprotectora de *Peumus boldus* en *Rattus norvegicus* con intoxicación hepática inducida por paracetamol, determinó el efecto hepatoprotector del boldo en hepatotoxicidad inducida por paracetamol. Según los resultados obtenidos se concluyó que el extracto acuoso de *Peumus boldus* tiene efecto hepatoprotector, según las pruebas bioquímicas de transaminasas <sup>(7)</sup>.

Machaca et al, en el 2015, en Perú, en su estudio Efecto protector del extracto acuoso de *peumus boldus* (boldo) frente a la inducción de cirrosis Hepática con paracetamol y fenobarbital en ratas, comparada con silimarina. Teniendo como objetivo determinar el efecto protector del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) a través de la lectura de los niveles de perfil hepático y estudio anatomopatológico de los hígados de los animales de experimentación. Se concluyó que el extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo), tiene efecto hepatoprotector frente a injuria provocada por el fenobarbital y paracetamol según parámetros bioquímicos y anatomopatológicos<sup>(8)</sup>.

Panocca R, Qqenta Y, 2014, Perú en su estudio Efecto protector y regenerativo del extracto puro de apio (*Apium graveolens*) en *Rattus norvegicus* con daño hepático inducido por tetracloruro de carbono. Tuvo como objetivo comparar los niveles de transaminasas (TGO y

TGP) antes y después de haber suministrado el extracto puro de *Apium graveoloens* e inducido daño hepático con tetracloruro de carbono, evaluar el daño histopatológico en los grupos experimentales. Los resultados arrojaron que a la dosis de 2 ml. El apio tiene efecto protector en hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono <sup>(9)</sup>.

Según Arellano M. et al, 2017, Perú, en su estudio Efecto regenerador del consumo del extracto acuoso de *Camellia sinensis* (TÉ VERDE) en ratas con daño hepático inducido por paracetamol, tuvo como objetivo estimar las concentraciones del extracto acuoso de té verde para los diferentes pesos de las unidades experimentales y determinar el efecto del té verde sobre el daño hepático a través del análisis histopatológico del hígado de todos grupos experimentales. La muestra estuvo constituida por 20 ratas divididas en cinco grupos. Se concluyó que el extracto acuoso de té verde ayuda a disminuir los efectos hepatotóxicos del paracetamol <sup>(10)</sup>.

Según Olivera L. 2018, Perú, en su estudio Efecto del extracto hidroalcoholico de las flores de overo *Cordia lutea* en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas holtzman macho tuvo como objetivo determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* en la reducción de las alteraciones de los parámetros bioquímicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho. Según los resultados se evidencia que la dosis de mayor efectividad es la de 500mg llegando a la conclusión que el extracto hidroalcohólico de las flores de overo (*Cordia*

*lutea*) redujo los niveles de transaminasas, enzimas y proteínas alteradas del hígado de las ratas <sup>(11)</sup>.

Llapo M, Boy F. 2018, Perú, En su estudio Efecto de los extractos acuosos de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* sobre hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus norvegicus* var. *albinus*. Tuvo como objetivo evaluar el efecto del infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia Ruiz et Pavon* sobre hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus norvegicus* Var. *albinus* , La muestra estuvo conformada por 4 grupos de 6 especímenes cada grupo. Arroja como resultado que la administración de extractos acuosos de *tessaria integrifolia Ruiz et Pavon* reducen significativamente las concentraciones de las enzimas GOT/GTP y FAL que son marcadores de daño hepático. Conclusiones: El infuso de inflorescencias y el decocto de *Tessaria integrifolia Ruiz et Pavon* presenta efecto hepatoprotector frente a la intoxicación aguda por paracetamol en *Rattus norvegicus* var *albinus*, El infuso de las inflorescencias de *Tessaria integrifolia Ruiz et Pavon* tiene un efecto hepatoprotector mayor que el decocto de tallos de *Tessaria integrifolia Ruiz et Pavón* <sup>(12)</sup>.

Sifuentes F. 2018. Perú. En su estudio para evidenciar el Efecto hepatoprotector de *Curcubita máxima* en *Rattus norvegicus* tratados con isoniácida, Trabajó con tres grupos de 10 ratas cada uno, al primer grupo se le administró isoniácida 50mg/kg/día vía intraperitoneal; al segundo grupo silimarina 100 mg/kg/día e isoniácida 50 mg/kg/día; al tercer grupo silimarina 800mg/kg/día e isoniácida 50mg/kg/día,

evidenciando una disminución significativa de transaminasas en los grupos problema, llegando a la conclusión que existe efecto hepatoprotector de *Curcubita máxima* frente a injuria producida con isoniacida<sup>(13)</sup>.

De la cruz G, Jaico M, Trujillo 2018, Efecto del decocto de *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre hepatotoxicidad en *Rattus norvegicus var. albinus*, teniendo como objetivo determinar el efecto de los extractos acuosos de inflorescencias y tallos de *Tessaria integrifolia Ruiz et pavon* sobre hepatotoxicidad inducida con paracetamol, dando como resultado la disminución significativa de los niveles de transaminasas GPT en los grupos problema evidenciándose el efecto hepatoprotector<sup>(14)</sup>.

Huamán I, Trujillo, 2018, Efecto hepatoprotector de los bulbos de *Allium sativum* (ajo), en *Rattus rattus var. albinus*, sus objetivos fueron evaluar la función hepática a través de las concentraciones de fosfatasa alcalina en *Rattus rattus var albinus*, inducir toxicidad hepática con CCl<sub>4</sub>, evaluar el efecto del extracto de *Allium sativum* sobre la función hepática en *Rattus rattus var albinus* previo a la administración de CCl<sub>4</sub>, obteniendo como resultado que el extracto de *Allium sativum* presentó la actividad hepatoprotectora<sup>(15)</sup>.

## 2.2 Bases teóricas

### Hígado

El hígado tiene innumerables propósitos, desempeña tareas entre las que se encuentran el depósito y metabolismo de distintas moléculas que pasan por él a través de la circulación portal. Es el sitio de almacenamiento de compuestos que el organismo utiliza como el glucógeno que luego se transformará en glucosa, almacena lípidos, proteínas, vitaminas A y B12. El hígado es susceptible a padecer perjuicio por la exposición a noxas como fármacos que se biotransforman para ser menos tóxicos o atóxicos para su posterior excreción; para este fin el hígado cuenta con enzimas que tiene la función de oxidar o reducir como el citocromo P-450, peroxidasa, esterasas, amidasa, hidrolasa, glucoronil transferasa. También secreta bilis que cumple la función digestiva de lípidos para su absorción <sup>(9)</sup>.

El hígado está constantemente expuesto a perjuicio debido a su actividad metabólica, por su exposición a patógenos o por la desintoxicación de xenobióticos, un modelo típico de injuria química en animales de experimentación es la administración de tetracloruro de carbono, que provoca la muerte de hepatocitos originándose nódulos de regeneración en las áreas necrosadas <sup>(10)</sup>.

### Boldo

*Peumus boldus* es un árbol dioico de la familia Monimiáceae cuyas hojas tienen uso medicinal, crece en valles interandinos y laderas de Chile, Perú y Ecuador. La infusión de boldo se usa como digestivo; así como coadyuvante terapéutico para enfermedades crónicas hepáticas <sup>(16)</sup>.

Clasificación taxonómica:

Subdivisión : Angiospermas

Clase :Dicotiledoneas

Subclase: Dialypetalas

Orden: Laurales

Familia: Monomiaceae

Género: Peumus

según Aguilera y Benavides (2005) <sup>(16)</sup>.

### **Principios activos**

El principio activo más representativo es el alcaloide Boldina que constituye el 33% del total de alcaloides, también contiene taninos y resina <sup>(14)</sup>.

Las hojas contienen taninos y flavonoides como catequinas, a las cuales se atribuye su actividad antioxidante.

Aceites esenciales ascaridol, limoneno y eucaliptol,

Alcaloides isoquinolínicos como (-) pronuciferina, (+) reticulina, sinoacutina, isocoridina y boldina la más importante <sup>(17)</sup>.

### **Actividad farmacológica**

Al boldo se le atribuyen propiedades coleréticas (activa la producción de bilis) y colagogas (facilita la expulsión de bilis). La boldina actúa como atrapador de radicales libres principalmente del  $\bullet\text{OH}$ , puede deberse a que posee un grupo funcional bifenilo en su estructura. Impide la formación de xenobióticos y promueve su eliminación a nivel celular, por todo esto se considera antioxidante (18).

### **Silimarina**

Silimarina es un principio activo usado como hepatoprotector, se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y antitumorales, promueve el crecimiento de nuevas células en el hígado. La silimarina es una mezcla de los flavolignanos isómeros: silibina, isosilibina, silidianina, silicristina,, siendo silibina el más activo y con el 50% de la mezcla. Silimarina se opone a la peroxidación lipídica de la membrana celular de los hepatocitos, protegiendo la función hepática de noxas endógenas y exógenas, promueve la síntesis de ARN mensajero y por ende acelera la formación de nuevas proteínas. Es empleada en el tratamiento de esteatosis, cirrosis y toxicidad hepática (19).

### **Enzimas hepáticas**

Los hepatocitos sanos albergan en su citoplasma y núcleo enzimas en cantidades mayores que en el torrente sanguíneo, estas enzimas pueden salir a sangre cuando se daña la pared celular (20).

En condiciones normales las enzimas presentan concentraciones bajas en el suero sanguíneo, debido a que estas se encuentran dentro de las células o en las secreciones como saliva, bilis o jugo pancreático. Cuando una enfermedad está en desarrollo, los tejidos sufren daños en mayor o menor grado y su contenido enzimático es vertido a la sangre. Cuando un órgano tiene una actividad enzimática importante es factible hacer un diagnóstico; es por eso que podemos asociar la Aspartato aminotransferasa o GOT (transaminasa glutámico-oxalacética) con hepatitis o infarto al miocardio y la Alanino aminotransferasa o GPT (transaminasa glutámico-pirúvica) específicamente con hepatitis <sup>(21)</sup>.

### **Transaminasas**

Son enzimas que transfieren grupos amino y se hallan en cerebro, hígado, riñón, corazón y músculo. Son la GTP (Glutámico pirúvico transaminasa) y GOT (Glutámico oxalacético transaminasa). La elevación de transaminasas en sangre es debido al deterioro de la célula o falla en la permeabilidad de membrana. El aumento de valores de éste tipo de transaminasas nos lleva a pensar en daño hepático <sup>(20)</sup>.

### **GTP (Glutámico pirúvico transaminasa)**

Usa a la alanina como soluto, se encuentra en mayor cantidad en hígado y en menor cantidad en músculos, corazón y riñones <sup>(20)</sup>.

### **GOT (Glutámico oxalacético transaminasa)**

Usa al ácido aspártico como sustrato se concentra más en hígado, corazón, músculo, riñones y cerebro. Sube su nivel en cardiopatías y daño en músculo, no es específico en daño hepático <sup>(20)</sup>.

### **Hepatotoxicidad inducida con tetracloruro de carbono**

La toxicidad hepática puede deberse a fármacos o compuestos químicos. El hígado es realmente proclive a padecer de toxicidad, puesto que es el encargado del metabolismo de toda droga y químico que ingresa al organismo. Cuando se toma un medicamento en un espacio de tiempo largo, hay daño celular sin importar la dosificación, ya que algunos medicamentos generan toxicidad a dosis terapéuticas, También puede haber toxicidad hepática por compuestos químicos industriales <sup>(21)</sup>.

Tetracloruro de carbono es un compuesto halogenado, de poca solubilidad en agua, se usa como solvente de grasas, resinas y pinturas, es cancerígeno, usado en investigación por su efecto hepatotóxico <sup>(22)</sup>.

### **Mecanismo de toxicidad del tetracloruro de carbono**

El complejo Citocromo P450 dependiente de NADPH transforma el  $\text{CCl}_4$  en  $\bullet\text{CCl}_3$  éste radical libre actúa en la unión covalente de moléculas, también en la peroxidación de lípidos, que deviene en daño en la bomba de calcio y consecuente cúmulo de calcio. Se activa la calcio/calmodulina que activa proteasas, fosfolipasas y endonucleasas; produciendo daño en la membrana y finalmente necrosis <sup>(23)</sup>.

### III. HIPÓTESIS

- HIPÓTESIS ALTERNATIVA ( $H_1$ ): El extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) tiene efecto hepatoprotector comparado con silimarina en toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono en *Rattus norvégicus* var. Albinus
- HIPÓTESIS NULA ( $H_0$ ): El extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) no tiene efecto hepatoprotector comparado con silimarina en toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono en *Rattus norvégicus* var. Albinus

## **IV. METODOLOGÍA**

### **4.1 Diseño de la investigación**

El presente estudio fue de tipo cuantitativo, nivel de enfoque experimental y el diseño longitudinal.

### **4.2 Población y muestra**

#### **Población vegetal**

Constituido por la planta de *Peumus boldus* adquirido en el mercado unión de la ciudad de Trujillo que fue llevado al Herbarium Truxillensi para su autenticación.

#### **Muestra vegetal**

Constituida por las hojas frescas de *Peumus boldus*.

#### **Criterios de inclusión:**

Hojas frescas de *Peumus boldus* con caracteres organolépticos ideales.

#### **Criterios de exclusión:**

Hojas de *Peumus boldus* que presenten caracteres organolépticos deficiente

#### **Material biológico**

Constituido por 16 especímenes de *Rattus norvegicus* var albinus de 250 gramos en promedio adquiridas en el bioterio de la Universidad Nacional de Trujillo.

### 4.3. Definición y operacionalización de variables

Variables	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicadores
<p><b>Independiente:</b></p> <p>Extracto acuoso de las hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo)</p>	<p>Extracto a base de hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo) usando como solvente agua.</p>	<p>Producto obtenido a través del extracto acuoso de las hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo).</p>	<p>Efecto protector hepático</p> <p>Control negativo: Agua y alimento ad libitum</p> <p>Control positivo: CCl<sub>4</sub> 2 ml/kg de peso</p> <p>Tratamiento: 160 mg/kg de peso de <i>Peumus boldus</i> + CCl<sub>4</sub></p> <p>Patrón: Silimarina 100 mg/kg de peso +CCl<sub>4</sub></p>
<p><b>Dependiente:</b></p> <p>Efecto sobre transaminasas GPT, GOT.</p>	<p>Capacidad de una sustancia para disminuir los niveles elevados de transaminasas GPT y GOT.</p>	<p>Se determinó la disminución de los niveles de transaminasas GPT y GOT.</p>	<p>Nivel de transaminasas expresadas en UI/L</p>

**Variable dependiente:**

Efecto hepatoprotector en el que se puede determinar el efecto protector hepático de un extracto acuoso.

**Variable independiente**

Extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo)

**4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

**Técnica:** Experimental

**Procedimiento:**

**Obtención del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo)**

Las hojas de *Peumus boldus* se lavaron y secaron a temperatura ambiente, hasta peso constante, luego fueron pulverizadas en molino hasta tamaño homogéneo. De este polvo se pesó 80 g en balanza electrónica previamente calibrada, luego se diluyó en 500 ml de agua a 100 °C, luego se dejó enfriar, obteniéndose la concentración de 160 mg por mililitro. A partir de esta concentración se puede administrar la infusión para los ensayos <sup>(8)</sup>.

### **Preparación de la solución de silimarina**

La solución de silimarina se obtiene a partir de cápsulas blandas con el nombre comercial “Higanatur” 300 mg se vertió el contenido de la cápsula en una fiola y se aforó a 25 ml de aceite de oliva obteniendo una concentración de 12 mg/ml

### **Preparación del tetracloruro de carbono**

Se realizó una mezcla de Tetracloruro de carbono (1/1 v/v) a una concentración de 0,2 ml/100 g de CCl<sub>4</sub> (0,1 ml CCl<sub>4</sub> + 0,1 ml de aceite de oliva) <sup>(24)</sup>.

### **Inducción de toxicidad hepática**

Los animales de experimentación serán puestos en ayuno por 12 horas antes de la administración de tetracloruro de carbono a razón de 2 ml/kg de peso una vez al día por siete días, luego los animales tienen libre acceso a agua y alimento <sup>(22)</sup>.

### **Extracción de sangre para análisis bioquímico**

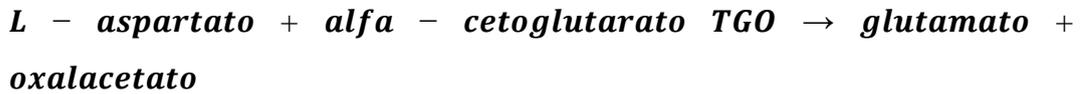
Antes de la administración de tratamientos, se determinaron los niveles basales del perfil hepático, para ello se sometió a las unidades experimentales a previo ayuno de 12 horas, y se extrajo la muestra de sangre de la cola por el método de Archer, en el cual se limpió la cola de la rata con alcohol puro y algodón, luego se calentó la cola con agua a 40°C para provocar vasodilatación de la vena caudal y mediante movimientos tipo peristálticos se extraerá la sangre almacenándola en capilares (en el día 1, día 5 y día 10) para determinar el perfil hepático <sup>(24)</sup>.

### **Determinación de las enzimas hepáticas en sangre**

**Método colorimétrico:** se determinó mediante un kit de reactivos del laboratorio Wiener; método para la determinación cuantitativa enzimática calorimétrica de aspartato amino transferasa en suero o plasma. Según Reitman y Frankel para la

determinación de la transaminasa Aspartato Aminotrasferasas (AST) y Alanina Aminotransferasa (ALT) en suero <sup>(25)</sup>.

La AST cataliza la siguiente reacción:



La ALT cataliza la siguiente reacción:



El piruvato o el oxalacetato formado, reacciona con la 2,4 – dinitrofenilhidrazina produciendo en medio alcalino, un compuesto coloreado que se mide a 505 nm <sup>(25)</sup>.

### **Determinación de transaminasas**

#### **Equipos**

- Espectrofotómetro “THERMO” RA – 50
- Centrífuga “HETTCH-EBA 20” Serie D- 78532
- Equipo de baño María “MEMMERT” Serie AL 35260
- Refrigerador “SAMSUNG” RT 43EASW!/SAM Serie 42014GRX150058Y

#### **Reactivos**

- Kit de transaminasas Wiener Lab.

#### **Procedimiento**

En dos tubos rotulados B (Blanco) y D (Desconocido) Colocar:

	B	D
Reactivo A (GOT O GTP)	0,5 ml	0,5 ml

Colocar en baño María a 37°C ± 0,5°C durante 5 minutos

Suero	-	100 µl
-------	---	--------

Mezclar por agitación suave e incubar exactamente 30 minutos y agregar:

Reactivo B	0,5 ml	0,5 ml
------------	--------	--------

Mezclar y dejar 10 minutos a 37°C luego agregar:

Reactivo C diluido	5 ml	5 ml
--------------------	------	------

Mezclar por inversión y retirar del baño después de 2 minutos. Leer la absorbancia en fotocolorímetro con filtro verde (500-550nm) en espectrofotómetro a 505 nm, llevando el aparato a cero D.O. con agua destilada <sup>(25)</sup>.

Valores normales, en ratas (según Altman y Raymund)

GOT= Valor Promedio 55.4 → Valor referencial 5-80 UI/L

GPT= Valor Promedio 25.2 → Valor referencial 5-80 UI/L <sup>26)</sup>.

## Diseño experimental

- **Grupo Blanco:** Constituido por cuatro animales con dieta estándar y agua ad Libitum.
- **Grupo control:** Constituido por cuatro animales a los que se les indujo la toxicidad hepática con tetracloruro de carbono 2 ml/Kg de peso una vez al día los días 3 al 9; luego agua y alimento ad libitum.
- **Grupo experimental:** Constituido por cuatro animales a los que se les indujo la toxicidad hepática con tetracloruro de carbono 2 ml/Kg de peso los días 3 al 9; 1 hora después se le administró vía oral una dosis de 160mg/Kg de peso del infuso de *Peumus boldus*.
- **Grupo patrón:** Constituido por cuatro especímenes, a los cuales se les indujo toxicidad hepática con tetracloruro de carbono los días 3 al 9; 1 hora después se administró Silimarina en dosis de 100 mg/Kg de peso al día.

## **4.5 Plan de análisis**

### **Análisis de datos**

Para el análisis de datos se utilizó el programa Microsoft Excel. Los resultados se obtendrán, de los grupos de estudios que se presentarán en las tablas. Las pruebas estadísticas serán ANOVA para ver la significancia entre las muestras, analizados en la base estadística del SPSS VERSION 20.0.

#### 4.5 matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	Variables	Indicadores de escala de medición	Plan de análisis
Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de <i>Peumus boldus</i> (boldo) comparado con silimarina en toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono en <i>Rattus norvegicus</i> var albinus	¿Cuál será el efecto del extracto acuoso de <i>Peumus boldus</i> comparado con silimarina en la toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono	<p><b>Objetivo general</b> Determinar el efecto hepatoprotector de <i>Peumus boldus</i> comparado con silimarina en la toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono</p> <p><b>Objetivos específicos</b> Determinar el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de <i>Peumus boldus</i> mediante las pruebas de transaminasas GTP y GOT. Comparar el efecto hepatoprotector de silimarina mediante las pruebas de transaminasas GTP y GOT</p>	<p><b>Hipótesis alternativa</b> El extracto acuoso de <i>Peumus boldus</i> (boldo) tiene efecto protector comparado con silimarina en toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono en <i>Rattus norvegicus</i> var albinus.</p> <p><b>Hipotesis nula</b> El extracto acuoso de <i>Peumus boldus</i> (boldo) no tiene efecto hepatoprotector comparado con silimarina en toxicidad hepática inducida con tetracloruro de carbono en <i>Rattus norvegicus</i> var Albinus</p>	<b>Tipo</b> cuantitativo, in vivo, , nivel experimental y de corte longitudinal	<p><b>Variable independiente</b></p> <p><b>Variable dependiente</b></p>	Extracto acuoso de las hojas de <i>Peumus boldus</i> (boldo) Efecto hepatoprotector	ANOVA

#### **4.7 Principios éticos**

En la presente investigación, se contemplaron las normas de bioseguridad en laboratorio, teniendo en cuenta los protocolos de seguridad de laboratorios y talleres <sup>(27)</sup>.

“El cuidado de los animales utilizados en esta investigación se rigió por los principios éticos y normativos establecidos por el código de ética para la investigación de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, versión 004, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos <sup>(27)</sup>.

**Protección a los animales**, los especímenes se alojaron en jaulas suficientemente grandes y en un entorno adaptado asegurando su salud y comodidad, de tal manera que sus patrones metabólicos y de comportamiento se mantuvieron normales y estables, logrando resultados confiables. Los métodos de sacrificio evitaron el dolor, el sufrimiento y la angustia de los animales <sup>(28)</sup>.

**Beneficencia y no maleficencia**, la conducta del investigador en el proceso de la investigación respondió a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios” <sup>(28)</sup>.

## V. RESULTADOS

### 5.1 Resultados

**Tabla 1: Variación a través del tiempo del efecto hepatoprotector luego de la administración del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) a una concentración de 160 mg/Kg de peso, observado en los niveles de transaminasa TGO**

GRUPOS	BASAL	DÍA 5	DÍA 10
BLANCO	52±7,5	51± 6,4	54±5,2
CONTROL (+) INJURIA	49±6,9	88±2,6	118±8,1
TRATAMIENTO (BOLDO)	54±7,8	89±8,4	73±9,2
PATRÓN (SILIMARINA)	49±7,0	82±2,1	64±5,2

Fuente: Datos propios de la investigación

TGO se declara en UI (unidades internacionales) ± desv. Estándar

Muy significativo con relación al grupo Control injuria (p<0,01)

**Tabla 2: Variación en el tiempo del efecto protector hepático, después de la administración del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) a una concentración de 160 mg/Kg de peso, evidenciado a través de TGP**

GRUPOS	BASAL	DÍA 5	DÍA 10
BLANCO	21±3,9	22±7,0	23±6,5
CONTROL	24±5,2	33±5,8	47±6,6
TRATAMIENTO	22±5,5	38±6,3	34±7,2
PATRÓN SILIMARINA	21±6,2	30±5,5	25±7,2

**Fuente: Datos propios de la investigación**

TGP se declara en UI (unidades internacionales) ± desv. Estándar

## 5.2 Análisis de resultados

En la tabla 1 En el grupo control los valores la enzima TGO se elevan de manera significativa, confrontado con los otros grupos, debido a la hepatotoxicidad del tetracloruro de carbono en los hepatocitos, lesionando la membrana celular y por consiguiente la liberación de enzimas hepáticas a la sangre elevando los niveles de esta enzima

En el grupo tratamiento con boldo hay un descenso en el valor de enzima transaminasa TGO. *Peumus boldus* (boldo) promueve sistemas enzimáticos como catalasa y superóxido dismutasa que se encargan de eliminar radicales libres. La boldina alcaloide del boldo, inhibe la peroxidación lipídica de la membrana celular de los hepatocitos promovida por radicales libres que derivan del tetracloruro de carbono por medio de vías enzimáticas y no enzimáticas.

En el grupo patrón con Silimarina, el descenso del valor de transaminasa TGO es mayor que en el grupo tratamiento con boldo. El mecanismo de acción de la Silimarina es que transforma la membrana celular externa del hepatocito evitando la entrada de toxinas; también estimula la síntesis ribosomal de proteínas elevando la capacidad de regeneración hepática por medio de la polimerasa A nucleolar. También posee efecto antioxidante atrapando radicales libres y evitando su formación.

Según Panocca U. en su estudio Efecto protector y regenerativo del extracto puro de apio (*apium graveolens*) en ratas con daño hepático inducido con tetracloruro de carbono, se evidenció el efecto protector del apio especie vegetal <sup>(11)</sup>.

En la tabla 2 se evidencia un descenso en el valor de transaminasa TGP en el grupo tratamiento, sin embargo, en el grupo patrón silimarina hay un descenso mayor en comparación con el grupo tratamiento con boldo.

Glutámico pirúvico transaminasa es más específica que oxalacetato transaminasa porque se encuentra en el citosol de los hepatocitos, en cambio glutámico pirúvico transaminasa se encuentra en otros órganos como corazón riñones y tejido muscular esquelético.

Se evidencia el efecto protector hepático, en razón de la comparación del grupo control injuria y los valores del grupo tratamiento con *Peumus boldus* (boldo)

Yovera E. en su estudio Efecto protector del extracto acuoso de las hojas de boldo en la toxicidad hepática inducida por isoniazida en ratas se concluyó que el extracto acuoso posee efecto protector frente a toxicidad hepática inducida por isoniazida, evidenciada por parámetros bioquímicos e histopatológicos <sup>(6)</sup>.

## V. CONCLUSIONES

- El extracto acuoso de las hojas de *Peumus boldus* (boldo) en una concentración de 160 mg/kg de peso, tiene efecto protector hepático frente a toxicidad inducida con tetracloruro de carbono, evidenciado por la disminución en los valores de transaminasas TGO y TGP.
- El efecto protector de *Peumus boldus* (boldo) es inferior en comparación al efecto protector de Silimarina.

## **ASPECTOS COMPLEMENTARIOS**

El presente trabajo de investigación puede servir como referencia para posteriores investigaciones de la planta *Peumus boldus* (boldo) y de otras especies vegetales que puedan ayudar al tratamiento de enfermedades hepáticas como hígado graso que es muy común en la actualidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodriguez O, Torrenegra R, Beltran A, Matulevich J, Castrillón W. Metabolitos de baja polaridad en hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn. Revista de Tecnología [Internet]. 2014 [Citado 08 Oct 2019]; 13(3): 95-108. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6041508>.
2. Huamantupa I, Cuba M, Urrunaga R, Paz E, Ananya N, Callalli M. et al. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del cusco. Rev. Perú biol. [Internet].2011 [citado 08 Oct 2019]; 18(3):283-292. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v18n3/a04v18n3.pdf>.
1. Vilchez G. Estudio etnobotánico de especies medicinales en tres comunidades ashánincas y su tendencia al deterioro. Chanchamayo Junín. [Tesis]. Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017. [Citado 08 de Octubre 2020]. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6635/-Vilchez\\_gg.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6635/-Vilchez_gg.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
2. Favani et al. Efecto hepatoprotector y antioxidante de Taraxacum officinale en el daño hepático agudo inducido por el Tetracloruro de carbono en rata. Revmex de ccfarm. [Internet]. 2013. [Citado el 10 de Mayo 2019]. 44(4). Disponible en: [http://scielo.org.mx/scielo.php?pid=S187001952013000400007&csript=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.org.mx/scielo.php?pid=S187001952013000400007&csript=sci_arttext&tlng=pt)
3. Gonzales Y, Casado A, García M, Gomez E. Afectación hepática en las enfermedades sistémicas . Rev Rapid. [Internet]. 2018. [Citado 18 de Agosto 2020]. 41(4): 193-203. Disponible en: <http://unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6546048>
4. Favani et al. Efecto hepatoprotector y antioxidante de Taraxacum officinale en el daño hepático agudo inducido por el Tetracloruro de carbono en rata. Revmex de ccfarm. [Internet]. 2013. [Citado el 10 de Mayo 2019]. 44(4). Disponible en:

[http://scielo.org.mx/scielo.php?pid=S187001952013000400007&csript=sci\\_arttext  
&tlng=pt](http://scielo.org.mx/scielo.php?pid=S187001952013000400007&csript=sci_arttext&tlng=pt)

5. Veloz D, Determinación de la actividad hepatoprotectora de boldo (*Peumus boldus*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con intoxicación hepática inducida por paracetamol. [Tesis para optar el título de bioquímica farmacéutica]. Riobamaba, Escuela superior politécnica de chimborazo, 2013.
6. Machaca R, Jimenez J, Efecto protector del extracto acuoso de *Peumus boldus* (boldo) frente a la inducción de cirrosis hepática con paracetamol y fenobarbital en ratas comparado con silimarina. {Tesis para optar el título de Licenciada en nutrición humana}, Arequipa, Universidad Nacional San Agustín de Arequipa, 2015.
7. Panocca R, Qquenta Y, Efecto protector y regenerativo del extracto puro del apio (*apium graveolens*) en ratas (*rattus norvegicus*) con daño hepático inducido por tetracloruro de carbono, {Tesis para optar el título profesional de Licenciada en nutrición humana}, Arequipa, , Universidad Nacional San Agustín de Arequipa, 2015.
8. Arellano M, Zanca D, Efecto regenerador del consumo del extracto acuoso de *Camellia sinensis* (Té verde) en ratas con daño hepático inducido por paracetamol. [Tesis para optar el título profesional de nutrición humana]. Arequipa, Universidad Nacional San Agustín de Arequipa, 2017.
9. Olivera L, Efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo cordialutea en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas holtzman macho, [Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico], Universidad Inca Garcilazo de la Vega, Lima, 2018.

10. Llazo M, Boy F, Efecto de los extractos acuosos de inflorescencias y tallos de *Tessaria integrifolia* Ruiz et. Pavon sobre hepatotoxicidad inducida por paracetamol en *Rattus norvegicus* var. *albinus*, [Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico], Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, 2018.
11. Sifuentes F. Efecto hepatoprotector de *Curcubita máxima* en *Rattus norvegicus* tratadas con isoniacida. [Tesis para optar el grado de bachiller]. Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. 2018.
12. De la Cruz G, Jaico M, Efecto del decocto de *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre hepatotoxicidad en *Rattus norvegicus* var. *albinus*. [Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico]. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. 2018.
13. Huaman I. Efecto hepatoprotector del extracto de los bulbos de *Allium sativum* (AJO) en *Rattus rattus* var. *albinus*. [Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico]. Universidad católica los Angeles de Chimbote. 2018.
14. Benedetti S, Barros S. Boldo rescate de un patrimonio Chileno manejo sostenible y valorización de sus productos. [Internet]. 2011. [Citado 10 de Mayo 2019]. Disponible en: <https://bibliotecadigital.infor.cl/handle/20.500.12220/19120>
15. Torres J. Desarrollo de técnicas preparativas de separación cromatográfica para confirmar la actividad biológica de *Peumus boldus* mediante la sustracción química de sus compuestos bioactivos. [Tesis para optar el grado académico de Doctor]. Concepción. Universidad de Concepción. 2020. Disponible en: <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/492>
16. Villar M, Gomez. Boldo indicaciones terapéuticas. *Farm. Esp. Salud*. [Internet]. 2016. [Citado 10 de Mayo 2020]. 20(4): 74-77. Disponible en: [http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf\\_13087207](http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf_13087207).

17. Pino M. Efecto hepatoprotector de los extractos de las hojas de *Minoulus glabrattus* H.B.K. (berro) en animales de experimentación inducida por paracetamol. [Tesis para optar el título profesional de Químico farmacéutico]. Arequipa. Universidad Católica de Santa María. 2018.
18. Plou F. Enzimas. 1<sup>a</sup> Ed. Madrid. Editorial CSIC. 2016. Disponible en: [https://elibro.net/es/lc/uladech/titulos/41845?as\\_all=enzimas&as\\_all\\_op=unaccent\\_&\\_icontains&prev=as](https://elibro.net/es/lc/uladech/titulos/41845?as_all=enzimas&as_all_op=unaccent_&_icontains&prev=as)
19. Mejía M, Rachumí E. Efecto hepatoprotector del extracto de zanahoria (*Daucus carota* L.) sobre la intoxicación hepática inducida con paracetamol en *Rattus norvegicus* comparado con la Silimarina. Universidad Nacional San Agustín de Arequipa. 2018.
20. Asqui M. Actividad hepatoprotectora del extracto acuoso de diente de león (*Taraxacum officinale*) en hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono. [Tesis para optar el título de bioquímica farmacéutica]. Escuela superior politécnica de Chimborazo. Riobanba. 2012.
21. Castro D. Reconocimiento a la trayectoria Dr. José Alberto Castro. Act biq clin. [Internet]. 2015 Mar. [Citado 15 de Agosto 2020]. 49(1): 4-18. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/535/53541285003.pdf>
22. Delgado D. Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Gentianella bicolor* “Corpus Huay” en el daño hepático inducido por tetracloruro de carbono. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Chimbote. Universidad Católica Loas Ángeles de Chimbote. 2020.
23. Guevara A, Mantilla E, Marín C. Ybañez R. Efecto del infuso de *Petroselinum sativum* sobre la insuficiencia hepática inducida en *Rattus norvegicus* var, *albinus*.

- Rev.Pharmaciencia [Internet]. 2014 Jun. [Citado 12 de Mayo 2019]. 2(1): 39-46.  
Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/690>
26. Alfaro G, Amaya A. Transaminasas en trabajadores de calzado del sector Rio seco, distrito El Porvenir-abril 2016. [Tesis para optar el grado de bachiller]. Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. 2018.
27. Cabanillas Y, Chavez L. Efecto del Niphidium albopunctatissium lellinger sobre los niveles séricos de albumina y de malondialdehido en hepatocitos de Rattus novergicus var, albinus con hepatotoxicidad inducida. [Tesis para optar el título de químico farmacéutico]. Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. 2018.
28. Protocolo de seguridad de laboratorios y talleres de la Universidad católica los Ángeles de Chimbote versión 007. Chimbote-Perú. [Citado 17 de Octubre del 2020].  
Disponible:[http://uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/protocolos\\_seguridad\\_laboratorios\\_talleres\\_v007pdf](http://uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/protocolos_seguridad_laboratorios_talleres_v007pdf).
29. Universidad los ángeles de Chimbote. Código de ética para la investigación versión 004. [Internet]. 2021. [Citado el 07 de diciembre de 2021]. Disponible en: <http://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2020/codigo-de-etica-para-la-investigación-v4.00.pdf>.

## ANEXO 1 CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Super Orden: Magnolianae
- Orden: Laurales
- Familia: Monimiaceae
- Género: **Peumus**
- Especie: **P. boldus** Molina
- Nombre común: "boldo"

Muestra alcanzada a este despacho por JOSÉ LUIS FRANCO ARGOMEDO, identificado con DNI: 18032615, con domicilio legal en Jirón Unión N°997 - Trujillo, Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del taller de investigación III: "Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de **Peumus boldus** "boldo" frente a esteatosis hepática inducida con paracetamol en **Rattus norvegicus** var. **albinus**."

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 25 de octubre del 2019



Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN  
Director del Herbario HUT

## ANEXO 2

**Fig 1:** Especímenes de *Rattus norvegicus* var *Albinus*



**Fig 2;** Administración de tratamiento de *Peumus boldus*



**Fig 3:** Lectura de Transaminasas en espectrofotómetro

