



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
DE CHIMBOTE

FILIAL TRUJILLO

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

EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO
DE LA RAÍZ DE *Valeriana officinales L.*
(VALERIANA) SOBRE EL ESTRÉS AGUDO
INDUCIDO EN *Rattus norvegicus*

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR:

Bach. FELIX PEREZ TOLENTINO

ASESOR:

Mgtr. CÉSAR ALFREDO LEAL VERA

TRUJILLO – PERÚ
2018

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Q.F. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Q.F. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Q.F. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. Q.F. César Alfredo Leal Vera

Docente Tutor Investigador

AGRADECIMIENTO

A Dios por todas las bendiciones que me ha dado a lo largo de mi vida y permitirme llegar a este momento.

A mis padres, por tener la visión de darme lo mejor versión el estudio y brindarme apoyo durante todo el tiempo.

Gracias a todos los Docentes de esta escuela de farmacia y bioquímica (ULADECH) por brindar sus conocimientos hacia mí.

DEDICATORIA

*Dedico este proyecto a
Dios por darme salud,
bendiciones y permitir
ser parte en este nuevo
logro y llegar a este
momento.*

*A mis padres **José Ireño** y
Leonarda mis hermanos,
sobrinos, toda mi familia, por su
apoyo y amor incondicional. Mi
Padre por ser un ejemplo a
seguir, quien me ha enseñado a
ser un hombre trabajador, leal y
disciplinado. Mi Madre quien es
mi motor de vida de hoy y
siempre.*

*A mis hermanos en especial
Jolpert y **Yulver** con quienes he
compartido gran parte de vida,
nunca me negaron su apoyo
estuvieron siempre conmigo en
oscuros momentos.*

RESUMEN

El presente estudio es de tipo analítico – experimental de nivel cuantitativo in (vivo) tiene como objetivo principal determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de la *Raíz de valeriana officinalis L.* (valeriana) sobre el estrés agudo inducido en *Rattus norvegicus*. Para ello se utilizó ratas de experimentación que fueron conformadas aleatoriamente en 3 grupos. Grupo control se administró 5ml/Kg suero salino fisiológico, grupo experimental 1 se administró 375mg/Kg y el grupo experimental 2 se administró 750mg/Kg de extracto hidroalcohólico de la *Raíz de valeriana officinalis L.* durante 30 días, luego se sometió inducción de estrés agudo mediante un modelo de inmovilización por 4 días consecutivos por dos horas. Finalmente se utilizó el método colorimétrico de sustancias reactivas al ácido Tiobarbitúrico (TBARS). El extracto hidroalcohólico de la *Raíz de valeriana officinalis L.* mejoro su efecto sobre el estrés agudo reduciendo sus niveles de MDA en el grupo que recibió tratamiento con 750mg/Kg peso siendo $(2.753 \pm 0.062 \text{ nM/ml de MDA})$. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de la *Raíz de valeriana officinalis L.* tiene mayores beneficios frente al estrés agudo reduciendo su concentración de MDA producto de los radicales libres.

Palabras claves: valeriana officinales, estrés agudo, radical libre, Mitocondria.

ABSTRACT

The present study is of analytical - experimental type of quantitative level in (vivo) has like main objective to determine the effect of the hydroalcoholic extract of the Root of valeriana officinalis L. (valerian) on the acute stress induced in Rattus norvegicus. For this, experimental rats were used that were randomly formed into 3 groups. Control group was administered 5ml / Kg physiological saline, experimental group 1 was administered 375mg / Kg and experimental group 2 was administered 750mg / Kg of hydroalcoholic extract of Root of valeriana officinalis L. for 30 days, then underwent stress induction acute through a model of immobilization for 4 consecutive days for two hours. Finally, the colorimetric method of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) was used. The hydroalcoholic extract of Root of valeriana officinalis L. improved its effect on acute stress by reducing its MDA levels in the group that received treatment with 750mg / Kg weight being ($2,753 \pm 0.062$ nM / ml of MDA). It is concluded that the hydroalcoholic extract of Root of Valeriana officinalis L. has greater benefits against acute stress by reducing its concentration of MDA product of free radicals.

Keywords: valerian officinalis, acute stress, radical free, Mitochondria.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO.....	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT.....	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	6
2.1. Antecedentes	6
2.2. Bases Teóricas.....	8
III. HIPÓTESIS	13
IV. METODOLOGÍA.....	14
4.1. Tipo y diseño de Investigación	14
4.2. Población y Muestra	15
4.3. Definición y Operacionalización de Variables	16
4.4. Técnicas e Instrumentos.....	16
4.5. Plan de Análisis	19
4.6. Consideraciones Éticas	21
V. RESULTADOS	22
5.1. Resultados.....	22
5.2. Análisis de resultados	23
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	25
6.1. Conclusiones.....	25
6.2. Aspectos complementarios	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
ANEXOS	38

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1	22
Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Valeriana officinales L.</i> (valeriana) (375mg/Kg peso y 750mg/Kg peso) sobre el estrés agudo inducido en <i>Rattus norvegicus</i> expresado en concentraciones de malondialdehído	
TABLA 2	43
Producción de Malondialdehído suero de <i>Rattus norvegicus</i> expuestas solución salina fisiológica (SSF) 10ml/Kg, 20ml/kg lecturas y absorbancias	
TABLA 3	43
Comparación del efecto entre diferentes grupos control, experimental 1, experimental 2 según los parámetros de aprendizaje en <i>Rattus norvegicus</i> analizados mediante la prueba de Tukey.	
TABLA 4	44
ANOVA de las mediciones de MDA para evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de Raíz de <i>Valeriana officinales L.</i> (Valeriana) a dosis de 375 y 750 mg/Kg, 5 ml/Kg SSF.	
.	
TABLA 5	44
Duncan de las mediciones de MDA para evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de Raíz de <i>Valeriana officinales L.</i> (Valeriana) a dosis de 375 y 750 mg/Kg, 5 ml/Kg SSF	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	14
-----------------------	----

Diseño clásico del estímulo creciente.

Figura 2	22
-----------------------	----

Producción de malondialdehído (MDA) en suero de *Rattus norvegicus* expuestas a extracto hidroalcohólico de valeriana a una dosis de 375mg/Kg peso y 750mg/Kg peso, comparados con el grupo control (SSF)

Figura 3	45
-----------------------	----

Curva de calibración estándar de malondialdehído se muestra la curva de calibración estándar para malondialdehído químicamente puro cuando reaccionan con el (TBAS)

Figura 4	45
-----------------------	----

Volúmenes utilizados para la curva de calibración estándar

I. INTRODUCCIÓN

En todo el mundo la diversidad vegetal se encuentra en una catástrofe ambiental que podría equivaler a las era geológicas en las que causaron la extinción de numerosas y grandiosas especies de plantas, sin embargo los suelos han sido para utilizados con fines agrícolas como consecuencia ciertos lugares ricos en zonas vegetales han desaparecido en muchas comunidades^(1,2).

Nuestro Perú tiene gran diversidad que es en plantas que son un 85 % de zonas de vida en todo el mundo, como la mayoría de resultados logran viceversa variedad de especies en flora y fauna dentro de ello está la famosa planta Valeriana officinales L. (Valeriana) que en muchos países lo llaman con un distinto nombre ya sea por su altura, color u olor^(1,2). Esta tradicional planta únicamente es utilizable como medicina en diferentes pacientes la mayoría con insomnio por sus actividades y propiedades hipnóticas^(2,3).

Al ser aplicada esta planta Valeriana officinales L. (Valeriana) sus órganos subterráneos (rizomas, raíces, hojas y estolones), constituyentes de la droga para el tratamiento de estados neurotóxicos, específicamente en casos de ansiedad y problemas para conciliar el sueño^(3,4). Su prolongada estatura promedia entre 52 cm hasta 1,2 metros con unas espumosas raíces gruesas con hojas simples o lobadas (4). Sus frondosas flores son pequeñas, acido, se asemejan al agruparse en inflorescencias apretadas y en pocas veces suelen ser muy fragantes e aromáticas^(5,6).

Todas sus variedades la más comúnmente utilizada es la *Valeriana officinales L.* (Valeriana) ⁽⁷⁾. Gran parte Gran parte más frecuentemente usada es la raíz sus extractos contiene valepotriatos, especialmente valtrato, dihidrovaltrato, aceites volátiles, así mismo bornilacetato y bornilisovalerato como principales componentes, ácido valerénico, valeranona y valeranal, ácido caféico, sesquiterpeinos, lignanos, alcaloides, tianinos, ácidos clorogénicos, betasitosterol, metilos, pirrolcetona, flavonoides, terpenoides, taninos , sus resinas han sido identificados aminoácidos libres como tirosina, arginina, glutamina y ácido gamma aminobutírico ^(7,8).

Nuestro país por su creciente expansión en las provincias del noroeste puede presentarse un aporte tendiente a la variación y diversificación de la producción agrícola, con el consecuente impacto socioeconómico en dicha región. ⁽⁷⁾. La multitud de plantas de *Valeriana officinales L.* (Valeriana) de los productos derivados de la plata han comenzado a ser revalorizados debido a su elevado contenido de son los valepotriatos y el ácido valérico siendo así en estos últimos años ^(7,8)

Debido a la presencia de antioxidantes que son sustancias que se encuentran en menor concentración al sustrato a oxidar. Es importante que estos compuestos se contribuyen a definir las características organolépticas la calidad nutricional de los productos es por ello que el efecto antioxidante naturales en la actualidad se considera de mayores formas más efectivas de reducir el riesgo de desarrollo en diferentes enfermedades crónicas no transmisibles y expectativas de vida de toda la población mundial ^(8, 9,10).

Las plantas ricas en flavonoides son principalmente albahaca ,borraja ,estragalo etc, dentro de ellas encontramos a la valeriana officinales con sus metabolitos secundarios protegen las células del organismo dañinos que podrían contribuir al desarrollo de cáncer y otras enfermedades su función como antioxidante en nuestro organismo es vitalmente proteger proteínas,(ADN Y ARN) hay estudios de los antioxidantes referidos a anemia ,pancreatitis ,artritis reumatoide, síndrome metabólico que son contra el daño oxidativo causado por radicales libres y especies reactivas⁽¹⁰⁾.

Principalmente el órgano principal más afectado el hígado también optan musculo por el corazón o el cerebro si bien existen notables enfermedades debido a el alcoholismo, el cáncer y la lesión por varios compuestos químicos con estos de lo famoso radicales libres, debido a la destrucción oxidativa de los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana, la llamada peroxidación lipídica es considerada un importante mecanismo de toxicidad de numerosos compuestos químicos^(10,11).

Los radicales libres son moléculas que presentan una amplia variedad de moléculas que presentan una inestabilidad debido a su gran energía con electrones que están desapareados en su dominio externo que tienen una capacidad de reaccionar con diversos compuestos , uno de ellos son los ácidos grasos polinsaturados entre otros^(10,11). Estos radicales libres son de corta duración de vida pero llegan a producir un gran daño a las moléculas de nuestro organismo dañando enzimas, lípidos, y tejido conjuntivo⁽¹¹⁾.

En numerosos procesos se producen durante la fosforilación oxidativa, durante las reacciones acopladas y catalizadas enzimáticamente por una serie de complejos situados en la membrana interna de la mitocondria, se enumeran del I al IV, aunque a la enzima ATP-sintasa a veces se la designa como complejo V ⁽¹¹⁾. Los radicales libres sin lugar a duda atacan diversas partes de la célula inclusive en el ADN que este no puede generar una célula de reemplazo y por esta razón cual envejecemos ⁽¹²⁾.

Existen múltiples evidencias o cual el envejecimiento es producto de acumulación gradual de lesiones moleculares y daños tisulares hepáticos son causados por el estrés oxidativo cuando este excede la acción síntomas celulares de defensa, hay una tasa de producción de ROS mitocondrial en diferentes órganos es menor en las especies de vertebrados ^(12,13). Actualmente lo radicales libres son enemigos de belleza es una de las razones de que la industria de la belleza este obsesionada con los antioxidantes y la prevención del envejecimiento ⁽¹³⁾.

Como el resto de nuestro cuerpo con el paso del tiempo se oxida, se estima que cada una de nuestras células se enfrentan a unos 1000.000 golpes de radicales libres al día, ahora sabemos el proceso de envejecer cómo nuestro cuerpo procede y neutralice los radicales libres y cuando hay un promedio de radicales libre el problema es enorme estos reactivos están asociados con el daño provoca flacidez de la piel ⁽¹⁴⁾.

Por todo lo mencionado se plantea el siguiente problema este presente trabajo de investigación pretende determinar ¿Tiene efecto el extracto hidroalcohólico de raíz de *Valeriana officinales L.* (valeriana) sobre el estrés agudo inducido en *Rattus norvegicus*?

Objetivo general

- Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de la *Raíz de valeriana officinalis L.* (valeriana) sobre el estrés agudo inducido en *Rattus norvegicus*.

Objetivos específicos

- Determinar y comparar la concentración de Malondialdehído entre el grupo control y los grupos experimentales tratados con extracto hidroalcohólico de la *Raíz de valeriana officinalis L.* (valeriana).
- Determinar que dosis tiene mayor efecto (375mg/Kg peso y 750mg/Kg peso) sobre el estrés agudo inducido en *Rattus norvegicus* expresado en concentraciones de malondialdehído.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes

Syed et al, 2014, en Usa se realizó un estudio fotoquímicos la evaluación de la actividad antioxidante y hepatoprotectora del extracto de etanol de Valeriana officinales en ratas tratadas con CCl₄, en el cual se identificó la presencia de flavonoides, terpenoides, taninos, alcaloides y glucósidos cardíacos, observándose un aumento de la dosis en el potencial oxidativo en los extractos con un contenido fenólico de 66,4/g de extracto de 500 mg / kg y 300 mg / kg mostraron un aumento significativo ($p < 0.001$) en los niveles de AST, ALT ⁽¹⁵⁾.

Gaitán, 2009, realizo otra investigación que se realizó con el objetivo de evaluar la actividad antioxidante de cinco especies vegetales popularmente usadas para afecciones nerviosas o de la memoria: Brugmansia candida Pers. (florifundia), Chiranthodendron pentadactylon Larr. (manita), Erythrina berteroana Urb. (palo de pito), Ternstroemia tepezapote Schlect. & Cham. (tila), y Wigandia urens (Ruiz & Pav.) valeriana officinales (valeriana) D. Gibson (chocón). Como resultados llevando a hacer pruebas de comparaciones múltiples demuestra que dosis de 10 mg/mL con una significancia de ($p < .0004$) por lo tanto rechazan la hipótesis nula y se acepta hipótesis alterna ⁽¹⁶⁾.

Gallardo, 2015, en Chile un estudio reveló diferentes tipos de plantas para tratar diversas dolencias y enfermedades. Particularmente, preparados de Melissa officinalis y valeriana officinalis han mostrado tener efectos psicotrópicos y antioxidante, lo que implica la presencia de compuestos lipofílicos compuestos fenólicos con presencia de

flavonoides. Como resultados hay una amplia evidencia que extractos secos de *Melissa officinalis* y *officinalis*, inhibieron la Lipoperoxidación de microsomas , indicando la presencia de compuestos antioxidantes (flavonoides) los extractos Los extractos herbales, compuestos de reconocida 40 actividad antioxidante ⁽¹⁷⁾.

López et al, 2012 estudio referente a la *Valeriana pyrenaica* planta que crece en Sudamérica cuya investigación fue basada en la actividad antioxidante se evaluó a través de dos métodos por ambos métodos ⁽¹⁸⁾ presentó la mayor potencia antioxidante, seguido del extracto cloruro de metileno, la infusión (5 % P/V) y el de menor actividad fue el extracto metabólico siendo como resultado por ambos métodos (A y B), el insoluble fue el que presentó la mayor potencia antioxidante (CE50 $\mu\text{g/ml}$)(CE50: $0,14 \pm 0,01\text{a}$; $2,75 \pm 0,2\text{ a}$), seguido del extracto cloruro de metileno (CE50: $0,70 \pm 0,08\text{ b}$; $3,96 \pm 0,4\text{ a}$), el extracto acuoso (CE50: $2,3 \pm 0,2\text{ c}$; $10,7 \pm 1,1\text{ b}$) y el extracto metanólico (CE50: $3,16 \pm 0,4\text{ d}$; $16 \pm 1,5$ ⁽¹⁸⁾.

Roosbehi et al, 2015, en Irán realizaron una investigación efecto del extracto hidroalcohólico de *Valeriana officinalis* en los astrocitos del hipocampo en ratas, I, II y III recibieron extractos de *Valeriana officinalis* 300, 400 y 600 mg / kg. El extracto de *Valeriana officinalis* demostró tener propiedades antioxidantes tiene potencial para proliferar con 300, 400 y 600 mg / kg de *Valeriana officinalis* fue de 10.41 ± 2.87 , 7.85 ± 2.36 y 5.5 ± 2.06 en comparación con el grupo de control 13.1 ± 4.01 . ⁽²⁰⁾ En ratas demostrando tener propiedades antioxidantes resultados 10.41 ± 2.87 , 7.85 ± 2.36 y 5.5 ± 2.06 en comparación con el grupo de control 13.1 ± 4.01 ⁽¹⁹⁾.

2.2 Bases teóricas

Esta famosa planta valeriana officinales (valeriana) es una especie herbácea perenne que prospera en sitios húmedos con olor característico desagradable se cultiva principalmente en las zonas de Centroamérica, Latinoamérica, Europa, Asia, cuya mayor diversidad genética se presenta en las lejanas aldeas, siendo nativa de las áreas llaneras de Europa ^(14,15). La palabra valeriana es una adaptación latina el medico Romano Cesio (24 a.C,-50 d .C) llamaba a la valeriana (nardo galico), la cual formaba parte de un perfecto contraveneno llamado “mitrideteo” ⁽²³⁾.

Nombre Científico: Valeriana officinales **Nombres Comunes:** Español : valeriana, hierba de gatos Portugués : valeriana, baldriana Inglés : valerian Otros : valeriana (italiano) , baldrian (alemán) valeriane (francés) ⁽¹⁶⁾. Sus usos modernos e históricos de la valeriana son como sedante y ansiolítico, pero también se utiliza para tratar el "estómago nervioso" en ocasiones han sido utilizados para los síntomas de estrés, como antioxidante ^(23 - 25).

Usos históricos y populares

Al parecer un famoso medico conocido como Dioscórides a sus pacientes una recomendación que esta dicha planta como es valeriana primeramente al tratar trastornos incluyendo palpitaciones del corazón, problemas digestivos, dificultades para conciliar el sueño ⁽²⁷⁾.Una preparación en infusión 2-3 g de droga por taza, en tintura se usa ½ a una cuchara de (1-4 ml) y a una dosis de correspondencia al extracto es de 2.4 gramos de droga, en todos estos ciertos casos se administra una o más veces al día en humanos ⁽²⁸⁾.

Descripción botánica

Planta herbácea ,familia valerianáceas son perenes de tallos rectos ,erguidos con vellosidades , tienen una altura 1.6 , un olor fétido , presenta hoja partidas en ojuelos puntiagudas y dentadas a la vez , flores son claras blanquecinas ,frutos secos con un rizoma fragante y plumoso ⁽³¹⁾.

Propiedades organolépticas

Un olor penetrante parecidos al ácido valerico y conforme va pasando su edad de esta planta su aroma es más fuerte, convirtiéndose en un sabor amargo un sabor refutable o desagradable ⁽³¹⁾.

Sembrado y recolección

Se adapta en varios tipos de suelos, preferible en lugares con cien por ciento húmedo su se semilla se propaga por división de pies. Con 30-50 cm entre la planta hasta llegar a una estatura como máximo de u metro o menos ^(30.31). Sus rizomas se les extrae un promediado de 1 año a 2 años, se lava, secamos e inmediatamente lo usamos ⁽³¹⁾.

Composición Química

Los constituyentes de esta especie es considerablemente dependiendo de la variedad de la especie, edad de la planta, sus condiciones de crecimiento y del tipo y edad del extracto ^(31,32). Los rizomas contiene, cantidades de: acevaltrato, didrovaltato hidroxisovalérico y homovaltrato, flavonoides, polifenoles, terpenoides, taninos, alcaloides y glucósidos cardíacos. Se asimilan más constituyentes incluyen al β -cariofileno,

valeranona, valeranal, ácido valérico, α - y β -pineno, β -inona, isovalerato de eugenilo, isovalerato de isoeugenilo, alcohol patchouli, valerianol, borneol, camfeno, β -bisaboleno, ledol, ácido isovalérico, terpinoleno^(33,34).

Farmacognosia

Macroscópicamente teniendo en cuenta todas sus rizomas truncadas, de 2-5 cm de largo de color café pardo sus raicéelas tienen una longitud de 2-14 cm de largo, arrugadas, quebradizas con una infinidad de ranuras bien diferenciadas. Microscópicamente es un polvo café oscuro, numerosos gránulos de almidón de 3-24 hasta 4-42 μ m de diámetro, esferoides, agregados: esclereidos múltiples, hipodermis asociada con capa espilífera, su tejido tegumentario en capas bien finas con parches de gránulos café. ^(36 - 38).

Efectos adversos

En la actualidad el hombre sufre efectos adversos debido a una toxicidad aguda de la valeriana es muy baja y puede producir inquietud durante el sueño ^(41,42). Los efectos más frecuentes son cefaleas, vómitos, diarreas, midriasis esto se debe al consumo crónico o en dosis elevadas ^(37,38).

El creciente interés en los polifenoles se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica. Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; que las iones metálicos transitorios, tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , En ensayos clínicos, se ha comprobado que la administración profiláctica de flavonoides disminuye la producción de radicales libres⁽⁴⁴⁾.

Radicales libres.

Son moléculas que actúan como potentes agentes oxidantes y son causa de envejecimiento al combinarse con moléculas esenciales, como el DNA y proteínas, a las cuales desactivan. El rad. Libres se forman a partir de moléculas estables por procesos de fisión hemolítica y reacciones de transferencia de electrones. Se producen en el organismo continuamente por medio de reacciones bioquímicas de oxidación reducción con oxígeno (redox).

La clave para formar otros radicales libres en cadena, además por la vida media que es de microsegundos, hay una rápida propagación con moléculas aledañas y mayor daño potencial. Son como 3 millones de moléculas durante la reacción en cadena. Estos compuestos en cuestión forman parte de las llamados especies reactivas del oxígeno o ROS (Reactive Oxygen Species) ^(45,46).

Estos radicales libres se hidrolizan durante el metabolismo humano, también se pueden producir por contaminantes ambientales, o desórdenes alimenticios. Cuando reaccionan con el consumo o uso toxico como el etanol, tabaco u otras fertilizantes o pesticidas drogas dañinas para nuestra salud ⁽⁴⁷⁾.

Estrés oxidativo

Siempre confundimos este mecanismo celular con el estrés que nos genera el día a día debido a problemas que enfrenta el organismo humano en su vida ⁽⁴⁷⁾. Aumento de radicales libres o disminución de un antioxidante con el pasar del valioso tiempo dicho radical libre que afecta, la gran finalidad en sus condiciones normales se da un equilibrio entre la producción de radicales u otras especies reactivas con los mecanismos antioxidantes (endógeno- oxígeno) ⁽⁴⁸⁾. Al romper el equilibrio, podrá asociar con un déficit en el sistema antioxidante o proliferación descontrolada de radicales libres y definitivamente dañar todos los tejidos ⁽⁴⁸⁾.

Relación que guarda entre oxidantes y salud humana

Por su parte hay una gran variedad de test y prácticas frecuentes y sistemáticas de ejercicios físicos que son recomendables para la salud por ello se hace un análisis que durante el ejercicio que aumenta su producción de ciertos radicales libres que afectan al tejido muscular y defensas sea alto en oxidantes ⁽⁴⁹⁾.

III. HIPÓTESIS

Hipótesis Alternativa (H₁)

- El extracto hidroalcohólico de la raíz de la **valeriana officinalis** L. (valeriana) tiene efecto sobre el estrés agudo inducido en ***Rattus norvegicus***.

Hipótesis Nula (H₀)

- El extracto hidroalcohólico de la raíz de la valeriana officinalis L. (valeriana) no tiene efecto sobre el estrés agudo inducido en ***Rattus norvegicus***.

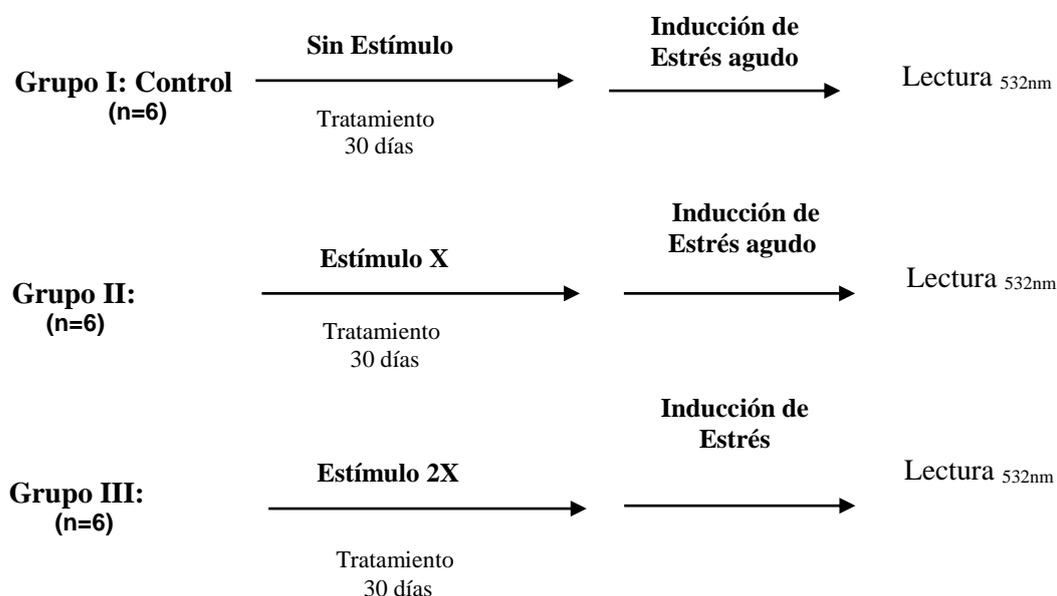
IV. METODOLOGÍA

4.1 Tipo y diseño de la investigación

La presente investigación es de tipo analítico- experimental, de nivel cuantitativo. *in vivo* ” siguiendo el diseño clásico de estímulo creciente.

Distribución de los animales de experimentación: Los animales fueron identificados para cada grupo experimental, de la siguiente manera:

Figura 1: Diseño clásico del estímulo creciente.



Leyenda:

- **Sin estímulo** : Se administró vía oral con sonda nasogástrica 5ml/Kg peso de suero fisiológico (SSF)
- **Estímulo X** : Se administró con sonda nasogástrica 375mg/Kg peso De extracto hidroalcohólico de raíz de *Valeriana officinales L.* (Valeriana)
- **Estímulo 2X** : Se administrará con sonda nasogástrica 750mg/Kg peso de el extracto hidroalcohólico de raíz *Valeriana officinales L.* (Valeriana)
- **n** : Número de animales de experimentación

4.2 Población y muestra

Población vegetal

Los rizomas de valeriana “Valeriana officinales”, se adquirieron zonas andinas del Distrito de Usquil – Huacamochal, Provincia de Otuzco, ubicada en el Departamento de La Libertad durante el mes de agosto.

Muestra vegetal

La muestra vegetal estuvo constituida por los rizomas de Valeriana “valeriana officinales L.”, aptas para el consumo humano.

Las muestras vegetales de los rizomas de Valeriana, fueron identificadas en el Herbarium Truxillense (HUT), Universidad Nacional de Trujillo para ser autenticado y calificado.

Criterios de inclusión:

- Rizomas de Valeriana organolépticamente aceptables
- Rizomas de Valeriana recolectados en un mismo procedencias
- Rizomas de Valeriana recolectados en una misma estación.

Criterios de inclusión

- Rizomas de Valeriana contaminados por algún agente biológico natural
- Rizomas de Valeriana con características morfológicas no comunes

Animales de experimentación:

Se utilizó ratas albinas machos *Rattus norvegicus* procedentes del Bioterio de la Universidad Peruana “Cayetano Heredia”- Lima. Los animales se obtuvieron con un

peso promedio de 250 ± 300 g, de 3 meses de edad, macho. Se ubicaron en espacio apropiado en condiciones ambientales, con ciclos de 12 horas luz/oscuridad con libre acceso de alimento y agua por una semana para la climatización.

4.3 Definición y Operacionalización de las variables

Variables		Definición operacional	Indicador	Tipo de medición
Dependiente	Estrés agudo	Niveles de concentración de MDA	nM	Cuantitativos de razón.
Independiente	Extracto hidroalcohólico valeriana officinales l.	Dos concentraciones de extracto hidroalcohólico	375 y 750 mg/Kg peso	Cualitativos-nominales.

Fuente: Datos proporcionados por la autor.

4.4 Técnicas e instrumentos

Método: Se utilizó el método del TBARS (Especies Reactivas para el Ácido Tio barbitúrico) para determinar la Lipoperoxidación en *Rattus norvegicus*

Determinación de la Lipoperoxidación en sangre de *Rattus norvegicus*

Se utilizó el método colorimétrico de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), el cual se basa en la reacción del MDA con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) para formar aductos cromógenos estables, que se cuantifico por espectrofotometría de absorción.

- Para cada tubo de ensayo se tomó 0.1 ml de suero se mezcló con 0.1 ml de Butil-hidroxi-tolueno, luego se agregó 0.1 ml $\text{Fe}_3\text{Cl}_6\text{H}_2\text{O}$ luego se agregó con 1 ml de ácido Tiobarbitúrico (TBA) al 0.8%.
- Esta mezcla se colocó a temperatura de ebullición, en un baño de agua a una temperatura entre 95°C - 100°C durante 60 minutos. Pasado este tiempo se enfrió las muestras en hielo por 15 minutos.
- Se realizó una extracción en frío de los aductos con una mezcla de 2.5ml de n-butanol-piridina (15:1 v/v) y 0.5 mL destilada.
- Se centrifugó a $5,000\times g$ durante 10 minutos a 4°C , los sobrenadantes de cada uno de los tubos de ensayo se recogieron en otros tubos de ensayo vacíos. Luego se realizó la lectura de las absorbancias a 532nm.
- Los datos fueron recolectados en un instrumento propio para este tipo de investigación (Anexo N ° 13)

A. Curva de calibración estándar.

Se procedió a preparar soluciones de malondialdehído (MDA) en combinación con ácido Tiobarbitúrico hasta formación de compuesto cromógeno rosado de absorbancia en 532nm.

- **Solución I:** solución de ácido Tiobarbitúrico al 0.8%.
- **Solución II:** Está formado por MAD (50, 250, 1000, 1500 μL) en solución de ácido Tiobarbitúrico.
- **Solución de agua destilada:** se agregó cantidad suficiente para 3000 μl .

PREPARACIÓN DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICO

Para la preparación del extracto hidroalcohólico se consideró el siguiente procedimiento:

1. Preparación de la muestra recolectada: Limpieza, secado, reducción de tamaño (tijeras y molió manual) y tamizado.
2. Para la extracción se pesó 2.5g de polvo para 50ml de alcohol de 70 ° GL, se depositó en recipientes de color ámbar, se agitó y se tapó por 7 días con agitaciones diarias.
3. Trascurrido en tiempo de maceración, para la obtención del extracto, se filtró con papel filtro grado 1. Para concentrar el extracto se eliminó el solvente usando el baño maría, luego se envasó, se determinó la concentración del extracto y almacenó el producto.
4. La concentraciones finales obtenidas del extracto hidroalcohólico fueron de 160mg/ml

DOSIFICACIÓN DEL EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICO

Para la dosificación, se consideró las concentraciones finales del extracto hidroalcohólico de 160mg/ml. Las dosis ensayadas fueron de 375 mg/Kg peso y 750mg/Kg peso. Se calculó para cada animal de experimentación.

La administración fue por vía oral, durante 30 días entre las 13:00 -15:00 horas, utilizando sonda nasogástrica n°4. Se administró para el grupo la dosis calculada para cada animal de experimentación.

ESTRÉS AGUDO POR INMOVILIZACIÓN EN RATA

Este tipo de estrés impide los movimientos de las extremidades, pero no se trata de una inmovilización absoluta ya que no altera la respiración ni impide la movilidad de la cola. Luego del periodo de administración del tratamiento con el extracto hidroalcohólico de valeriana a dosis de 375 y 750 mg/Kg peso, a todos los grupos experimentales se les sometió a estrés agudo por inmovilización, el cual consistió en una inmovilización de 2 horas, cuatro días consecutivos, la inmovilización se realizó en un sistema construido para este tipo de investigación (Anexo N° 10).

Trascurrido los 4 días de inmovilización a todos los animales se les extrajo sangre para medir el MDA.

4.5 Plan de análisis.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA). También se utilizará la Prueba de Comparaciones Múltiples de Duncan con un valor de significancia del 0.05 %.

4.6 Matriz de consistencia

ENUNCIADO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DISEÑO DE LA INVESTIGACION	INDICADORES Y ESCALA DE MEDICION	TECNICAS
El presente trabajo de investigación pretende determinar ¿Tiene efecto el extracto hidroalcohólico de <i>Valeriana officinales L.</i> (valeriana) sobre el estrés agudo inducido en <i>Rattus norvegicus</i> ?	<p>OBEJTIVOS GENERALES Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de la <i>Raíz de valeriana officinalis L.</i> (valeriana) sobre el estrés agudo inducido en <i>Rattus norvegicus</i>.</p> <p>OBJETIVOS ESPECIFICOS: -Determinar y comparar la concentración de Malondialdehido entre el grupo control y los grupos experimentales tratados con extracto hidroalcohólico de la <i>Raíz de valeriana officinalis L.</i> (valeriana). -Determinar que dosis tiene mayor efecto (375mg/Kg peso y 750 mg / Kg peso) sobre el estrés agudo inducido en <i>Rattus norvegicus</i> expresado en concentraciones de malondialdehído.</p>	<p>H₁: El extracto hidroalcohólico de la <i>valeriana officinalis L.</i> (valeriana) <i>tiene efecto</i> sobre el estrés agudo inducido en <i>Rattus norvegicus</i>.</p> <p>H₀: El extracto hidroalcohólico de <i>valeriana officinalis L.</i> (valeriana) no tiene efecto sobre el estrés agudo inducido en <i>Rattus norvegicus</i></p>	<p>VARIABLE DEPENDIENTE: Estrés Agudo</p> <p>VARIABLE INDEPENDIENTE: Extracto hidroalcohólico de raíz de <i>valeriana officinalis L.</i> (valeriana)</p>	La presente investigación es de tipo analítico-experimental, de nivel cuantitativo. Se utilizó el método TBA RS (Especies Reactivas para el Ácido Tiobarbitúrico)	<p>Indicador: nM</p> <p>Indicador: 375 y 750 mg/Kg peso. Escala de medición: cualitativos nominales.</p>	<p>Determinación de la Lipoperoxidación en sangre de <i>Rattus norvegicus</i></p> <p>Elaboración del extracto hidroalcohólico de valeriana maceración</p>

4.7 Consideraciones Éticas

- En todo momento de la investigación científica siempre se respetan los códigos éticos de protección al animal y las recomendaciones del Instituto Nacional de Salud del Perú para manejo de animales de experimentación.
- La primera condición cuando se trabajan con estos especímenes de laboratorio es el respeto por su vida, dolor sufrimiento que debido a esto se hace realización investigaciones con propósitos científicos
- Los animales se ubicaron en espacio apropiado en condiciones apropiadas con temperatura de $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Con humedad de $60 \pm 70\%$, con ciclos de 12 horas luz/oscuridad con libre acceso de alimento y agua.
- Para elaboración del extracto hidroalcohólico uso correcto de indumentaria de laboratorio (gorro, guantes, mascarilla, etc) siguiendo un protocolo para evitar errores.

V. RESULTADOS

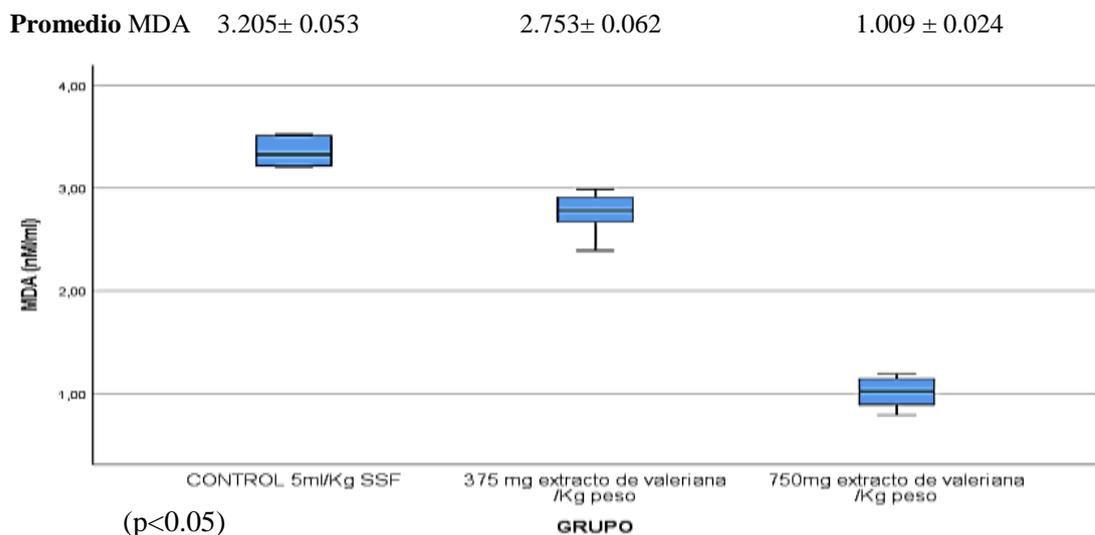
5.1. Resultados

Tabla 1 Efecto del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana officinales L.* (valeriana) (375mg/Kg peso y 750mg/Kg peso) sobre el estrés agudo inducido en *Rattus norvegicus* expresado en concentraciones de malondialdehído

Numero de ratas	grupo control MDA (Nm/ml)	Grupo 10 ml MDA (nM/ml)	Grupo 20 ml MDA (nM/ml)
1	3.205	2.390	0.790
2	3.215	2.909	0.994
3	3.510	2.870	0.890
4	3.322	2.689	1.143
5	3.330	2.987	1.049
6	3.520	2.670	1.190
PM	3.350	2.753	1.009
DS	0.053	0.062	0.024

Fuente: Datos proporcionado por el autor

Figura 2



Producción de malondialdehído (MDA) en suero de *Rattus norvegicus* expuestas a extracto hidroalcohólico de valeriana a una dosis de 375mg/Kg peso y 750mg/Kg peso, comparados con el grupo control (SSF)

5.2. Análisis de resultados

La peroxidación de lípidos es un proceso de degradación mediada por radicales libres que implican ácidos grasos poliinsaturados y los resultados en la formación de radicales de lípidos. Se puede afirmar que de todas las enfermedades que existen hoy en día están asociados el estrés oxidativo por la mayor producción de radicales libre y la disminución de antioxidantes ⁽⁵⁰⁾.

Siendo así la *Valeriana Officinalis L.* (valeriana) muy reconocida debido por su composición química dentro de ello se encuentra los polifenoles responsables de las propiedades antioxidantes su mecanismo de acción es quelar metales tóxicos pesados, disminuyendo la producción de radicales libres durante el metabolismo ⁽⁵⁰⁾.

El en la Tabla 1 reportamos la producción de los promedios y desviación estándar de malondialdehído de distintos grupos control y grupos experimentales donde grupo control reporta mayor cantidad de MDA un 3.350 nM y grupos experimentales 375mg/Kg fue 2.753 nM y 750mg/Kg fue 1.009 nM , obteniendo estos resultados es el grupo que hubo mayor MDA grupo control a diferencia que los grupos experimentales tratados con extracto hidroalcoholico de raíz de Valeriana Officilaes L. (valeriana) reforzando en si sus propiedades antioxidantes por poca cantidades que se encontró de MDA en la Lipoperoxidación en Rattus Norvegicus.

El en la figura 2 representa tabla de bigotes o de cajas indicando los resultados se reporta la producción de Malondialdehido (MDA), de los tres grupos considerados en la investigación, luego de aplicarles la prueba ANOVA al comparar los diferentes

grupos muestran un nivel de significancia de $p < 0.05$, es decir que existe diferencia estadísticamente significativa en los efectos de los tres grupos de estudio por lo tanto se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 , de esta manera general, se concluye que los tratamientos in vivo con extracto hidroalcohólico de Valeriana officinales (valeriana) a dosis de 750mg/Kg tiene mayores propiedades de reducir los niveles de MDA frente al estrés agudo .

Estos resultados comparados resultados con los encontrados por otros autores como Roozbehi A et al en el año 2015 realizaron una investigación efecto del extracto hidroalcohólico de Valeriana officinalis en los astrocitos , el grupo I agua destilada y los tratamiento I, II y III recibieron extractos de Valeriana como resultado demostrando tener propiedades antioxidantes 10.41 ± 2.87 , 7.85 ± 2.36 y 5.5 ± 2.06 en comparación con el grupo de control 13.1 ± 4.01 .⁽²⁰⁾.

VI. CONCLUSIONES

6.1. Conclusiones

- El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Valeriana Officinalis* L. (valeriana) mejoró su efecto en el estrés agudo en *Rattus norvegicus*
- El extracto hidroalcohólico de raíz de *Valeriana officinalis* a dosis 375mg/Kg peso reporta 2.753 nM/ml de MDA y a dosis 750mg/Kg reporta 3.205 nM/ml de MDA al compáralo con grupo control.
- El extracto hidroalcohólico de raíz de *Valeriana Officinalis* L. (valeriana) a una dosis de 750mg/Kg mejoró su efecto frente al estrés agudo

6.2. Aspectos complementarios

- Realizar una formulas farmacéuticas a base valeriana *Officinalis* L. (valeriana) ya que tiene acción antioxidativa
- Propongo que se realicen diferentes estudios científicos con valeriana *Officinalis* L. (valeriana) ya que también se le atribuye mucho más propiedades como gastroprotectoras, diuréticas y antioxidantes.
- Como investigadores que somos seria gran aporte a la ciencia ya que de aquí en adelante, concurremos directamente a la fuente de preparados fotoquímicos para tratar diferente patologías.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cruz de Paz A. “Evaluación de la Actividad Biocida e Identificación Química de Valepotriatos en tres plantas reconocidas popularmente en Guatemala como Valeriana” Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.: Guatemala, Febrero 2005. [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2286.pdf
2. Syed S, Rizvi W, Kumar W, Khan A, Moin S. Ahsan Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Ethanol Extract of Valeriana wallichii in CCl₄ Treated Rats. British Journal of Pharmaceutical Research.2014; 4(8): 1004-1013. [Citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://www.journalrepository.org/media/journals/BJPR_14/2014/Mar/Syed482013BJPR7378_1.pdf
3. Alba C. “Validación farmacológica de la acción sedante e hipnótica de rizoma de Valeriana prionophylla (valeriana) en combinación con hojas de Passiflora edulis (flor de la pasión), flor con bráctea de Tilia platyphyllos (tilo) o pericarpio de Citrus aurantium (naranja agria) en infusión” [citado 2 dic.2018]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2548.Pdf
4. Barrios A. Validación farmacológica de la acción sedante e hipnótica de rizoma de Valeriana prionophylla (valeriana) en combinación con hojas de Passiflora edulis (flor de la pasión), flor con bráctea de Tilia platyphyllos (tilo) o pericarpio de Citrus aurantium (naranja agria) en infusión. Informe de tesis para optar al

título de Química Farmacéutica. Guatemala (2007) [citado 2 dic. 2018].

Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/07_3210.pdf

5. Torres F. Etnobotánica y tamizaje fitoquímico de especies vegetales con potencial económico de los y huancabamba, tesis para optar el grado académico de maestro en farmacia y bioquímica con mención en productos naturales terapéuticos Piura-Perú, : Universidad Nacional de Trujillo escuela de postgrado sección de farmacia y bioquímica Trujillo – Perú 2015 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5394/ESIS%20MAESTRIA%20%20FIDEL%20ANGEL%20TORRES%20GUEVARA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Taavoni S, Ekbatani N, Kashaniyan M, Haghani H. Effect of valerian on sleep quality in postmenopausal women: a randomized placebo-controlled clinical trial. 2011 Sep; [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21775910>
7. Piccinelli A. Nuevos lignanos de las raíces de Valeriana prionophylla. Actividades antioxidantes y vasorelajantes. Revista de productos naturales. No. 67. Estados Unidos 2004 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <http://www.afns.ualberta.ca/Courses/NUTR479/Reading%20and%20papers%20for%20presentations/Valeriana%20plant%20properties.pdf>

8. Favari L, Arce C, Ortiz J, Perez S, Soto C, Melendez M. Efectos hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata *Rev. mex. cienc. farm* vol.44 no.4 México oct./dic. 2013 [citado 2 dic. 2018]. Disponible :http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870019520130004000
9. Coronado H, Vega S, Gutiérrez T. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana *Rev Chil Nutr* Vol. 42, N°2, [citado 2 dic. 2018]. Disponible en :<http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
10. Zamora S. Programa de maestría en nutrición humana. universidad de costa rica antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud, *revichilnutr* vol. 34, n°1, marzo 2007 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071775182007000100002
11. Méndez E, Alfaro L, Pacheco F. Fenología reproductiva de *Valeriana prionophylla* (Valerianaceae) y un caso de herbivoría en el páramo de Costa Rica San José, Costa Rica. Universidad Estatal a Distancia. Vicerrectoría Académica. escuela de ciencias exactas y naturales maestría en manejo de recursos naturales con énfasis en biodiversidad Mayo, 2013 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <http://www.uned.ac.cr/ecologiaurbana/wp-content/uploads/2013/09/Agusti.pdf>
12. Torres H, Colón I, Felero R, Torrado A, Miscaliche N, Gonzales S, Rios N, et al. Reversión de la natación pentilentetrazol alterada y la expresión génica regulada por la actividad neuronal en larvas de pez cebra por el ácido valproico y la

valeriana extracto. *Psicofarmacología (Berl)*. 2016 Jul; 233 (13): 2533-47. doi: 10.1007 / s00213-016-4304-z. Epub 2016 11 de mayo [citado 27 jun 2018]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27165438>

13. Aguilar E. Bioética y normativa en uso de animales en investigación en América Latina; Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en bioética Instituto Politécnico Nacional; Escuela superior de medicina Sección de estudios Post Grado e investigación ; MEXICO julio 2008 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: https://tesis.ipn.mx/js_pui/bitst/12345_6789/4426/1/bioeticano_rmat.pdf
14. Syed SN, Rizvi W, Kumar W, Khan A, Moin S, Ahsan A. Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Ethanol Extract of *Valeriana wallichii* in CCl₄ Treated Rats. *British Journal of Pharmaceutical Research*. 2014; 4(8): 1004-1013. [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://www.journalrepository.org/media/journals/BJPR_14/2014/Mar/Syed48_2013BJPR7378_1.pdf
15. Gaitán I. Evaluación de la actividad antioxidante de cinco especies vegetales utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones de la memoria y los nervios Maestría en Producción y Uso de Plantas Medicinales MUPLAM; Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, noviembre de 2009 Volumen 17, pp. 198-208. [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2882.pdf
16. Gallardo C. Actividad antioxidante y efecto ansiolítico de extractos secos estandarizados de *Melissa officinalis* y *valeriana officinalis* en ratas Sprague Dawley Actividad antioxidante y efecto ansiolítico de extractos secos

estandarizados de *Melissa officinalis* y *Rosmarinus officinalis* en ratas Sprague Dawley Memoria de título para optar al título de Bioquímico. Santiago Chile : Universidad de Chile facultad de ciencias químicas y farmacéuticas departamento de química farmacológica y toxicológica , laboratorio de química farmacológica y toxicológica ;2015 volumen 17, pp. 198-208. [citado 2 dic. 2018]. disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/134921/actividad-antioxidante-y-efecto-ansiolitico-de-extractos-secos-estandarizados-de-melissa-valeriana.pdf?sequence>

17. Lopez P, Anesini C. Estudio de la actividad antioxidante de extractos de *Valeriana pyrenaica* (valerina) Cátedra de Farmacognosia, IQUIMEFA-CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina 2012 Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Aromaticas Vol. 6 Volumen 17, pp. 198-208. [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/856/858761746520.pdf>
18. Roozbehi A, Delaviz H, Heidarian A, Mohamadi J. El efecto del extracto hidroalcohólico de *Valeriana officinalis* en los astrocitos del hipocampo en ratas. Irán. Armaghane Danesh Bimensual Journal. 2015. Volumen 20, pp. 298-308. [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://armaghane.danesh.yums.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-511&slc_lang=en&sid=1
19. Mancilla P. Efecto de la administración del extracto de *valeriana officinalis* l. sobre la conducta en ratas, sometidas a pruebas de comportamiento título presentada como parte de los requisitos para optar al título de médico veterinario.

chile. universidad austral de chile facultad de ciencias veterinarias instituto de farmacología agosto 2015 [citado 2 dic. 2018]. disponible en http://www.wild.cu/mil/vol31_2_02/MIL_09_202.pdf

20. Alba B. “Validación farmacológica de la acción sedante e hipnótica de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) en combinación con hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión), flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo) o pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja) en infusión” Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala, julio de 2010 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2548.pdf
21. Giraldo Q. Aislamiento e identificación de metabolitos activos sobre el sistema nervioso central obtenidos de valeriana pavonii Universidad Nacional de Colombia facultad de Ciencias Area Curricular de Farmacia doctorado en ciencias farmacéuticas bogotá d.c.2010 citado [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/8644/1/192810.2010.pdf>
22. Betancourt Á, Cintra R, Rodríguez A, Cintra K. Utilidad de la fitoterapia en el insomnio. Fitoterapia utilidad en el insomnio. Policlínico Docente Universitario diego del Rosario Morón. *Mediciego* 2012; 18 (No. Esp.) [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol_1c_2012/pdf/T2.pdf
23. Giraldo S, Rincón J, Puebla P. Isovaleramida, principio anticonvulsivo aislado de *Valeriana pavonii*. Universidad de Salamanca Biomédica Departamento de Química Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Salamanca, España 2010 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <http://C:/User s/F%20Ppyu/Downloads/187-707-1-PB.pdf>

24. Celis C, Rincón J, Guerrero M. Actividad farmacológica sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico y de la fracción alcaloidal de *Valeriana pavonii*. Rev. colomb.cienc.quim.farm.2007;36(1): 11-22. [citado 2 dic. 2018]. Disponible :http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003474182007000100002&lng=en
25. Favari L, Martínez J, Camargo E. Efectos hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* en el daño hepático agudo inducido por el tetracloruro de carbono en la rata Rev. mex. cienc. farm vol.44 no.4 México oct./dic. 2013 citado [citado 2 dic. 2018]. Disponible: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S187009520130004000
26. Carolina B. Validación farmacológica de la acción sedante e hipnótica de rizoma de *Valeriana prionophylla* (valeriana) en combinación con hojas de *Passiflora edulis* (flor de la pasión), flor con bráctea de *Tilia platyphyllos* (tilo) o pericarpio de *Citrus aurantium* (naranja agria) en infusión. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Guatemala, julio de 2007 citado [citado 2 dic. 2018] Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2548.pdf
27. Villar A. *Valeriana officinalis* Fitoquímica farmacología. Universidad Complutense Madrid. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia.

Universidad. 2001[citado 2 dic. 2018]. Disponible en:file:///C:/Users/Felix%20Perez/Downloads/13019927_S300_es.pdf

28. Huamán O. Efecto hepatoprotector del zumo de cogollo de *Cynara scolymus* (corazón de alcachofa) en ratones sometidos a intoxicación por paracetamol. Tesis para obtener el Título de licenciado en Nutrición y Dietética Universidad Católica sedes Sapientiae Facultad de Ciencias de la Salud Lima – Perú 2016 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/UCSS/184/Hilario_Mejia_tesis_bac_hiller_2016.pdf?sequence=6&isAllowed=y
29. Méndez A. Fenología reproductiva de *Valeriana prionophylla* (Valerianaceae) y un caso de herbivoría en el páramo de Costa Rica San José Universidad Estatal a Distancia Vicerrectoría Académica Escuela de Ciencias Exactas y Naturales Maestría en Manejo de Recursos Naturales con Énfasis en Biodiversidad, Costa Rica Mayo, 2013 citado [citado 2 dic. 2018]. Disponible <http://www.uned.ac.cr/ecologiaurbana/wpcontent/uploads/2013/09/Agusti.pdf>
30. Kathi J. Valerian (*Valeriana officinalis*) Revised December Grupo de Trabajo de Herbal de Longwood El Centro de Educación e Investigación Pediátrica Holístico año 1999 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <http://www.longwoodherbal.org/valerian/valerian.pdf>
31. Andrea del C. Evaluación de la Estabilidad acelerada de una Loción, con Capacidad Antifúngica, Antibacteriana y Antilevadura preparada a partir de Extracto seco de rizoma de *Smilax domingensis* (zarzaparrilla), en solución

etanólica al 70%. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Guatemala, Noviembre de 2011 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_3210.pdf

32. Celis T, Rincon J, Actividad farmacológica sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico y de la fracción alcaloidal de *Valeriana pavnii*. Rev. colomb. cienc. quim. farm. 2007 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_text&pid=S00347418200700000002&lng=en
33. Taavoni S. Efecto de la valeriana en el sueño Calidad en mujeres posmenopáusicas: un estudio clínico aleatorizado controlado con placebo Trial .2011Sep; [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: [Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21775910](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21775910)
34. De la Cruz C. Caracterización de cinco Extractos de Plantas Medicinales Nativas de Guatemala, Validadas Científicamente (Tesis Licenciatura). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Guatemala: (s.n.) (2005). [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/303960971_Efecto_antioxidante_y_antitumoral_in_vitro_uso_de_extractos_plantas_medicinales_y_clasificaciion DU-145
35. Coronado H, Vega S, Gutiérrez R, Vázquez F, Radilla C. Perspectiva actual para la salud humana Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco Antioxidantes Rev Chil Nutr Vol. 42, N°2, Junio 2015 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>

36. Núñez A. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. Rev Cubana Salud Pública. 2011; [citado 27 jun 2018]. page 37 (suppl.): 644-60 Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182015000200014
37. González G, López G. Ejercicio físico y radicales libres, ¿es necesario una suplementación con antioxidantes?. Rev Internac Med Ciencias Actividad Física Deporte. 2012; 12 (46): 369-88. [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071775182015000200
38. Stanner S, Review of the epidemiological evidence for the “antioxidant hypothesis”. Public Health Nutr. 2004; 7 (3): 407-22[citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15570057>
39. Vargas M. Efecto hepatoprotector y antioxidante del extracto y los principios activos de *Geranium shiedeanum*” Tesis que para obtener el grado de: Maestra en Ciencias Biomédicas y de la Salud .: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo Instituto de Ciencias de la Salud San Agustín Tlaxiaca Hgo. 2012 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <https://repository.uad.mx/bitstream/handle/123456789/1477/TEISIS%20FINAL%20PDF.pdf?sequence=1>
40. Waterhouse A. Wine and heart disease.1995. International Wine & health symposium. chemical composition isovaleric Chemistry and industry, [citado 27 jun 2018]. pages 338-342)

41. Ambrosone Ch, Hong P. Oxidative stress-related genotypes, fruit and vegetable consumption and breast cancer risk. *Carcinogenesis*. 2009; 30 (5): 777-84 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19255063>

42. Martínez F, Gallego G. Propiedades y acciones antioxidantes de los flavonoides departamento de fisiología universidad de león y hospital de león España (*Nutr Hosp*.17:271-278) año 2002. [citado 27 jun 2018]. <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

43. Velioglu, Y, Mazza G, Gao L. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products acctuon pharmacological action [citado 2 dic. 2018]. *Chem*. Vol. 46, 4113-4117

44. Coronado H. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana *Rev. chil. nutr.* vol.42 no.2 Santiago jun. 2015 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&S071718201500200014

45. Mataix B. Efecto de los ácidos grasos de la dieta y la suplementación con coenzimas sobre el estrés Oxidativo Cerebral Durante el envejecimiento; Granada Universidad de Granada Instituto Nutrición Y Tecnología de Alimentos 2005 [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/15743226.pdf>

46. Paladino S. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*vitis vinifera* L.) Magister en Alimentos (Mención en Ciencias) del Posgrado Regional Cooperativo en Alimentos Universidades Nacionales de Cuyo, La Rioja [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://www.scielocielo.php?script=sci_arttext&pid=S185386652012000200011

47. Velioglu, Y, Mazza G, Gao. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 46, 4113-4117
48. Yildirim A, Mavi A, Oktay. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of Tilia (*Tilia argentea* Desf. Ex DC), *Camellia sinensis*) extracts. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 48, 5030-5034. [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: <https://pubsdoi/abs/10.21/10.21/piut9000>
49. Negrão R. Polifenoles naturales como agentes antioxidantes, antiinflamatorios y anti-angiogénicos en el síndrome metabólico. Springer Países Bajos, 2009. p. 147-180. [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4020-9701-0_8 pdf,
50. Rodrigo R. Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clinica Chimica Acta.* 2011, vol. 412, no 5, p. 410-424. . [citado 2 dic. 2018]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009 pdf,

ANEXOS

Anexo N°1: Modelo de la inmovilización de ratas en conos de plástico



Elaboración Modelo de la inmovilización de ratas en conos de plástico. laboratorio de bioquímica. facultad de ciencias. uladech. 2017

Anexo N2° Modelo de la inmovilización de ratas en conos de plástico sometidas a estrés agudo



Anexo N ° 3. Preparacion de reactivos



Sustancias reactivas al acido tiobarbitúrico (TBARS), el cual se basa en la reacción del MDA con el acido 2-tiobarbitúrico (TBA) laboratorio de bioquímica. facultad de ciencias. uladech. 2017

Anexo N°4 . Toma de muestra sanguinea en animales de experimentacion por puncion cardiaca



Extracción de muestra sanguinea por puncion cardiaca de rattus rattus norverjicus laboratorio de bioquímica. facultad de ciencias. uladech. 2017

Anexo N°5. Procesamiento de las muestras y lectura en el espectrofotómetro



Se centrifugó a 5,000xg durante 10 minutos a 4°C, los sobrenadantes de cada uno de los tubos de ensayo se recogieron en otros tubos de ensayo vacíos. Luego se realizó la lectura de las absorbancias a 532nm. laboratorio de bioquímica. facultad de ciencias. uladech. 2017

Anexo N° 6: Fotografía de muestra biológica “Rattus Norvegicus “



Fuente: alumno investigador.

Anexo N°7 Miologica ustra Raiz de Valerina officinales (valeriana)



Fuente: alumno investigador.

Anexo N° 8: elaboración del extracto hidroalcoholico de valeriana officinalis (valeriana).



Fuente: alumno investigador.

Anexo N° 9: Lugar donde se recolecto las muestras de valeriana officinalis (valeriana).



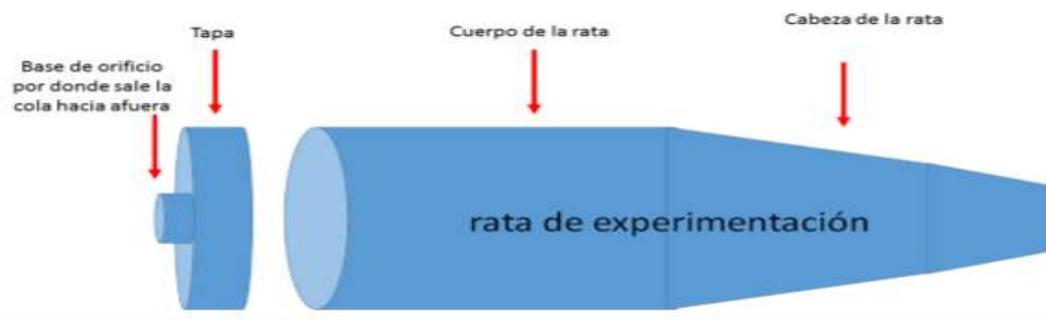
Recoleccion de la planta valeriana officinalis (valeriana). Procedencia de huacamochal provincia de otuzco distrito de usquil.

Anexo N° 10: Protocolo para realización de esquema de inmovilización de ratas en conos de plástico



Recuerde que lo que se tiene que adaptar es un tubo de agua, donde pueda ingresar la rata, uno de los extremos tiene la forma cónica, y en la base tiene que tener una tapa huaqueada para la cola, ingresa la rata y lo cerramos con la tapa (donde la cola queda hacia afuera)

ESQUEMA N° 2 : DETALLE DEL SISTEMA CONO DE PLÁSTICO



Las dimensiones del sistema realízalo considerando las medidas de tu rata más grande.

Fernández J. Efectos del estrés por inmovilización sobre respuestas aprendidas en ratas: Universidad Autónoma de Barcelona Revista Mexicana de Análisis de la Conducta. 1987, Vol. 13, Núms. 1 y 2, págs. 135-143

Tabla 2 Producción de Malondialdehído suero de Rattus norvegicus expuestas solución salina fisiológica (SSF) 10ml/Kg, 20ml/kg lecturas y absorbancias

Numero de ratas	grupo control MDA (Nm/ml)	Grupo 20 ml MDA (nM/ml)
1	3.205	0.790
2	3.215	0.994
3	3.510	0.890
4	3.322	1.143
5	3.330	1.049
6	3.520	1.190

Numero de ratas	grupo control MDA (nM/ml)	Grupo 10 ml MDA (nM/ml)
1	3.205	2.390
2	3.215	2.909
3	3.510	2.870
4	3.322	2.689
5	3.330	2.987
6	3.520	2.670

Fuente: Datos proporcionados por la autor.

Tabla 3: Comparación del efecto entre diferentes grupos control, experimental 1, experimental 2 según los parámetros de aprendizaje en Rattus norvegicus analizados mediante la prueba de Tukey.

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente:						
HSD Duncan						
(I) Grupo		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Control	Extracto 375mg/Kg	,597833*	.099457	.000	.33950	.85617
	Extracto 750ng/Kg	2,341000*	.099457	.000	2.08266	2.59934
Extracto 375 mg/Gg	Control	-,597833*	.099457	.000	-.85617	-.33950
	750mg/Kg	1,743167*	.099457	.000	1.48483	2.00150
Extracto 750mg/Kg	Control	-2,341000*	.099457	.000	-2.59934	-2.08266
	Extracto 375mg/Kg	-1,743167*	.099457	.000	-2.00150	-1.48483

Fuente: Datos proporcionados por la autor.

Tabla 4 ANOVA de las mediciones de MDA para evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de Raíz de Valeriana officinales L. (Valeriana) a dosis de 375 y 750 mg/Kg, 5 ml/Kg SSF.

ANOVA					
Funeral					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	17.753	2	8.876	299.114	0.000
Error experimental	.445	15	.030		
Total	18.198	17			

* $p < 0.05$

Fuente: Datos proporcionados por la autor.

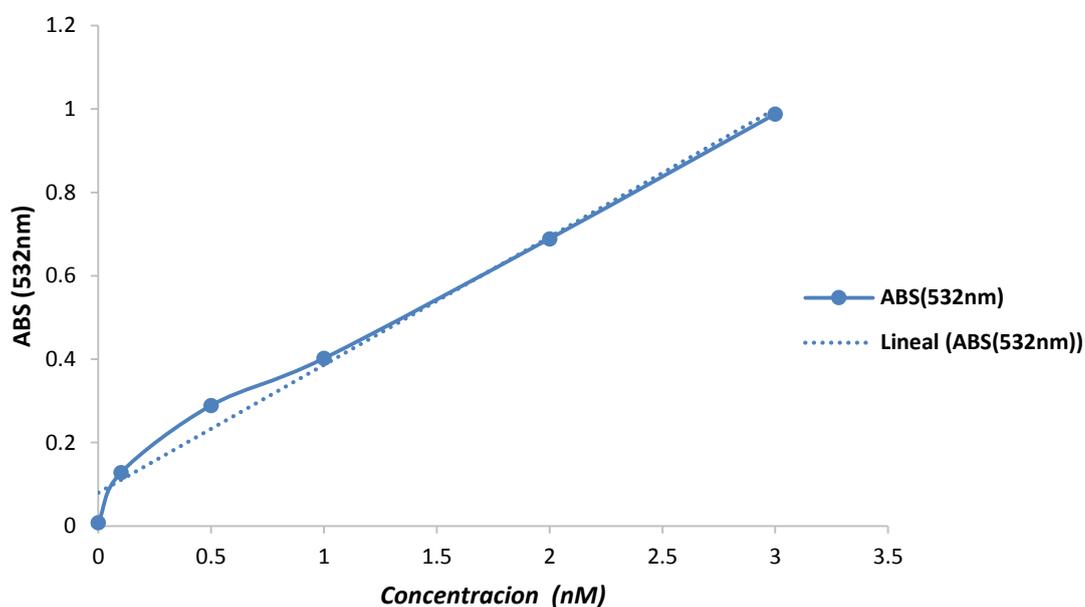
Tabla 5: Duncan de las mediciones de MDA para evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de Raíz de Valeriana officinales L. (Valeriana) a dosis de 375 y 750 mg/Kg, 5 ml/Kg SSF

HSD Duncan				
Subconjunto para alfa = 0.05				
Grupo	N	1	2	3
Extracto 20	6	1.00933		
Extracto 10	6		2.75250	
Control	6			3.35033
Sig.		1.000	1.000	1.000

*($p < 0.05$)

Fuente: Datos proporcionados por la autor

Figura 3. Curva de calibración estándar de Malondialdehido Se muestra la curva de calibración estándar para Malondialdehido químicamente puro cuando reacciona con el TBARS



Fuente: Datos proporcionados por la autor.

Figura 4: volúmenes utilizados para la curva de calibración estándar.

Volumen (µL)	Concentración final de la solución (nM)					
	0	0.1	0.5	1	2	3
Solución I	1500	1500	1500	1500	1500	1500
Solución II	0	50	250	500	1000	1500
Agua destilada	1500	1450	1250	1000	500	0

Fuente: Datos proporcionados por la autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)
FLORA PERUANA



Familia: VALERIANACEAE

Nombre Científico: *Valeriana officinalis*

N. Vulgar: “valeiana”

Det. por: Herbario HUT

Hábito: Hierba con olor suigeneris de hasta 0.4 m.

Procedencia: Arriba de Huacamochal (a 3 horas del pueblo), distrito Usquil.

Prov.: Otuzco

Dpto.: La libertad

Hábitat: Jalca, ladera pajonales.

Altitud: 3100 m

Fecha: 15/10/2016

Colector: Perez Tolentino Felix

Nº: s.n.

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote (ULADECH -TRUJILLO).

Facultad Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA RAÍZ DE
Valeriana officinales L. (VALERIANA) SOBRE EL ESTRÉS AGUDO
INDUCIDO EN *Rattus norvegicus*

Anexo N° 12: certificado de adquisición de animales de experimentación



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
Bioterio - Vicerrectorado de Investigación

CERTIFICADO

San Martín de Porres, 21 de octubre de 2016

Mediante la presente se certifica que las 20 ratas (*Rattus norvegicus*), machos, de 3 meses de edad, adquiridas el 21 de octubre de 2016 por el Sr. Félix Pérez Tolentino, están en perfecto estado sanitario y fisiológico, para ser utilizada en cualquier protocolo Biomédico.

Atentamente;



Dr. CHRISTIAN PITOT ALVAREZ
Jefe de Boterio
LID - UPCH

Anexo N° 13: Instrumento para recolección de datos MDA

GRUPOS DE INVESTIGACION	Nº RATA	ABSORBANCIA DE MUESTRAS DE SUERO ANALISADAS			
		Muestra 1	Muestra 1	Muestra 1	Promedio
CONTROL 5ml SSF/Kg peso	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
	PROMEDIO				
EXPERIMENTAL I 375 mg /Kg peso	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
	PROMEDIO				
EXPERIMENTAL I 750 mg /Kg peso	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
	PROMEDIO				