



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÀNGELES
DE CHIMBOTE
FILIAL TRUJILLO

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÌMICA

**EFFECTO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LA HOJA DE
Cynara scolymus L. (ALCACHOFA) SOBRE EL ESTRÉS
HIPOTÈRMICO INDUCIDO EN *Rattus norvegicus*
*var. Albinus.***

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORA:

Bach. CESIA KATHERIN CONTRERAS ALTAMIRANO

ASESOR:

Mgtr. CESAR ALFREDO LEAL VERA

TRUJILLO – PERÚ

2018

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. Cesar Alfredo Leal Vera

Docente Tutor Investigado

AGRADECIMIENTO

A DIOS:

Por darme la fuerza, salud y vitalidad para poder superar todos los obstáculos que se me presentan a lo largo de esta etapa universitaria.

A MIS PADRES:

En especial a mi madre y a mis tíos por sus consejos, preocupación y apoyo incondicional que me brindaron en todo momento, que a pesar de no estar cerca de mí, siempre contaba con su apoyo.

A MI ASESOR Y DOCENTES:

Por sus enseñanzas, consejos y experiencias que fueron compartidas durante mi trayectoria universitaria, formando profesionales competentes y capaces de desempeñarse en cualquier campo de trabajo que nos compete.

DEDICATORIA

A Dios:

Por darme la oportunidad de vivir y guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres:

En especial a mi madre por darme la vida, por brindarme todo su amor, por ser un ejemplo de lucha, por creer en mí, por enseñarme los valores más importantes que una persona necesita para lograr sus objetivos, cumplir sus metas y ser feliz. Mamá gracias por darme una carrera para mi futuro

Resumen

El presente trabajo de investigación fue de tipo experimental, *in vivo* de enfoque cuantitativo, tuvo como objetivo general determinar el efecto del extracto acuoso de las hojas de *Cynara scolymus L.* (alcachofa) sobre el estrés hipotérmico inducido en *Rattus norvegicus var Albinus*. Para la evaluación del estrés se cuantifico malondialdehído mediante el Método colorimétrico de sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico(TBARS). Se trabajó con 18 ratas machos con un promedio de 210 ± 20 g procedentes del Instituto Nacional de Salud (Lima, Perú). Para el estudio se utilizaron 3 grupos de 6 animales. Al grupo control se administró 5ml/kg solución de cloruro de sodio al 0,9 % el segundo grupo se administró 300 mg/kg de extracto acuoso de alcachofa y al tercer grupo se administró 600 mg/kg de extracto acuoso la hoja de alcachofa. Los grupos experimentales recibieron tratamiento durante 30 días, luego fueron sometidos a estrés hipotérmico a temperatura de 4°C. Se reporta que la producción de malondialdehído de los grupos de experimentación tratados con dosis de 300mg/Kg, tiene mayor efecto antioxidante expresado en concentración de MDA (1,155 nM/ml) comparado con el grupo de dosis de 600mg/Kg de peso (2,369 nM/ml) con un nivel de significancia del 95%. Según los resultados obtenidos se concluye que la alcachofa tiene propiedades antioxidantes a menor dosis y evitaría la lipoperoxidación de las membranas celulares durante la hipotermia.

Palabras claves: *Cynara scolymus L.*, Extracto, Estrés hipotérmico, Malondialdehído.

Abstract

The present investigation work, of experimental type *in vivo*, of quantitative approach, had as objective general aim of this research was to determine the effect of the aqueous extract of the leaf of *Cynara scolymus* L. (artichoke) on the induced hypothermic stress *Rattus norvegicus* var *albinus*. For the assessment of stress was quantified, malondialdehyde using the colorimetric method of substances reactive to thiobarbituric acid (TBARS). We worked with 18 rats with an average of 210 ± 20 g from taken the National Institute of Health (Lima, Peru). For the study, 3 groups of 6 animals were used. The control group was given 5 ml / kg of sodium chloride solution at 0.9%, the second group was administered 300 mg / kg of aqueous extract of artichoke and the third group was administered 600 mg / kg of aqueous extract of artichoke. The experimental groups received treatment for 30 days, then underwent hypothermic stress at a temperature of 4°C. It is reported that the malondialdehyde production the group of 300mg / Kg, has a greater antioxidant effect expressed in MDA concentration (1,155 nM / ml) compared with group to the dose of 600mg / Kg of weight (2,369 nM / ml) with a level of significance of 95%. According to the results, it is concluded that the artichoke if it has antioxidant properties at lower dose and avoid the lipoperoxidation of cell membranes during hypothermia.

Key words: *Cynara scolymus* L, extract, Hypothermic stress, Malondialdehyde

CONTENIDO

	Pàg
	.
Agradecimiento.....	i
Dedicatoria.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
Contenido.....	V
Índice de figuras y tablas.....	Vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
III.HIPÒTESIS.....	28
IV. METODOLOGÍA.....	29
4.1 Diseño de la investigación.....	29
4.2 Población y muestra.....	30
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	33
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	34
4.5 Plan de análisis.....	37
4.6 Matriz de consistencia.....	38
4.7 Principios éticos.....	39
V. RESULTADOS	40
5.1 Resultados.....	40
5.2 Análisis de resultados.....	41
VI. CONCLUSIONES.....	44
Aspectos complementarios.....	44
Referencias bibliográficas.....	45
ANEXOS.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Pág.

FIGURA 01	Diseño clásico de estímulo creciente para extracto de hojas de <i>Cynara scolymus. L</i> (alcachofa).	29
FIGURA 02	Flujograma del proceso de obtención del extracto acuoso de alcachofa.	34
FUGURA 03	Volúmenes utilizados para la curva de calibración estándar, para evaluación del efecto antioxidante del extracto de <i>Cynara scolymus. L</i> (alcachofa).	37
TABLA 1	Producción de malondialdehído en suero de <i>Rattus norvegicus var. Albinus</i> expuestas a dosis de 300 mg/Kg y 600 mg/Kg peso de extracto acuoso de la hoja de <i>Cynara scolymus.L.</i> (alcachofa).	40

I. INTRODUCCION

Existe una gran tradición sobre el uso de plantas medicinales identificándose más de 90 especies utilizadas, sin embargo, muchas de ellas no cuentan con estudios científicos acerca de sus propiedades medicinales y su composición química, Las plantas medicinales constituyen una fuente natural de metabolitos secundarios con propiedades terapéuticas que se encuentran en diferentes partes de la planta puede ser la hoja, la flor, la raíz, etc. Una planta medicinal está formada por numerosas sustancias químicas, unas son sus principios activos. Con la aparición de la industria farmacéutica y los avances de farmacología, las plantas pasaron a ser fuente de principios activos de medicamentos de síntesis, para el control de muchas enfermedades crónicas ⁽¹⁻²⁾.

El interés por investigar plantas medicinales con propiedades terapéuticas, cada día aumenta. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que más del 80 % de la población mundial, utilizan las plantas como principal remedio medicinal para resolver sus problemas de salud y también tendrían las posibilidades de utilizarlas en la atención primaria de salud. En países de desarrollo como en los que están en vías de desarrollo, el uso y la comercialización de fitofármacos, productos naturales con fines medicinales, muestran un crecimiento acelerado en los últimos años. También se ha comprobado que algunas plantas que se utilizan con fines medicinales tiene principios activos que se emplean para la elaboración de fármacos comerciales ⁽²⁻³⁾.

El Perú es un país con una diversidad de flora única en el mundo, la misma que está representada por más de 25,000 plantas, de las cuales cerca de 1,400 tienen propiedades curativas. En el Perú se está incrementando los estudios para evaluar los efectos antioxidantes con la finalidad de aportar al conocimiento del uso de plantas, en algunos casos las plantas no terminan en una farmacopea de plantas medicinales, pero terminan incorporándose a las dietas que tendrían la categoría de alimentos funcionales. Los metabolitos activos con propiedades antioxidantes son sensibles a las técnicas de extracción por los que en la mayoría de los casos se pierden sus propiedades terapéuticas ⁽⁴⁻⁵⁾.

En el Perú según la Organización Mundial de Salud (OMS) refiere que el 89% de peruanos no consumen frutas y / o verduras para garantizar su ingesta suficiente de vitaminas, antioxidantes y fibra. Según datos del INEI al año 2017, sólo el 10.9% consume la cantidad de frutas y verduras recomendadas por la OMS. La ingesta insuficiente contribuye al desarrollo de muchas enfermedades como cáncer, cardiovasculares etc., Por el contrario, el consumo adecuado podría salvar hasta 1,7 millones de vidas cada año, siendo así su consumo esencial para la prevención de enfermedades. El ministerio de salud busca promover el consumo de frutas y verduras, en la población. La alcachofa es una verdura que tiene beneficios nutricionales y medicinales ⁽⁶⁾.

Una de las plantas que tiene esas propiedades es la *Cynara scolymus* L. (alcachofa) es reconocido uso alimenticio a lo largo de la historia, que se cultiva en países con climas templados, pertenece al género de las *Cynara* y a la familia *Asteraceae*. La planta de alcachofa es una hortaliza oriunda del Mediterráneo cuyo cultivo llegó al Perú a través de los españoles y ha sido sembrada en valles interandinos para el consumo local. En los últimos años su cultivo está aumentando rápidamente y se está extendiendo en varios valles tanto de la sierra como de la costa debido a su gran demanda para exportación. En el Perú en el 2007 se llegaron a sembrar cerca de 8,200 ha de las cuales aproximadamente 6,000 se encontraban en los departamentos de La Libertad, Lima, Ica y Arequipa con cultivares y 2,200 ha estaban ubicadas en la sierra.⁽⁷⁾

La industria de la alcachofa en el Perú tiene una importante oportunidad para su posicionamiento; en el 2007 se exportaron US\$ 64 millones correspondiente a alcachofa fresca y US\$ 13 millones en alcachofa en conserva, la alcachofa es el noveno producto de agro exportación, habiendo registrado un crecimiento de USD 49 millones en 2005 a USD 127 millones en 2014. La producción de alcachofa se incrementa consistentemente debido a que las exportaciones también se incrementan, es así que la producción de alcachofa de enero a febrero del 2016 es mayor en 44% con respecto al mismo periodo del año anterior. Las principales zonas de siembra, Ica (1626), Arequipa (923), La Libertad (898), Cuzco (627), Lima (600), y Ancash (580), totalizando 94% del total⁽⁸⁾.

Existen investigaciones sobre la alcachofa y sus usos medicinales debido a que contiene muchos principios activos con actividad farmacológicas que aportan beneficios en salud, como: hepatoprotectora (cinarina, flavonoides, polifenoles); colerético (cafeilquínicos, el ácido clorogénico, lactonas, sesquiterpénica), estos compuestos ayudan a proteger el hígado, reducir los niveles de colesterol en la sangre, tienen actividad anticancerígena, Además de estos beneficios, los compuestos mencionados anteriormente, también son responsables de la actividad antioxidante que se encuentran en diferentes partes de la alcachofa; que logran evitar efectos dañinos de los radicales libres en nuestro organismo⁽⁹⁻¹⁰⁾.

La actividad antioxidante de la alcachofa es atribuida por ácidos fenólicos tales como derivados de ácido cafeico, cinarina, luteolina, cinarósido, escolmósido flavonoides, apigenina también aporta fuente de inulina, fibra y minerales etc. Estos compuestos se han asociado con las capacidades de captación de extractos de alcachofa contra especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS)⁽¹¹⁻¹²⁾.

En las últimas décadas, la alcachofa y el interés de las investigaciones se han centrado principalmente en el alto contenido de polifenoles con propiedades antioxidantes, entre los cuales se destacan las catequinas y antocianinas. Como se sabe los antioxidantes son sustancias que en el cuerpo humano tienen la función principal de eliminación de radicales libres producidos por las células, quienes se encuentran relacionados directamente con los procesos de envejecimiento y muchas enfermedades crónicas del ser humano⁽¹³⁾.

Existen diferentes métodos para evaluar las propiedades antioxidantes de extractos de plantas como son: métodos científicos *in vitro*, *in vivo*. Los métodos *in vivo* tratan de simular las condiciones reales de los posibles efectos que ocasionarían los extractos de las plantas. Los métodos más comunes para las extracciones de metabolitos secundarios son: maceración, percolación o lixiviación etc. El método a usar depende de su naturaleza química de los metabolitos activos. La maceración es el más usado ya que nos permite extraer metabolitos polares como apolares⁽¹⁴⁾.

En nuestro trabajo para evaluar las propiedades antioxidantes de la alcachofa, usamos el método *in vivo*, los animales de experimentación fueron ratas blancas inducidas al estrés hipotérmico, ya que representa a un modelo útil, para entender como los cambios extremos favorecen al aumento del radical libre se podría controlar con el uso de plantas⁽¹⁵⁾.

Los radicales libres son sustancias inestables, altamente reactivas esto se debe a que han perdido un de sus electrones e intentan reponerlo tomando otras sustancias, esto crea una reacción en cadena que ocasiona grandes daños a nuestras células, que se manifiestan en buen número de enfermedades. El daño que ocasiona los radicales libres a las macromoléculas de la célula tiene el siguiente orden: lípidos mediante el proceso de lipoperoxidación lipídica, luego el daño proteínas y el ADN⁽¹⁶⁾.

Sabemos que los antioxidantes juegan un rol importante, un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, hoy muchos autores lo clasifican en antioxidantes primarios, secundarios y terciarios los cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular. Se utilizó el

método colorimétrico de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) que se basa en la reacción del MDA con el ácido 2-tiobarbitúrico que se cuantificó en espectrofotometría de absorción UV-visible en longitud de onda de 532nm^(17,18).

Debido al creciente interés por los productos naturales antioxidantes, que logran evitar efectos dañinos de los radicales libres en nuestro organismo, por todo lo mencionado se plantea el siguiente problema.

¿Cuál es el efecto del extracto acuoso de la hoja de *Cynara scolymus* L. (alcachofa) sobre el estrés hipotérmico inducido en *Rattus norvegicus var albinus*?

Objetivo general

Determinar el efecto del extracto acuoso de la hoja de *Cynara scolymus* L. (Alcachofa) sobre el estrés hipotérmico, inducido en *Rattus norvegicus var albinus*?

Objetivos específicos

Determinar el efecto del extracto acuoso de la hoja de *Cynara scolymus* L. (Alcachofa) a dosis de 300mg/Kg y 600mg/Kg en el estrés hipotérmico, inducido en *Rattus norvegicus var albinus*.

Determinar la dosis del extracto acuoso de alcachofa que tiene mayor efecto, inducido en el estrés hipotérmico en *Rattus norvegicus var albinus*

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Antecedentes:

Salekzamani, en el año (2018), publicó un estudio sobre la actividad antioxidante de la alcachofa, en su hallazgo de los estudios en animales indicó que la alcachofa en extracto aumentó el nivel de superóxido dismutasa, catalasa, glutatión y glutatión peroxidasa en el hígado, así como también disminuyó el nivel de malondialdehído en el hígado y el plasma de animales ⁽¹⁹⁾.

Magielse et al, en el año 2018 otro estudio donde se investigó la actividad antioxidante in vivo del extracto acuoso de hojas de *Cynarascolumus* (alcachofa), reporto que la hoja de alcachofa contiene 1,5% de ácido cafeicoquinico, flavonoides (0.15%), siendo el ácido clorogénico el más abundante (0,30%). El estudio concluye que el extracto de alcachofa disminuyó significativamente el estrés oxidativo expresados en niveles de malondialdehído (MDA) y 8-hidroxideoxiguanosina, mientras que los niveles de glutatión en eritrocitos aumentaron significativamente ⁽²⁰⁾.

Miccadei et al, en el año 2018 en Italia un estudio in vitro en células de Hepatocitos de rata cultivados y células HepG2 para evaluar las propiedades hepatoprotectoras de los extractos polifenólicos de alcachofa reporto que los hepatocitos tratados con extracto de alcachofa y se expusieron a H₂O₂ protegen a las células del estrés oxidativo, además previnieron la pérdida de glutatión reducido y la acumulación de MDA. El tratamiento de las células HepG2 durante 24 h con extracto de alcachofa redujo la viabilidad celular de forma dependiente de la dosis, sin embargo, no tuvo efectos prominentes en la tasa de muerte celular. Los hallazgos

indican que extracto de alcachofa tuvo un marcado potencial antioxidante que protege a los hepatocitos de un estrés oxidativo. Además, redujo la viabilidad celular y tuvo una actividad apoptótica⁽²¹⁾.

Otro estudio realizado por la empresa Dámper Perú, se evaluó el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de diversos extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.), cultivada en el norte del Perú provincia de La Libertad. Los resultados encontrados indican que el contenido de compuestos fenólicos expresados como mg de ácido gálico esta 93 y 117 mg por gramo de muestra, dependiendo del tipo de extracto y de la forma de ser procesado, también se menciona en el trabajo que la actividad antioxidante de un gramo de la muestra con mayor contenido de compuestos fenólicos es comparable a la actividad de 47 mg de ácido gálico lo cual favorecería a la disminución de estrés oxidativo^(23,22).

Cárdenas en el año 2018 se realizó otra investigación realizada en Alcachofa de la provincia de Huaral donde el objetivo fue determinación químico bromatológico, la cuantificación de sustancias bioactivos y la determinación de la capacidad antioxidante se encontró el contenido de flavonoides totales por el método espectrofotométrico para la parte comestible fue 0,67g% y brácteas, 1,33g%; el contenido de Vitamina C de la parte comestible fue 0,975g% para la brácteas fue de 0,380g%; con respecto a las antocianinas, no se identificaron en la parte comestible, y en la parte brácteas fue de 8,35 mg%. Se concluye que las bioactivas ayudarían a disminuir el estrés oxidativo.

Julca en el año 2018 se evalúa la actividad antioxidante in vitro del extracto las hojas de *Cynara scolymus* L. “Alcachofa” obtenidas del departamento de Ica, donde se utilizó el método 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo, se determinó que la capacidad antioxidante según el método desarrollado por Brand - Williams de los extractos de las hojas *Cynara scolymus* L. “alcachofa” presentaron capacidad antioxidante in vitro frente al DPPH, siendo el extracto hidroetanólico que presentó mayor porcentaje de captura de radical del DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)⁽²⁵⁾.

Boncun en el año 2018 en nuestro ámbito local un estudio que tenía como objetivo evaluar la capacidad antioxidante in vitro de los extractos acuosos e hidroetanólicos de las hojas de *Cynara scolymus* L. “alcachofa”, procedentes del distrito de Virú, provincia de Trujillo, región La Libertad frente al 2, 2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), concluyo que los extractos hidroetanólico y acuoso de las hojas *Cynara scolymus* L. “alcachofa” presentaron capacidad antioxidante in vitro frente al 2, 2-difenil-1-picrilhidrazil, el extracto hidroetanólico presentó mayor porcentaje de captura del radical DPPH⁽²⁶⁾.

2.2 Bases Teóricas:

Plantas Medicinales

Según la organización mundial de la salud menciona la importancia de la medicina tradicional indicando que comprende un conjunto de conocimientos teórico y prácticos explicables o no, utilizados para la prevención y tratamiento de algunos trastornos físicos, mentales y sociales basados exclusivamente en la experiencia y la observación, que son transmitidos verbalmente o por escrito de una generación a otra”, la organización mundial de la salud fomenta el uso racional de plantas medicinales como medida alternativa a la terapias farmacológicas estándares⁽²⁷⁾ .

Las plantas medicinales son aquellas que algunos de sus órganos contienen principios bioactivos, los cuales, administrados en dosis recomendadas, ocasionan efectos beneficiosos para tratar alguna enfermedad. Aproximadamente unas 260.000 especies de plantas que se conocen en la actualidad, solo el 10% se les consideran plantas con propiedades medicinales y están incluidas en protocolos médicos de fitoterapia ⁽⁴⁻²⁷⁾.

La investigación de plantas con propiedades medicinales ha permitido mejorar los conocimientos de la fitoterapia o herbolaria (del latín herba, 'hierba') que es la ciencia que estudia el uso de los extractos de plantas medicinales o sus derivados con fines terapéuticos, para prevención o tratamiento. El conocimiento de las plantas medicinales es un desafío para muchos investigadores, dado que la caracterización e identificación de los metabolitos secundarios con propiedades farmacológicas implica un trabajo multidisciplinario. La identificación de los

posibles principios bioactivos confirma numerosos efectos benéficos, muchos de ellos conocidos por diferentes culturas milenarias ⁽²⁸⁾.

Las plantas por muchos años han sido nuestra fuente principal en nuestra alimentación y en la obtención de medicinas, su uso ha sido de vital importancia en diferentes culturas del mundo así por ejemplo los egipcios utilizaban los remedios homeopáticos, como se encuentran documentados en los papiros de Ebers. Los griegos y los romanos fueron influenciados por la tradición de los egipcios y existen muchos documentos escritos que hablan sobre los beneficios de las plantas. En China y en la India el conocimiento de las plantas medicinales forma parte de la cultura popular y ha jugado un rol importante para el tratamiento de muchas enfermedades ⁽³⁻²⁸⁾.

En la actualidad muchas industrias farmacéuticas usan las plantas medicinales como recurso primario para obtener principios bioactivos, que luego son patentadas para algún uso terapéutico. Otras formas de usos de las plantas medicinales son las preparaciones de extractos estandarizados y son denominados fitofármacos. En el Perú y en otros países de América del Sur las incorporaciones de plantas medicinales a los sistemas de salud deben reunir tres requisitos importantes: calidad, eficacia y seguridad ⁽²⁹⁾.

La calidad de las plantas medicinales con fines terapéuticos, deberían ser cultivadas, recolectadas, manufacturadas y almacenadas en condiciones estándares, con la finalidad de extraer o utilizar sus metabolitos secundarios en beneficio de la salud de los pacientes y evitar riesgos innecesarios, que aumentarían los costos en los sistemas de salud ⁽¹⁻²⁹⁾.

La eficacia de una planta medicinal está determinada por todos los metabolitos secundarios presentes en el vegetal, validados por los usos tradicionales o el método científico, en la actualidad se pretende evaluar la eficacia mediante estudios clínicos; para confirmar científicamente sus propiedades terapéuticas. La toxicidad de las plantas medicinales es muy baja en concentraciones recomendadas, sin embargo, es necesaria su monitorización durante el tiempo que se está usando ⁽²⁹⁾.

Plantas Medicinales en el Perú

En el Perú recientemente se está incorporando a los tratamientos farmacológicos, la medicina complementaria, basándose en información científica de las plantas medicinales, una de las medidas que se está tomando es la elaboración de un Petitorio Nacional de Plantas Medicinales, con la finalidad de fomentar su uso racional. Todo esto permite que la medicina tradicional sea revalorizada y utilizar preparados magistrales avalados científicamente con la finalidad de ayudar en la prevención o tratamiento de las enfermedades ⁽²⁸⁾.

El 23 de diciembre de 1997 se promulgo el Decreto Supremo N° 010-97-SA que establece la necesidad de implementar controles para los productos farmacéuticos estándares y de origen natural, con la finalidad de asegura la comercialización segura los productos farmacéuticos. También se indica que la venta de productos vegetales es sin receta médica, con excepción de las plantas medicinales de alto grado de toxicidad. Según el Reglamento de Establecimientos Farmacéuticos para el Perú, menciona que, en las farmacias y boticas, está en las condiciones de

dispensar productos farmacéuticos sintéticos o naturales que tengan garantías de calidad y serán adquiridas bajo receta médica o fórmulas magistrales ⁽³⁰⁾.

Ley General de Salud en su Art. 68°, menciona que los establecimientos no farmacéuticos, no están autorizados para el expendio de productos farmacéuticos obtenidos de plantas medicinales, dado que no cumple las condiciones mínimas que aseguren la genuina de producto natural, por no contar con un profesional Químico-Farmacéutico regente ⁽³¹⁾.

La Ley N° 273000, conocida como “Ley de aprovechamiento sostenible de las plantas medicinales”, en el artículo 9, establece que es importante fomentar la elaboración de la Farmacopea Herbolaria y la implementación de formulación del Petitorio Nacional de Plantas Medicinales, siguiendo los lineamientos de la OMS, basados en la investigaciones locales y regionales de las plantas medicinales que demuestran tener beneficios farmacológicos. Estableciendo que las universidades tienen que estar comprendidas con la investigación de plantas medicinales, para contribuir en la revaloración de productos naturales de interés terapéutico o nutracéutico ⁽³²⁾.

En la actualidad son pocas las universidades que apuestan por la investigación en plantas medicinales, las razones podrían ser la falta de equipamientos o laboratorios especializados para realizar los diferentes tamizajes fitoquímicos. Las universidades y en particular las facultades de ciencias de la salud deberían asumir una posición activa en las áreas de investigación de productos naturales, considerando su compromiso con buscar alternativas terapéuticas complementarias diferentes a las terapias estándares ⁽³²⁾.

Venta de Plantas Medicinales en el Perú

En el Perú no está regulada la venta de plantas medicinales, la oferta se realiza sin estandarización de plantas medicinales por sus beneficios farmacológicos, además en la mayoría de los casos no se considera a profesionales capacitados o autorizados para esta actividad, esto ha ocasionado el libre comercio en las diferentes regiones de nuestro país, en la mayoría de los casos se mal informan los beneficios o riesgos que pudieran ocasiona en la salud de los pacientes. Todo esto indica la necesidad de realizar estudios de validación de plantas con aparentes propiedades terapéuticas, con la finalidad de evitar riegos a la salud del paciente⁽³³⁾.

ALCACHOFA

Origen

La alcachofa (*Cynara scolymus* L.) tiene su origen en la Europa mediterránea donde fue cultivado hace 2000 a 3500 años antes de cristo, por griegos y romanos tiene un valor nutritivo y el sabor esta hortaliza hacia que para ellos sea un alimento especial. Es una Dejó de consumirse con la caída del imperio romano y posteriormente reapareció en los países del Mediterráneo a fines de la Edad Media, la alcachofa es una planta oriunda del Mediterráneo, Mediterráneo cuyo cultivo llegó al Perú a través de los españoles y ha sido sembrada en valles interandinos para el consumo local. El Perú se cultiva en las regiones de Arequipa, La Libertad, Ica y Junín entre otros lugares^(7,-34).

Cultivo

En el Perú la alcachofa se cultiva en climas templados, en regiones subtropicales, lo cual constituye en una ventaja comparativa frente a otros países, ya que permite una producción constante del cultivo de la alcachofa durante casi todos los meses del año. Es importante tener en cuenta el suelo ya que la alcachofa tiene un sistema radicular fuerte y profundo. Se puede cultivar por la semilla o por hijuelos. La plantación se realiza durante los meses de julio y agosto. Suele aprovecharse generalmente durante dos o tres años seguidos del cultivo, con el crecimiento foliar de la planta. La cosecha es anual y sus frutos son durante su índice de madurez. ⁽³⁵⁾.

Variedades de alcachofas cultivadas

Las variedades existentes son semiperenne y Anual más conocidas a nivel mundial. Las alcachofas pueden clasificarse por la presencia o ausencia de espinas en los capítulos. Alcachofas con espinas tenemos la criolla, se caracteriza por tener excelente sabor, textura fibrosa y color morado. Son consumidas en el mercado internacional debido a que se aprecian sus fondos en conserva. Y las alcachofas sin espinas, se caracterizan por tener brácteas externas ligeramente redondas y poseen un sabor suave, textura sin fibra, se cultivan en los departamentos de Junín, La Libertad Ica y Lima. En el Perú las variedades más cultivadas Green Globe, Blanca de Tudela, Criolla, Lorca entre otras: la Green Globe es de tamaño grande, forma globosa, color verde y sin espinas, alto grado de producción y excelente sabor ⁽³⁵⁾.

Producción de alcachofas en el Perú

Unos veinte países producen alcachofa siendo Italia, el más grande productor. El Perú el noveno producto de exportación, habiendo registrado un crecimiento de USD 49 millones en 2005 a USD 127 millones en 2014. Siendo los departamentos con mayor producción de alcachofa, a nivel nacional, en el año 2014 fueron Arequipa, La Libertad e Ica, La alcachofa puede ser consumida en fresco o industrializada. Normalmente en fresco, se consume cocida. La producción de alcachofa se incrementa debido a las exportaciones también, los meses de mayor producción enero y febrero en el 2016 llegando a un porcentaje 94% ⁽⁸⁻³⁵⁾.

Clasificación taxonómica ⁽³⁶⁾

Reino: Vegetal.

División: Espermatofita.

Clase: Dicotiledónea

Orden: Asterales.

Familia: Asteraceae

Género: Cynara

Especie: scolymus.

Nombre científico: Cynara scolymus L.

Nombre Común: Alcachofa

Nombre en inglés: Artichoke

Características Botánicas.

Su nombre botánico es *Cynara scolymus* L. (*Asteraceae*). Vulgarmente se conoce como alcachofa o alcachofera. En inglés su nombre vulgar es *artichoke*, en francés *artichaut*, en alemán *Artischoke*, en italiano *carciofo*, y en portugués *alcachofra*.

La alcachofa es reconocida por uso alimenticio a lo largo de la historia, que se cultiva en el país con climas templados, es una gran planta herbácea, vivaz, de raíz gruesa y de tallo alto y erguido. Las hojas son pinnatilobadas, de más de 60 cm de longitud, casi en roseta. El color característico de las hojas da nombre a la denominación científica de la alcachofa, ya que en griego y en latín, *cinara* significa «ceniciento». La planta alcanza hasta 1 m de altura, y necesita suelos profundos, ricos en materia orgánica y abonos fuertes. En fitoterapia se emplean las hojas frescas y desecadas, que deben obtenerse poco antes de la floración, o una vez madurado el fruto ⁽²⁴⁾.

Raíz: La *Cynara scolymus* L (alcachofa) presenta raíz pivotante, sistema radicular grueso y carnosos, de la que salen las hojas en el primer año y los tallos en segundo año, donde se acumulan las reservas alimenticias de la hortaliza, dan paso al rebrote vegetativo o por trozos del rizoma (verano) para multiplicarse por semilla de la planta ⁽²⁴⁾.

Tallos: Los tallos terminan en grandes capítulos de volumen variable, rodeados de un involucre a cuyas brácteas se les llama hojas, y son carnosas por la base, así como en el receptáculo es robusto, grueso, acanalados longitudinalmente que posee un extremo donde se desarrolla una inflorescencia y ramificado se

desarrollan las alcachofas de menor tamaño puede llegar a medir hasta 1 metro de altura, donde se desarrolla una florescencia ⁽²⁴⁾

Sistema radicular: es importante, porque hay una acumulación y en donde se acumulan depósitos alimenticios que son elaborados por la misma planta, que puede adaptarse a diferentes tipos de suelos la cual la hace extraordinariamente potente.

Hojas: las hojas son parte más utilizadas para realizar investigaciones por alto contenido de principios activos, se insertan alrededor de un tallo, formando una roseta, hendidas, presentan una superficie cubierta de vellosidad, con la cara superior verde oscuro e inferior blanquecina, cubiertas de denso pelaje blanco y recorridas por nerviaciones marcadas, las hojas alternas, las hojas jóvenes son muy crespas, delgadas con el haz de color verde claro ⁽²⁴⁾

Flores: presentan las flores agrupadas de manera inflorescencia, consta de un receptáculo y brácteas (verdes) que protegen las flores son tubulosas de color azul-violeta, con terminaciones gruesas, y estas son recubiertas por escamas membranosas iguales y voluminosas.

El fruto: son aquenios ovalados, con papilas plumosas, secos conteniendo una sola semilla provista de escamas, siendo más largo que ancho con un color grisáceo, se consideran como la semilla durante un tiempo aproximado de 6 a 12 años de su facultad germinativa.

Semillas: es la terminación del ciclo de floración de la planta cynara scolymus, las semillas llegan a medir de 5 a 7 mm, color grisáceo con rayas más oscuras y se encuentran en el interior del fruto ⁽²⁴⁻³⁷⁾.

Partes Utilizadas

La alcachofa (*Cynara scolymus* L.) se suele aprovechar su corazón mayoritariamente (40%) y por ello las hojas y sus tallos (60%) son desechados, La principal parte de la alcachofa empleada para la elaboración de extractos son las hojas y tallos, cuyos principios activos son compuestos fenólicos, principalmente derivados de ácidos cafeilquínicos, incluyendo los ácidos cafeico, luteolina y dicafeilquínico (cinarina) Se considera que la hoja de la alcachofa posee acción antioxidante que logran evitar efectos dañinos de los radicales libres en nuestro organismo ⁽³⁷⁾.

Composición Química

Las hojas de alcachofera contienen una cantidad importante de compuestos de naturaleza fenólica. Ácidos fenólicos como los ácidos cafeilquínicos (ac. clorogénico, criptoclorogénico, neoclorogénico y cinarina [ácido 1,3-dicafeilquínico]) y flavonoides (luteolina, cinarósido, escolimósido, cinarotriósido), apigenina, antocianinas como 3-cafeilglucósido de cianidina, lactonas sesquiterpénicas amargas (cinaropicrina), alcoholes triterpénicos y fitosteroles, mucílagos, vitaminas y sales potásicas y magnésica, según estudios realizados en diferentes partes de la alcachofa se reveló que su contenido de polifenoles ,cinarina ,apigenina y antocianinas son antioxidantes potentes(22-37).

Usos Medicinales

la alcachofa (*Cynara scolymus* L) contiene numerosos compuestos químicos con actividad farmacológica, como ácidos fenólicos, cinarina, ácido clorogenico

flavonoides y sesquiterpenos, tendrían actividad hepatoprotectora, colerética, que ayudarían a proteger el hígado, reducir los niveles de colesterol en la sangre, tienen actividad anticancerígena y además de estos beneficios, los compuestos mencionados anteriormente, también son responsables de la actividad antioxidante que se encuentra en diferentes partes de alcachofa, que ayudarían a la prevención de muchas enfermedades crónicas causadas por los radicales libres⁽³⁸⁾.

En la actualidad hay numerosos estudios a que han demostrado que la alcachofa tiene ciertas propiedades fisiológicas y beneficiosas para la salud, tales como actividad antibacterial, antioxidantes, hepatoprotectora, anticarcinogénicas hipocolesterolemias, que ayudarían a inhibir la biosíntesis de colesterol y la oxidación de lipoproteínas de baja densidad. Muchas de estas propiedades estarían relacionadas con las propiedades antioxidantes de sus compuestos fenólicos⁽³⁸⁾.

Compuestos fenólicos en las plantas

Los compuestos fenólicos son un amplio grupo de sustancias con diferentes estructuras químicas son considerados metabolitos secundarios de las plantas que desempeñan diversas funciones fisiológicas y a su vez les otorga múltiples efectos benéficos para la salud humana, estos incluyen a los fenoles simples, complejos polifenoles, flavonoides entre otros. Los flavonoides son el mayor grupo de fenoles vegetales y los más estudiados tenemos las antocianinas y catequinas etc. los polifenoles son identificados por su color verde, sabor y textura de los alimentos y las plantas por su contenido de principios activos que con actividad

terapéutica lo que ha permitido su utilización por la industria farmacéutica, no solo por las características organolépticas sino por su actividad antioxidante⁽³⁹⁾.

las plantas con actividades antioxidantes naturales (hidrosolubles y liposolubles) liposolubles son necesarios para evitar la oxidación de la membrana celular mientras que los hidrosolubles contribuyen a evitar la oxidación del medio extracelular pueden funcionar como compuestos reductores, interrumpen la formación de radicales libres, Los radicales libres se forman en el organismo mediante la respiración aeróbica y existen en diferentes formas como: anión superóxido, hidroxilos, peróxidos y alcóxilos. Una las plantas con esas propiedades es la alcachofa, debido a que posee principios activos con actividad terapéuticas tenemos, polifenoles, flavonoides, derivados del ácido cinámico, tocoferoles, catequinas y antocianinas, vitamina E, vitamina C⁽³⁹⁾.

Antioxidantes

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, que puede ser lípidos, proteínas y ADN o cualquier otro tipo de molécula, la función de una antioxidante se considera en proceso de óxido-reducción que remite 2 momentos a) oxidación que implica pérdida de electrones de hidrogeno con la pérdida de oxígeno, b) reducción implica ganancia de electrones de hidrogeno con la pérdida de oxígeno. Así el oxidante se reduce al reaccionar con aquella molécula que oxida. Debido a este proceso cotidiano en el organismo humano los antioxidantes son reductores debido a las propiedades de óxido- reducción o balance redòx.⁽⁴⁰⁾.

Los antioxidantes se clasifican en naturales y sintéticos. Los antioxidantes sintéticos son utilizados mayormente en los alimentos y entre los productos con antioxidantes más consumidos son vitamina C etc., los antioxidantes naturales tenemos como los polifenoles, se caracterizan debido a la presencia del ortodiol o catecol en la estructura o la presencia de uno o varios anillos bencénicos teniendo como grupo funcional uno o más grupos hidroxilo. Una de las fuentes que contiene polifenoles es la alcachofa. Los polifenoles también actúan como antioxidantes, capaces de neutralizar radicales libres, previniendo daños celulares. Sin embargo, este mecanismo antioxidante no está limitado a la neutralización de especies reactivas de oxígeno (ROS) e incluye la regulación por incremento de las enzimas antioxidantes y la modulación de la señalización celular y la expresión génica ⁽⁴⁰⁾.

Clasificación de los Antioxidantes

El organismo ha desarrollado una serie de mecanismos de defensa antioxidante enzimática y no enzimática, diseñados para protegerse de la acción de los radicales libres y de las especies reactivas de oxígeno (ROS). En dependencia de su mecanismo de acción o función se clasifica según el sitio donde ejercen su acción y según su origen ⁽⁴¹⁾.

-Desde el punto de vista bioquímico, las defensas antioxidantes se clasifican en antioxidantes enzimáticos como catalasa, superóxido dismutasa, glutatión reductasa y glutatión peroxidasa; antioxidantes no enzimáticos como vitaminas A, E, C.

- Desde el punto de vista de la fisiología celular, los antioxidantes se clasifican en antioxidantes primarios, secundarios y terciarios.

Los antioxidantes primarios: son sustancias propias de la célula (constitutivo), evitando el aumento de radicales libres, originando por la actividad metabólica celular.

Superoxido dismutasa (SOD): Esta enzima tiene la función de catalizar la dismutación del radical libre $O_2 \bullet-$ a $H_2 O_2$, el cual es menos reactivo y puede llegar a ser degradado por otras enzimas como la catalasa.

Glutación peroxidasa (GPX): se localiza en citosol y la mitocondria y considera como principal enzima de defensa antioxidante en condiciones de ``bajos`` niveles de estrés oxidativo.

Glutación reducido (GSH): se considera la defensa más importante contra radical libre, posee GSH-P_x celular; se encuentra en todas las células y reduce el peróxido de hidrogeno y los convierte en agua y alcohol. GSH-P_x fosfolípido hidroperóxido: su función es proteger contra la lipoperoxidación mediante la reducción de ácidos grasos en las membranas celulares, previene también la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad.

Catalasa (CAT): es una hemoproteína que se concentra en peroxisomas y mitocondrias, encargada de catalizar la descomposición del peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno.

Los antioxidantes secundarios: son la segunda línea de defensa al aumento de los radicales libres, está formado por sustancias que tienen propiedades enzimáticas y estas pueden ser glutatión, estrógenos, vitamina E, vitamina C, Melatonina, B-carotenos, otros.

Los antioxidantes terciarios: viene hacer la última defensa que tenemos, lípidos poliinsaturados, proteínas y ADN⁽⁴¹⁾.

Daño inducido por radicales libres

El aumento del contenido intracelular de radicales libres sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se produce el estrés oxidativo, las moléculas más afectadas generalmente son los lípidos ocasionando un aumento en la permeabilidad celular y aumento de sustancias pro inflamatorias, se sabe que liperoxidación cumple 3 fases Iniciación, propagación y terminación. En la terminación existe un aumento del MDA, esta sustancia permite medir indirectamente el aumento de radicales libres⁽¹⁹⁻⁴²⁾.

Radicales Libres, Especies Reactivas de Oxígeno

Los radicales libres (RL) son moléculas capaces de existir de forma independiente conteniendo en su última orbita uno o más electrones desapareados, son muy inestables y altamente reactivas con capacidad para combinarse inespecíficamente, con las diferentes moléculas que integran la estructura celular y los derivados de estas, y con la capacidad de atacar cualquier tipo de biomolécula.

Por su configuración electrónica estos radicales presentan una vida media corta. Al actuar, se activa una reacción en cadena que podría incluso llevar a la muerte de la célula⁽⁴²⁾.

La producción de radicales libre es un fenómeno natural, dinámico y continuo, el daño que estos compuestos puedan provocar depende de un delicado equilibrio con los sistemas antioxidantes que protegen a las células de nuestro organismo. El radical libres de interés fisiopatológicos es el hidroxilo, probablemente por ser el

más tóxico, por su elevado poder de reacción con otras moléculas, el radical libre hidroxilo se encuentra asociado con muchas enfermedades crónicas degenerativas (42).

El daño que ocasiona los radicales libres a las macromoléculas de las celulares tiene un orden, frecuentemente el daño inicia con los lípidos mediante el proceso de peroxidación lipídica, luego seguiría el daño de las proteínas y finalmente el daño del ácido desoxirribonucleico, frecuentemente se utilizan productos finales para medir los daños ocasionados por los radicales libres, el más usado es malondialdehído (MDA), que es producto final de la lipoperoxidación. Todas las moléculas tienen electrones como componentes periféricos y el comportamiento de estos determina las propiedades de las moléculas. La estabilidad de una molécula depende del apareamiento de sus electrones, por lo tanto, cualquier situación en la cual una especie sea generada con un par electrónico desapareado podría resultar en una entidad potencialmente reactiva denominada radical libre (42).

Estrés Oxidativo

El estrés oxidativo es causado por un desbalance entre la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente o reparar el daño resultante. El estrés oxidativo crónico puede causar la muerte celular, una oxidación moderada puede desencadenar la apoptosis, mientras que si es muy intensa puede provocar necrosis. El estrés oxidativo proviene a causa de una disminución de antioxidantes, aumento de radicales libres. El estrés oxidativo en condiciones severas puede afectar el metabolismo celular,

atreves de la ruptura de macromoléculas de lípidos, proteínas y ADN. El cual se relaciona con diferentes enfermedades, así como con el envejecimiento.

El proceso de envejecimiento está estrechamente ligado a la generalizada peroxidación de ácidos grasos de la membrana celular y daño al ADN. En las membranas celulares se alteran los gradientes iónicos y la impermeabilidad, pierde su cualidad de barrera selectora y la célula muere⁽⁴³⁾.

Extractos de plantas medicinales:

La investigación de plantas medicinales permite la búsqueda de nuevos ensayos capaces de guiarnos hacia la purificación y fraccionamiento de extractos vegetales en estudio, por eso necesario usar sistemas *in vitro* para analizar los compuestos químicos, quienes presentan una actividad terapéutica o estudios que ya hayan sido realizados, para así cuando se realice pruebas *in vivo* sea de manera más rápida y económica, como es el caso de la alcachofa ,primo se realizó una revisión de los estudios *in vitro* para realizar luego realizar el trabajo *in vivo*. Los extractos evaluados para la actividad antioxidante fueron en 2 concentraciones⁽⁴⁴⁾.

Extracciones farmacéuticas:

Existen diferentes métodos de extracción de interés farmacéutico sin embargo los más comunes utilizados en plantas medicinales, con la finalidad de obtener metabolitos activos con propiedades terapéuticas, la clasifican de los métodos de extracción más comunes para algunos autores son los siguientes: maceración y percolación o lixiviación etc.⁽¹⁴⁻⁴⁴⁾.

Maceración

Existen diferentes formas de maceración que dependen del grado alcohólico y de la naturaleza química de los metabolitos activos de interés farmacológico, en nuestra investigación se utilizó maceración con alcohol de 70° dado que nos permito extraer sus sustancias bioactivas con propiedades polares y apolares. El material crudo previamente triturado se pone en contacto duradero con cantidad suficiente de solvente, en un frasco de color ámbar cerrado a temperatura ambiente durante 7 -14 días hasta el agotamiento de la droga vegetal. Posterior a este tiempo la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto ⁽⁴⁴⁾.

Espectrofotometría

Se denomina espectrofotometría a la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe una sustancia química en función de la longitud de onda. Existen diferentes tipos siendo el más común en los trabajos de investigaciones la espectrofotometría UV-visible, en nuestra investigación permitió determinar la cantidad de malondialdehído (MDA) a una longitud de onda 532nm ⁽⁴⁵⁾.

III. HIPOTESIS

H₀ El extracto acuoso de la hoja de *Cynara scolymus L.* (alcachofa) no tiene efecto protector sobre el estrés hipotérmico inducido en *Rattus norvegicus var albinus*

H₁ El extracto acuoso de la hoja de *Cynara scolymus L.* (alcachofa) tiene efecto protector sobre el estrés hipotérmico inducido en *Rattus norvegicus var albinus*

IV. METODOLOGÍA

En presente trabajo de investigación es experimental. De enfoque cuantitativo.

4.1 Diseño de la investigación

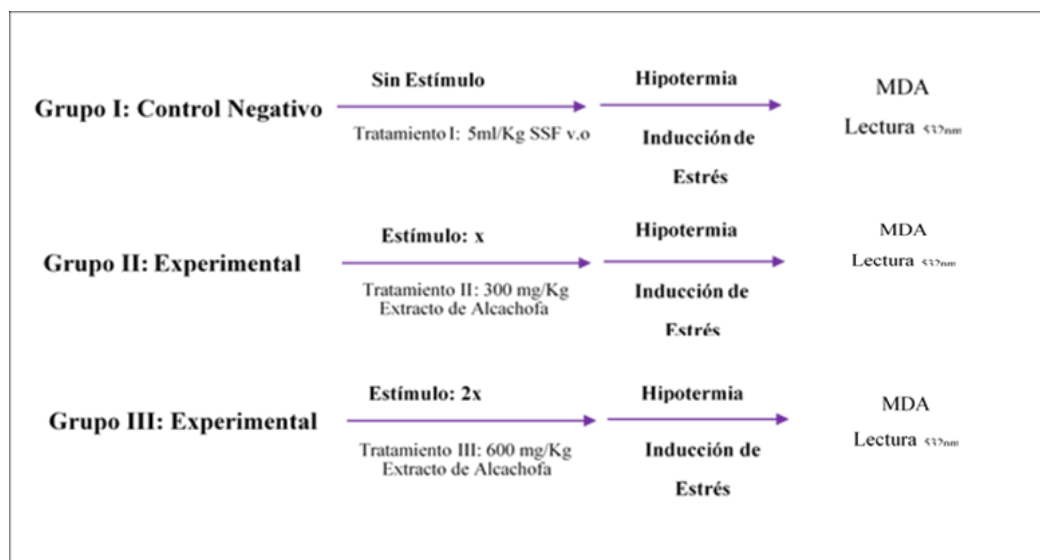
Se realizó un estudio experimental “*in vivo*”. Considerando un grupo control y 2 grupos experimentales

Para el estudio se utilizó el extracto acuoso de las hojas de *Cynara scolymus L.* (alcachofa) y 18 especímenes de la línea en *norvegicus var albinus* lo cual se formaron 3 grupos de 6 animales cada uno distribuidos aleatoriamente de la siguiente forma.

Distribución de los animales de experimentación

Los animales serán identificados para cada grupo de la siguiente manera.

Figura 1: Diseño clásico de estímulo creciente para extracto de hojas de *Cynara scolymu. L* (alcachofa).



Leyenda:

- **sin estímulo:** tratados con 5ml/Kg peso de solución de cloruro de sodio al 0,9 %, administrado atreves de sonda.
- **Estímulo x:** tratados con extracto acuosa en dosis de 300 mg/kg de peso corporal, administrado atreves de sonda.
- **Estímulo 2x:** tratados con extracto acuosa en dosis de 600 mg/kg de peso corporal, administrado atreves de sonda.

Luego que culmino el periodo administración de 30 días, se procede a la inducción al estrés hipotérmico. Para la toma de muestra sanguínea los animales fueron anestesiados con Halatal usando la vía intraperitoneal.

4.2 Población y muestra

Población vegetal

La población vegetal en estudio estuvo constituida por la especie vegetal de *Cynara scolymus L.* (alcachofa), es una hortaliza oriunda del mediterráneo, cultivada en climas templados, esta planta llega a medir hasta 1cm de altura, tiene hojas de color verde intenso y las más utilizadas para realizar investigaciones por su contenido de principios activos.

Muestra vegetal

La muestra vegetal estuvo constituida por las hojas de *Cynara scolymus L.* (alcachofa), fue traída de Huamachuco de la provincia Sánchez Carrión departamento la libertad, situada a una altura de 3 169 msnm y a 184 km de Trujillo. El clima es templado, moderadamente lluvioso y con amplitud térmica

moderada. El cual se elabora el extracto en el laboratorio de la facultad de farmacia y bioquímica de universidad Uladech – sede Trujillo.

Criterios de inclusión

Recolección de la planta, la especie vegetal fue identificada *Cynara scolymus L.* (alcachofa), Herbario de la Universidad Nacional de Trujillo, el cual otorgó una constancia de la planta en estudio (Ver anexo 3). Las hojas sin presencia de hongos, secado, molienda, maceración, preparación del extracto acuoso.

Población biológica

Para evaluar el efecto antioxidante se utilizó 18 ratas machos de la línea norvegicus con peso promedio de 210 ± 20 g. procedentes del Instituto Nacional de Salud (Lima, Perú). Todos los animales fueron mantenidos en condiciones normales de humedad, temperatura (25 ± 1 0C) y luz (12 h día: 12 h noche). Todos los animales tuvieron acceso libre al alimento y agua, se considera una semana para la climatización.

Criterio de Inclusión

- ❖ Tener en cuenta el tiempo de administración.
- ❖ Somático: peso, forma, sexo
- ❖ Genético: por su igualdad o similitud biológica
- ❖ Sanitario: sin gérmenes (axenicos), gérmenes controlados (gnotoxenicos) o normales sanos o certificadas por INS.

Criterio de Exclusión

- ❖ Ratas con alteraciones que muestren signos evidentes de enfermedad.
- ❖ Ratas que hayan tenido estudios anteriores.

4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Tipo de medición
Independiente El extracto acuoso de la hoja de <i>Cynara scolymus L.</i> (alcachofa)	El extracto de alcachofa es una Planta medicinal que contiene apigenina, luteolina y flavonoides estas sustancias probablemente disminuirían el daño oxidativo en las células, ocasionado por los radicales libre.	El extracto de alcachofa será preparado según recomendaciones estándares.	Dosis 300 mg/kg. 600 mg/kg	Cualitativa nominal
Dependiente Estrés hipotérmico inducido en <i>Rattus norvegicus var albinus.</i>	Es la respuesta del organismo vivo al cambio brusco de la temperatura , caracterizado por el aumento del cortisol	Para evaluación del estrés hipotérmico se determina la contracción de MDA (Malondialdehido).	MDA (nM/ml)	Cuantitativo de razón

Fuente: Realizado por la alumna investigadora.

4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos.

Maceración de la Muestra Vegetal

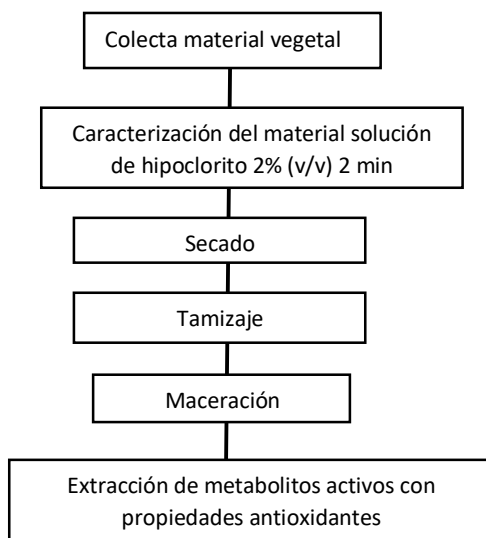
Para realizar la maceración se recolecto 8Kg de hojas de alcachofa de los cuales fueron seleccionadas (aptas para el consumo humano), se sumergieron en una solución de hipoclorito al 2% (v/v) por dos minutos para eliminar algunos contaminantes como tierra, bacterias y polvo. Después se enjuagarán en agua destilada dos veces para eliminar el cloro residual.

Se realizó un secado a temperatura de ambiente, bajo sombra y ventilación por 30 días, todos los días se daba vuelta, una vez que estaban secas se recolecto en papel de aluminio para poder llevarlo a una molienda, se hizo con molino de mano por 3 a 5 veces, se hizo tamizaje, se utilizó tamiz N°18, N°30, N°50.

El polvo obtenido fue de 500g el cual se fue macerado con alcohol de 70° GL, se utilizó 2.5g muestra por 50ml alcohol de 70 °, el tiempo de maceración fue de 7 días, con intervalos de 2 agitaciones por día. Trascurrido el tiempo antes mencionado, se filtró y se concentró mediante Baño María, para posteriormente determinar la cantidad del extracto obtenido.

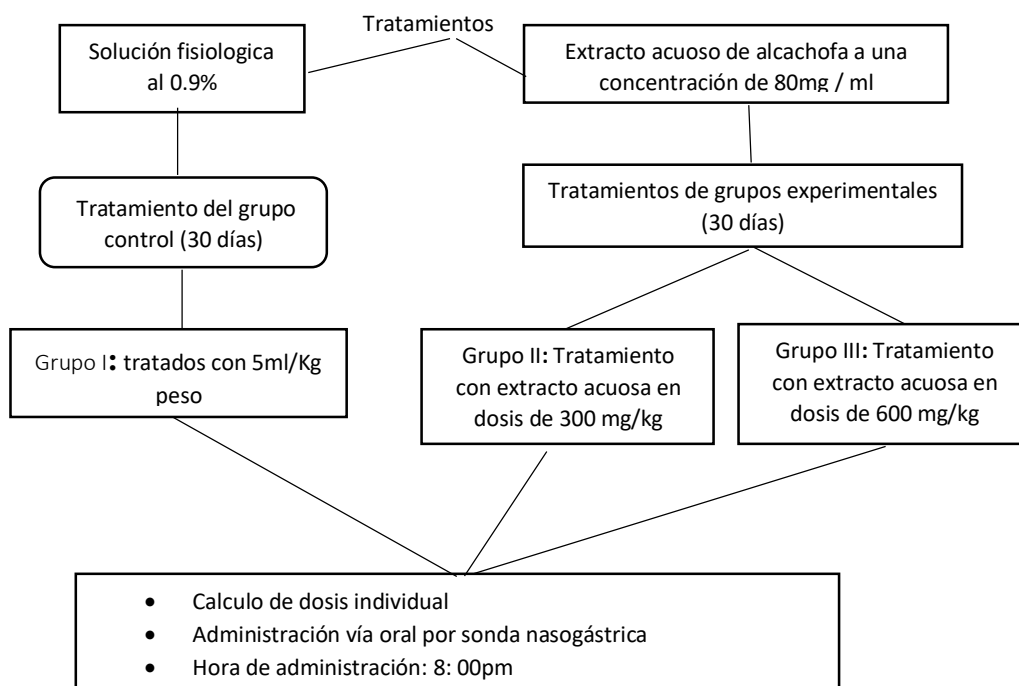
El extracto obtenido se suspendió con agua destilada y se obtuvo una concentración de 80mg/ml.

Figura 2: *Flujograma del proceso de obtención del extracto de alcachofa.*



Fuente: elaborado por la autora

Administración del extracto acuoso en los grupos experimentales.



Fuente: elaborado por la autora

Inducción del estrés agudo por Hipotermia en ratas

Los grupos tratados con el extracto acuoso de alcachofa y solución fisiológica por 30 días, fueron inducidos al estrés agudo por hipotermia, se consideró el siguiente procedimiento.

En un recipiente de vidrio que tiene las siguientes medidas 30 de altura y 25x25 cm de ancho, se colocó agua a una temperatura de 4°C.

Cada animal de experimentación fue, colocado en el recipiente por un tiempo de 60 segundos, por 3 veces consecutivas, con un periodo de recuperación de 20 segundos., el inicio de la prueba será a las 09:00 am.

Trascurrido, la inducción hipotérmica, cada animal experimentación, fue anestesiado con Halatal usando la vía intraperitoneal, para la toma de muestra se realizó mediante la técnica punción cardiaca.

El instrumento (Ver anexo, tabla 7)

Determinación de la Lipoperoxidacion en la sangre de rattus norvegicusvar. albinus.

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 Butilhidroxi-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-butanolpiridina (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.

El instrumento (Ver anexo, tabla 6)

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 .

Figura 3: volúmenes utilizados para la curva de calibración estándar para evaluación del efecto antioxidante del extracto de *Cynara scolymus. L* (alcachofa).

Volumen (mL)	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

4.5 Plan de análisis

Los resultados obtenidos de la investigación fueron sometidos a procedimientos estadísticos, promedio y desviación estándar. Se utilizó el análisis de varianza ANOVA mediante el paquete estadístico SPSS versión 13.0, considerando un nivel de significancia $p < 0.05$; Duncan Alpha (0.05).

4.6 Matriz de consistencia

Título de investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto del extracto acuoso de la hoja de <i>cynara scolymus l.</i> (alcachofa) sobre el estrés hipotérmico inducido en <i>rattus norvegicus var. albinus</i>	¿Cuál es el efecto del extracto acuoso de la hoja de <i>Cynara scolymus L.</i> (alcachofa) sobre el estrés hipotérmico inducido en <i>Rattus norvegicus var albinas</i> ?	<p>Objetivo general</p> <p>Determinar el efecto del extracto acuoso de la hoja de <i>Cynara scolymus L.</i> (alcachofa) sobre el estrés hipotérmico, inducido en <i>Rattus norvegicus var albinas</i>?</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>Determinar el efecto del extracto acuoso de la hoja de <i>Cynara scolymus L.</i> (alcachofa) a dosis de 300mg/Kg y 600mg/Kg en el estrés hipotérmico, inducido en <i>rattus norvegicus var albinus</i>.</p> <p>Determinar la dosis del extracto acuoso de alcachofa que tiene mayor efecto , inducido en el estrés hipotérmico, inducido en <i>rattus norvegicus var albinus</i></p>	<p>H₀ extracto acuoso de la hoja de <i>Cynara scolymus,L</i> (alcachofa) no tiene efecto protector sobre el estrés hipotérmico inducido en <i>rattus norvegicus var albinus</i></p> <p>H₁ El extracto acuoso de la hoja de <i>Cynara scolymus,L</i> (alcachofa) tiene efecto protector sobre el estrés hipotérmico inducido en <i>rattus norvegicus var albinus</i></p>	<p>El trabajo de investigación fue de tipo experimental y de enfoque cuantitativo.</p> <p>Se utilizó el modelo de inducción de estrés hipotérmico en ratas y la determinación de la lipoperoxidación en sangre mediante el método colorimétrico de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.</p>	<p>Independiente</p> <p>El extracto acuoso de la hoja de <i>Cynara scolymus L.</i> alcachofa.</p> <p>Dependiente</p> <p>Estrés hipotérmico, inducido en <i>rattus norvegicus var. albinus</i></p>	<p>El extracto de alcachofa será preparado según recomendaciones estándares</p> <p>Para evaluación del estrés hipotérmico se determina la contracción de MDA (Malondialdehído).</p>	<p>Dosis</p> <p>300mg /kg</p> <p>600mg /kg</p> <p>Cualitativa nominal</p> <p>MDA (nM/ml)</p> <p>Cuantitativo de razón</p>	<p>Se realizó un análisis de varianza (ANOVA). También se utilizará la Prueba de Comparaciones Múltiples de DUNCAN ALPHA con un valor de significancia del 0.05.</p>

4.7 Principios éticos

- Para el manejo de los animales de experimentación, se tuvo en cuenta las normas y procedimientos éticos para el manejo de animales de laboratorio establecidos internacionalmente, National Research Council y las recomendaciones del Instituto Nacional de Salud de Perú.
- Para la ejecución del proyecto se contó con protocolo de investigación para evitar cualquier tipo de sufrimiento con la modificación de cualquier procedimiento que opere desde que el animal entra en el laboratorio hasta que se acaba el experimento, de forma que se minimice el dolor y la angustia y aumente su bienestar⁽⁴⁶⁾.
- La prueba piloto cumple un papel importante, ya que ayudo a definir y desarrollar la investigación, ver las diferentes respuestas entre los grupos experimentales, definir un número adecuado animales experimentación, para alcanzar la información deseada, Se tuvo en cuenta la especie, sexo, edad, procedimientos experimentales que se han realizado y una adecuada metodología⁽⁴⁶⁾.
- Se tuvo en cuenta el código de la ética de la ULADECH; como Protección a las personas, Beneficencia, Integridad científica, Consentimiento informado y expreso

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1: Producción de malondialdehído en suero de *Rattus norvegicus* var. *Albinus* expuestas a dosis 300 – 600 mg/Kg de extracto acuoso de la hoja *Cynara scolymus*

GRUPO	N° RATAS	CC (nM/ml) (MDA)	ANOVA (Valor F)
CONTROL (-) Tratamiento I: 5ml/Kg solución de cloruro de sodio al 0,9 %.	1	3,319	262,416
	2	3,405	
	3	3,065	
	4	3,421	
	5	3,033	
	6	3,221	
	PROMEDIO	3,244	
DS	±0,053		
EXPERIMENTAL II Tratamiento II: 300 mg/Kg Extracto de Alcachofa	1	0,982	
	2	1,242	
	3	1,137	
	4	1,249	
	5	1,036	
	6	1,287	
	PROMEDIO	1,155	
DS	±0,039		
EXPERIMENTAL III Tratamiento III: 600 mg/Kg Extracto de Alcachofa	1	2,238	
	2	2,467	
	3	2,620	
	4	2,187	
	5	2,219	
	6	2,486	
	PROMEDIO	2,369	
DS	±0,056		

5.2 Análisis de resultados

Los efectos de las plantas medicinales con efecto antioxidante, en la actualidad son muy estudiados, dado que probablemente tendrían muchos beneficios para la salud y retardaría los procesos de envejecimiento celular. En la actualidad se sabe que muchas de las plantas que tienen antioxidantes modulan diferentes señalizaciones celulares. Los mecanismos implicados en esta modulación son particulares para cada antioxidante, pero generalmente depende de su estructura química de cada molécula. Un ejemplo de los muchos antioxidantes son el grupo de los flavonoides que modulan la producción de radicales libres inorgánicos⁽⁴⁷⁾.

En el estudio realizado se utilizó el método del TBARs, para determinar las propiedades antioxidantes del extracto de alcachofa, considerando la hipotermia como el factor estresante, lo cual refleja todos los eventos bioquímicos, hormonales y morfofisiológicos ocurren durante la inducción de la hipotermia. Varios son los mecanismos fisiológicos que se activan durante la hipotermia, siendo uno de los más importantes el aumento en la producción de los radicales libres. La inducción de estrés oxidativo por la hipotermia es ampliamente empleada para investigar efectos protectores de extracto de plantas o principios activos en animales de experimentación. La dosis empleada de extracto de alcachofa, corresponden a investigaciones previas, donde se evaluaron efectos hepatoprotectores⁽⁴⁸⁾.

Probablemente la dosis efectiva o antioxidante varíe considerablemente entre las especies y son altamente sensibles según la edad, sexo y estado nutricional de los animales de experimentación. Se ha postulado que los metabolitos secundarios con

propiedades antioxidantes del extracto de alcachofa gracias a la presencia de polifenoles, flavonoides, apigenina, luteolina producirían la disminución de radicales libres, disminuyendo la lipoperoxidación, entrecruzamiento de proteínas o inducción de la ruptura del DNA ⁽⁴⁹⁾.

Los animales del grupo control y los que recibieron la dosis más alta, luego de la inducción del estrés hipotérmico, además de presentar aumento en la concentración plasmática de malondialdehído (MDA), también presentaron desorientación durante la prueba de nado y disminución de contracción isotónica del musculo esquelético que se evidencio por la disminución de los tiempos de latencia que corresponden a la prueba de nado, estas observaciones también fueron reportados por otros autores ⁽⁵⁰⁾.

Otros estudios reportan que la administración de extracto acuoso de las hojas de alcachofa a ratas con daño hepático, podrían disminuir la cantidad de MDA y favorecería el efecto hepatoprotector, son pocos los estudios realizado sobre los efectos antioxidantes “in vivo” del extracto de alcachofa, no se ha establecido los componentes activos responsables de la actividad antioxidante. Según estudios fitoquímicos de las hojas de alcachofa sugieren la presencia de flavonoides ⁽⁵¹⁾.

En la Tabla 1 de los resultados, se reporta la comparación de la producción de malondialdehído (MDA) del grupo control y el grupo de alcachofa a dosis de 300mg/Kg y 600mg/Kg recibieron tratamiento durante 30 días, el análisis estadístico muestra una diferencia en los grupos de experimentación ($p < 0.05$) respecto a la producción de MDA. Estos primeros resultados indican que la alcachofa administrada por vía oral tendría propiedades antioxidantes y evitaría la

lipoperoxidación de las membranas celulares durante la hipotermia, esto se pudo evidenciar por la cantidad de MDA, producido luego de la exposición al estrés hipotérmico ⁽⁵²⁾.

El malonaldehído es un marcador indirecto del estrés oxidativo y es un producto de la oxidación de lípidos, especialmente fosfolípidos. Esta sustancia puede reaccionar con proteínas, ácidos nucleicos y otras moléculas celulares, ocasionando respuestas inflamatorias, aumentando el riesgo de diferentes enfermedades degenerativas ⁽⁵³⁾.

También en la tabla se observa una baja producción de MDA, este efecto en la producción de MDA, indicaría que la dosis de alcachofa de 600mg/Kg tendría menos efecto antioxidante comparado con el grupo de 300mg/Kg y grupo control. Algunas investigaciones publicadas recientemente, indican que el conjunto de antioxidantes a dosis baja tiene un efecto potencial en la disminución de radicales libres. Según los resultados, indican que el promedio de producción de MDA, depende de las sustancias con propiedades antioxidantes. Estos resultados demostrarían que el efecto antioxidante es a dosis bajas que corresponde a la dosis de 300 mg/Kg peso de extracto de alcachofa ⁽⁵⁴⁻⁵⁵⁾.

VI. CONCLUSIONES

- ✓ El extracto acuoso de las hojas de *Cynara scolymus L.*(alcachofa), disminuyo la producción de malondialdehido de los grupos de experimentación
- ✓ El extracto acuoso de las hojas de *Cynara scolymus L.*(alcachofa) a dosis 300mg/Kg de peso y 600mg/Kg) tienen efecto antioxidante, obteniendo como resultado la concentración de MDA de dosis de 300 mg/Kg de peso ($1,55 \pm 0,039$ nM/ml) comparado con la dosis de 600mg/Kg de peso ($2,369 \pm 0,056$ nM/ml).
- ✓ El extracto acuoso de las hojas de *Cynara scolymus L.*(alcachofa), a dosis de 300mg/Kg de peso tiene mayor efecto antioxidante, lo cual evitaría la lipoperoxidación de las membranas celulares durante la hipotermia.

Aspectos complementarios

- ✓ Realizar estudios complementarios sobre sus componentes fotoquímicos de las hojas de alcachofa y sus beneficios como antioxidantes.
- ✓ Ampliar los estudios sobre sus metabolitos secundarios de las hojas de alcachofa y sus aplicaciones en la salud, para prevenir enfermedades degenerativas crónicas.

Referencias bibliográficas

1. Pereyra R, Fuentes D. Medicina Tradicional versus Medicina Científica. Acta Médica Perú. [internet] abril de 2012. [citado 2018 Jul 18] ;29(2):62-3. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=59172012000200002.
2. Gallegos Z. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Rev. An Fac med. [internet] 16 de diciembre de 2016 [citado 2018 Jul 18];77(4):327-32. Disponible en : <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf>.
3. Cruz J, Aguilar A, Martínez A. Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba. Rev. Cubana de Plantas Medicinales [Internet] 2015. [citado 2018 noviembre del 15] ;20(4)429-439. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v20n4/pla07415.pdf>.
4. Yauri H, Mango W. Investigación de las tesis realizadas sobre plantas medicinales y alimenticias. 2018 [Tesis]. Perú: Universidad Norbert Wiener.Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2018.
5. Salaverry O, Cabrera J. Florística de algunas plantas medicinales. Rev Peru Med Exp Salud Publica. enero de 2014;31(1):165-8.
6. Ministerio de Salud. El 89% de peruanos no consume suficiente frutas y verduras. Perú [página en internet]. [citado 2018 noviembre 20]. Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/es/prensa/noticia/el-89-de-peruanos-no-consume-suficiente-frutas-y-verduras>.

7. Cruzado M, Pastor A, Castro N, Cedrón J. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). *Rev Soc Quím Perú*. [Internet]. 2013 enero [citado 2017 octubre 26]; 79(1):57-63. Disponible en : http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2013000100008&lng=es&tlng=es.
8. Martínez D, Uculmana C. Artichoke extract (*Cynara scolymus* L.): Experiences of use in animal production markets and opportunities for its production in Peru. *Agroindustrial Sci*. 30 de junio de 2016; 1:155-61.
9. Antuono I, Carola A, Sena L, Cardinali, A. Artichoke Polyphenols Produce Skin Anti-Age Effects by Improving Endothelial Cell Integrity and Functionality [Internet]. 2018 ResearchGate. [cited 2018 de December of 2]. Disponible en : https://www.researchgate.net/publication/328485713_Artichoke_Polyphenols_Produce_Skin_AntiAge_Effects_by_Improving_Endothelial_Cell_Integrity_and_Functionality.
10. Haluk E, Halil K, Ömer Ş. Antioxidant and antimicrobial potential of artichoke (*Cynara scolymus* L.) extract in beef patties. *Czech J Food Sci*. [Internet]. 7 de mayo de 2018. [citado 2018 noviembre 20]; 36:154-62 Disponible en: <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/242945.pdf>.
11. El Senousy A, Farag M, Al-Mahdy D, Wessjohann L. Developmental changes in leaf phenolics composition from three artichoke cvs. (*Cynara scolymus*) as determined via UHPLC–MS and chemometrics. *Phytochemistry*. diciembre de 2014; 108:67-76.

12. Claus T, Maruyama S, Palombini S, Montanher P, Bonafé E, et al. Chemical characterization and use of artichoke parts for protection from oxidative stress in canola oil. *LWT - Food Sci Technol.* mayo de 2015;61(2):346-51.
13. Zuorro A, Maffet G, Lavecchia R. Reuse potential of artichoke ((*Cynara scolimus* L.) waste for the recovery of phenolic compounds and bioenergy. *J Clean Prod.* 1 de junio de 2015;111.
14. Cassano A, Condi C, Figueroa R. A Two-Step Nanofiltration Process for the Production of Phenolic-Rich Fractions from Artichoke Aqueous Extracts. *Rev. Int J Mol Sci.* 2015 Apr; 16(4): 8968–8987.
15. Rodríguez T, Peña M, Trujillo N, Lozano Y, Hernández M. Estrés oxidativo: genética, dieta y desarrollo de enfermedades. *Correo Científico Méd Holguín.* 28 de diciembre de 2015; 19:1-16.
16. Viada E, Gómez L, Campaña I. Estrés oxidativo. *Correo Científico Méd.* marzo de 2017;21(1):171-86.
17. Carochio M, Ferreira, I. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology.* 2013 51, 15–25
18. Corrales M, Muñoz M. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova.* 15 de diciembre de 2012;10(18):213.

19. Mameghani E. The antioxidant activity of artichoke (*Cynara scolymus*): A systematic review and meta-analysis of animal studies. [online] pubmed.2019 Available at: https://www.researchgate.net/publication/237083133_Protective_effect_of_artichoke_Cynara_scolymus_leaf_extract_against_lead_toxicity_in_rat [Accessed 2 Jan. 2019].
20. Magielse J, Verlaet A, Breynaert A, Keenoy B, Apers S, Pieters L. Investigation of the in vivo antioxidative activity of *Cynara scolymus* (artichoke) leaf extract in the streptozotocin-induced diabetic rat. 2018. [online] PubMedSupport Center. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mnfr.201300282> [Accessed 12 Dec. 2018].
21. Miccadei S, Venere D, Cardinali A, Romano F, Durazzo A, et al. Antioxidative and Apoptotic Properties of Polyphenolic Extracts from Edible Part of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) on Cultured Rat Hepatocytes and on Human Hepatoma Cells. 2018 [online] Academia.edu. Available at: http://www.academia.edu/22602055/Antioxidative_and_Apoptotic_Properties_of_Polyphenolic_Extracts_from_Edible_Part_of_Artichoke_Cynara_scolymus_L._on_Cultured_Rat_Hepatocytes_and_on_Human_Hepatoma_Cells [Accessed 12 Dec. 2018].
22. Martínez T. “Residuos de alcachofa (*cynara scolymus* L.) variedad ‘lorca’ como fuente de compuestos fenólicos y su aplicación como antioxidantes.2016[tesis]. Perú: Universidad Nacional Agraria la Molina Universidad Nacional Agraria la Molina: 2016.

23. Cruzado M, Pastor A, Castro N. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynarascolymus* L.).2018 [online] Scielo.org.pe. Available at: http://www.scielo.l.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2013000100008 [Accessed 12 Dec. 2018].
24. Cárdenas T. Estudio químico - bromatológico, compuestos bioactivos, y evaluación de la capacidad antioxidante de *Cynara scolymus* “alcachofa” procedente de Huaral .2016. [tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica:2016.
25. Julca Cabezas C. Evaluación del efecto antioxidante in vitro de las hojas de *Cynara scolymus* L. “Alcachofa” frente al 2,2-Difenil-1-Picril-Hidrazilo [Internet]. Repositorio.uap.edu.pe. 2018 [cited 12 December 2018]. Available from: <http://repositorio.uap.edu.pe/handle/uap/627>.
26. Boncun B, Ruiz G. Capacidad antioxidante in vitro de los extractos acuosos e hidroetanólicos de las hojas de *Cynara scolymus* L. “alcachofa” frente al 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo [Internet]. Revista científica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo. 2018 [cited 12 December 2018]. Available from: <https://www.linkedin.com/in/marilu-roxana-soto-vasquez-01950927>.
27. Organización Mundial de la Salud, OMS | Medicina tradicional: definiciones. [Internet]. WHO. [citado 11 de diciembre de 2018]. Disponible en: https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es.

28. Córdova R. Uso y utilización de plantas medicinales en universidades de Lima. Pontif Univ Católica Perú [Internet] 2016. 1 de diciembre de 2016 [citado 15 de diciembre de 2018]; Disponible en: <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/123456789/1077>.
29. Angulo B. La caracterización de plantas peruanas con potencial terapéutico como prioridad de investigación. [Internet] 2016. [citado 2018 noviembre del 15]. Disponible en: <http://www.rpmi.pe/ojs/index.php/RPMI/article/58/57>.
30. Digemid. Decreto Supremo N° 010-97-SA. Perú [Internet]. [citado 15 de diciembre de 2018]; disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/Upload/Uploaded/PDF/DECRETOSUPREMON010-97-SA.pdf>.
31. Digemid. Ley General de Salud. Perú de Salud. Perú [Internet]. [citado 15 de diciembre de 2018]; disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/Upload/Uploaded/PDF/LEYN26842.pdf> [Accessed 12 Aug. 2018].
32. Ley de aprovechamiento sostenible de las plantas medicinales. Perú [Internet]. [citado 3 de enero de 2019]. Disponible en: <http://www4.congreso.gob.pe/comisiones/1999/ambiente/ley27300.htm>.
33. Gutierrez R. Análisis del uso de plantas medicinales en mercados de abastos del distrito de Ventanilla-Callao.2012. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2012.
34. Fadda A, Viridis A, Barberis A, Melito S. Variation in secondary metabolites contents of Spinoso Sardo artichoke (*Cynara cardunculus* L.) under different day lengths. *Turk J Agric For.* 11 de octubre de 2018;42(5):372-81.

35. Pariona M. Tecnología de Manejo del Cultivo de Alcachofa de Exportación en Sierra. Perú [internet] 2015. [citado 2018 nov 20]. Disponible en : http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/inia/145/1/Alcachofas_exportacion_2015.pdf.
36. Márquez T, Bustamante P, Vargas L. Extracción de fibra a partir de la alcachofa (*Cynara scolymus* L.) por medio de métodos químicos y su caracterización. [internet]2018. [citado 2018 de noviembre del 10]. Disponible en: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume3/4/3/38.pdf>
37. Ben M, Hanen A, Dhouibi R, Zouheir S, Sahnoun Z, et al. Chemicals Compositions, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Cynara scolymus* Leaves Extracts, and Analysis of Major Bioactive Polyphenols by HPLC Rev. Evidence-Based. [Internet]2017. [citado 2018 de diciembre de 8]. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2017/4951937>.
38. Villanueva J, Zevallos E. Quantification of Total Polyphenols.rev. In *Crescendo.Ciencias de la Salud*. 2017; 4(1): 174-180.
39. Coronado H, Vega S, Gutiérrez T, Vázquez F, Radilla V. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Rev Chil Nutr*. junio de 2015;42(2):206-12.
40. Gonzales F, Hernández N. Empleo de antioxidantes en el tratamiento de diversas enfermedades crónico-degenerativas. *Revista Especializada en Ciencias de la Salud* [internet] 2016. [citado 2018 de noviembre del 15]; 18(1):16-21. Disponible en : <http://www.medigraphic.com/pdfs/vertientes/vre-2015/vre151c.pdf>.

41. Saavedra O, Jiménez V, Ceballos E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev Med UV [internet] 2010. [citado 2018 dic.07]. Disponible en:https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf.
42. Jaramilio F, Valdivia A. Fundamentos de estrés oxidativo celular. [internet] 2016. [citado 2018 dic.07]. Disponible https://www.uaa.mx/direcciones/dgdv/editorial/docs/zombis_fundamentos_estres_oxidativo_celular.pdf.
43. Salazar J. Maceracion, Percolacion, Tinturas-2013-II [Internet]. Scribd. [citado 2018 de diciembre de 8]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/1900179146-Maceracion-Percolacion-Tinturas-2013-II>.
44. Díaz S, Cazaña M, Pérez H, Valdivia A, Prieto M, et al. Evaluación cualitativa de metabolitos secundarios en extractos de variedades e híbridos de Morus alba L. (morera). Rev Cuba Plantas Med. septiembre de 2015;20.
45. Díaz N, Ruiz J, Reyes E, Cejudo A, Novo J, et al. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas.: Internet] [citado 2018 noviembre del 15] Disponible en: https://s3.amazonaws.com/academia.edu/documents/39361963/08_pgfurxfOUdisposition=inline%3B%20filename%3D08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf.
46. Romero-F, Batist Z, De Lucca M, Ruano A, García M, Rivera M, et al. El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. Rev Peru Med Exp Salud Publica. abril de 2016;33(2):288-99.

47. Gaitán F. Evaluación de la actividad antioxidante de cinco especies vegetales utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones de la memoria y los nervios [Internet]. Biblioteca.usac.edu.gt. 2018 [cited 14 September 2018]. Available from: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06__2882.pdf.
48. Wenisch C. Mild intraoperative hypothermia reduces production of reactive oxygen intermediates by polymorphonuclear leukocytes. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2018 [cited 10 September 2018]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8615502>.
49. Venditti A. Polar constituents, protection against reactive oxygen species, and nutritional value of Chinese artichoke (*Stachys affinis* Bunge). - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2018 [cited 8 August 2018]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27979230>.
50. Xia N. Artichoke, cynarin and cyanidin downregulate the expression of inducible nitric oxide synthase in human coronary smooth muscle cells. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2018 [cited 15 August 2018]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24662080>.
51. Osorio D. efecto hepatoprotector del extraco de las hojas de alcachofa (*Cynara scolymus*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono. [Internet].2018 [cited 10 August 2018]. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2593/1/56T00370.pdf>.

52. Altamirano R. Efecto del zumo de *Rubus* spp. "zarzamora" en el aprendizaje y memoria espacial en *Rattus norvegicus* var. albino, cepa Wister sometidas a estres hipotermico [Internet]. Dspace.unitru.edu.pe. 2018 [cited 3 July 2018]. Available from: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3839/Altamirano%20Sarmiento%2c%20Rosa%20Milagros%20.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
53. Altamirano R. Efecto del zumo de *Rubus* spp. "zarzamora" en el aprendizaje y memoria espacial en *Rattus norvegicus* var. albino, cepa Wister sometidas a estres hipotermico [Internet]. Dspace.unitru.edu.pe. 2018 [cited 3 July 2018]. Available from: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3839/Altamirano%20Sarmiento%2c%20Rosa%20Milagros%20.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
54. Juzyszyn Z. The effect of artichoke (*Cynara scolymus* L.) extract on ROS generation in HUVEC cells. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2018 [cited 2 July 2018]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18780283>.
55. Sharaf D. Artichoke leaf extract protects liver of *Schistosoma mansoni* infected mice through modulation of hepatic stellate cells recruitment. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2017 [cited 4 July 2018]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28552793>

ANEXOS

TABLA N° 1: Producción de malondialdehído en suero de *Rattus norvegicus var. Albinus* expuestas a dosis 600 mg/Kg peso de extracto de alcachofa.

N° RATA	LECTURA PROMEDIOS	CC(nM/ml)
R1	0,762	2,238
R2	0,834	2,467
R3	0,882	2,620
R4	0,746	2,187
R5	0,756	2,219
R6	0,84	2,486
DS	0,056	0,1782

Fuente: Datos proporcionados por la autora.

TABLA N° 2: Producción de malondialdehído en suero de *Rattus norvegicus var. albinus* expuestas a 5ml/Kg solución salina fisiológica (SSF)

N° RATA	PROMEDIOS	CC(nM/ml)
R1	1,102	3,319
R2	1,129	3,405
R3	1,022	3,065
R4	1,134	3,421
R5	1,012	3,033
R6	1,071	3,221
DS	0,053	0,167

Fuente: Datos proporcionados por la autora.

TABLA N° 3: Producción de malondialdehído en suero de *Rattus norvegicus var. Albinus* expuestas a dosis 300 mg/Kg peso de extracto de alcachofa.

N° RATA	PROMEDIOS	CC(nM/ml)
R1	0,367	0,982
R2	0,449	1,242
R3	0,416	1,137
R4	0,451	1,249
R5	0,384	1,036
R6	0,463	1,287
DS	0,039	0,125

Fuente: Datos proporcionados por la autora

TABLA N° 4: Análisis estadístico del ANOVA.

ANOVA

MDA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	13,201	2	6,600	262,416	p < 0.05
Dentro de grupos	,377	15	,025		
Total	13,578	17			

TABLA N° 5: Análisis estadístico del Duncan.

MDA

Duncan^a

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
300 mg/Kg peso, del extracto de alcachofa	6	1,16		
600 mg/Kg peso de extracto de alcachofa	6		2,37	
5ml/Kg solución salina fisiológica	6			3,24
Sig.		1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

TABLA 6: Instrumento para recolección de lecturas de absorbancia (MDA) de las muestras.

GRUPO	N° RATAS DE EXP.	ABSORBANCIA: 532 nm		
		L. 1	L. 2	L. 3
CONTROL (-) Tratamiento I: 5ml/Kg SSF	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	PROMEDIO			
EXPERIMENTAL II Tratamiento II: 300 mg/Kg Extracto de Alcachofa	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	PROMEDIO			
EXPERIMENTAL III Tratamiento III: 600 mg/Kg Extracto de Alcachofa	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	PROMEDIO			

Fuente: Alumna investigadora

TABLA 7: Instrumento para recolección de datos del estrés agudo por hipotermia.

GRUPO	N° RATAS	ENSAYO HIPOTERMIA: 4 °C/60" (Descanso de 20 Seg.)			
		1	2	3	Toma de muestra sanguínea
CONTROL (-) Tratamiento I: 5ml/Kg SSF	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
EXPERIMENTAL II Tratamiento II: 300 mg/Kg Extracto de Alcachofa	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
EXPERIMENTAL III Tratamiento III: 600 mg/Kg Extracto de Alcachofa	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				

Fuente: Alumna investigadora

Anexo 1: fotografía del lugar de donde se recolecto la hoja de alcachofa



Fuente: Alumna investigadora.

Anexo 2: Planta de alcachofa *Cynara scolymus*, L (alcachofa).





Fuente: Alumna investigadora.

Anexo 3: Certificación de la planta de alcachofa *Cynara scolymus*, L (alcachofa).



Fuente: Alumna investigadora.

Anexo 4: Certificación sanitario de los animales de experimentación.

		INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO	
CERTIFICADO SANITARIO N°		005-2017	
Producto	: Rata Albina	Lote N°	: R - 01- 2017
Especie	: <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad	: 18
Cepa	: Holtzman	Edad	: 2 meses
Peso	: 200 gr.	Sexo	: Macho
G.R..	: 033752	Destino	: Contreras Altamirano, Cesia La Libertad.
Lima	: 06-01-2017		
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 06 de Enero del 2017 (Fecha de atención y emisión del certificado)</p> <p style="text-align: right;"> M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586</p> <p>NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>			

Fuente: Alumna investigadora.

Anexo 5: Guía de remisión de los animales de experimentación



MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
 CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
 CENTRAL TELEFÓNICA : 511-7480000 / 511-7481111
 PÁGINA WEB : www.ins.gob.pe

Oficina de Ventas:
 JESÚS MARÍA: Av. Cápac Yupanqui N° 1400 (Frente al HNERM)
 Anexo 2118
 CHORRILLOS: Av. Defensores del Morro (Ex Huaylas) N° 2268
 Anexos 1550 / 1397
 E-mail: ventas_ch@ins.gob.pe

R.U.C. 20131263130

**GUIA DE REMISION
 REMITENTE**

004- Nº 033752

Lima de de

Señor (es): 6 ENERO 2017
 Dirección: CONTRERAS ALVAREZ, CESTIA KATHRIN
 R.U.C.: TR. NATIVO BRIANDO 218 HUAMACHICO - SANCHEZ CERRO - LA LIBERTAD
 Referencia: _____

Transportista (Sr.): _____

Dirección: _____

R.U.C.: _____ Placa: _____

MOTIVO DE TRASLADO: 1. Venta 2. Compra 3. Transformación 4. Consignación 5. Devolución
 6. Traslado entre establecimientos de una misma empresa 7. Traslado por emisor itinerante de comprobante de pago 8. Otros

Remitimos a Ud. en perfectas condiciones lo siguiente:

CANTIDAD	DOSIS	UNIDAD MEDIDA	DESCRIPCION	P. UNITARIO S/.	TOTAL S/.
	18.00	UNIDAD	Ratas Albinas	14.32	257.76
	5.00	KILO	Alimento Balanceado para Ratones x 1.kilo	3.18	47.70
TRESCIENTOS SESENTA Y CUATRO/100 SOLES					305.46
					54.99
					360.45

SOLVIMA GRAF S.A.C.
 R.U.C. 20382602430
 Serie: 004 del 33001 al 35000
 Aut. Sunat. 0421460021
 F.I. 13 - 07 - 2016

[Firma]
 Área de Ventas y Asesoría
 Oficina Ejecutiva de Comercialización
 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD



RECIBI CONFORME

Una vez aceptada y recibida la mercadería, no se aceptan cambios ni devoluciones.

DESTINATARIO

Gracias por su Compra

Fuente: Alumna investigadora.

Anexo 6: fotografía de la elaboración del extracto acuoso de la hoja de *Cynara scolymus*, L (alcachofa)



Fuente: Alumna investigadora.

Anexo 7: fotografía de los animales de experimentación.



Anexo 8: distribución de los grupos de experimentación



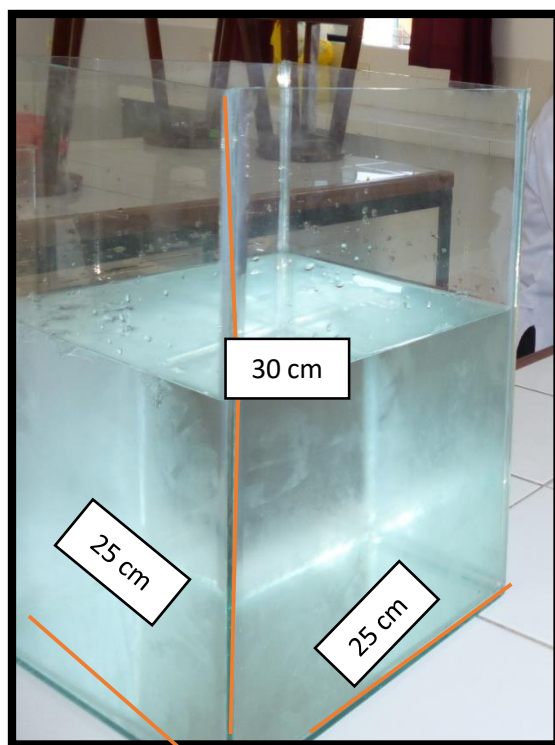
Fuente: alumna investigadora.

Anexo 9: fotografía del control de peso de los animales de experimentación



Fuente: alumna investigadora.

Anexo 10: fotografía del recipiente de vidrio(pecera)



Fuente: alumna investigadora.

Anexo 11: lista materiales, reactivos. equipos y otros.

Materiales de laboratorio

1. Vasos de precipitación.
2. Espátulas
3. Tamices.
4. Tijeras.
5. Termómetro
6. tubos pequeños.
7. Probeta de 25 ml y 1 ml.
8. Pipeta de 1 ml, 5 ml y 10 ml
9. Agua destilada
10. Fiolas de 10ml, 25 ml, 50 ml, 100ml
11. Estuche de disección
12. Tubos para muestras
13. Pinzas
14. Micropipetas
15. Lunas de reloj

Equipos

1. Agitador magnético
2. Balanza analítica
3. Baño maría
4. Espectrofotómetro UV-visible
5. Estufa
6. Tamices
7. Cocina etc.

Reactivos

1. ácido tiobarbitúrico(TBA)
2. Butil-hidroxi-tolueno (BHT)
3. Tricloruro de hierro
4. Tris molecular
5. n-butanolpiridina
6. Halatal
7. Suero fisiológico
8. Heparina sódica

Otros

1. Jaulas
2. Sondas
3. Bisturi N°21
4. Guantes estériles
5. Papel filtro
6. Gradilla
7. Plumones de tinta indeleble
8. Toalla
9. Papel de aluminio
10. Algodón
11. Frascos ambar
12. Pecera
13. Agua destilada

Anexo 11: procedimiento a la inducción al estrés hipotérmico



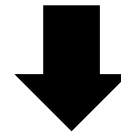
La pecera debe de estar a la T^o de 4C^o
Agregar 15cm de agua



Sacar la rata de la jaula



Introducir la rata a la pecera



Secar la rata con una franela



Sacar la rata de la pecera



Calcular el tiempo en que la rata resiste al estrés hipotérmico

Fuente: alumna investigadora.

Anexo 12: Colocación de Halatal disuelto en solución salina en la porción 1:3



Fuente: alumna investigadora.

Anexo 13: extracción de sangre, punción intracardiaca



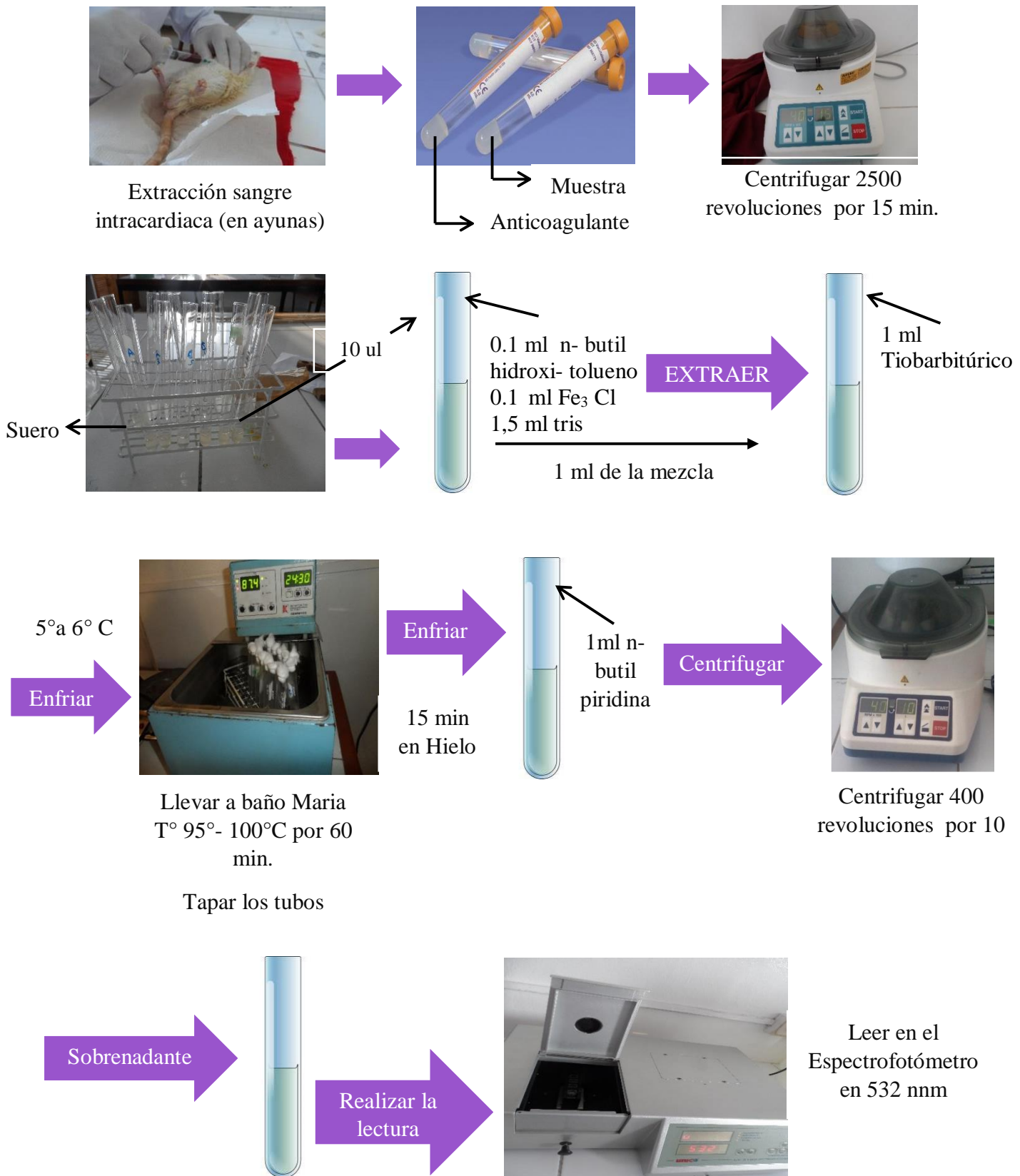
Fuente: alumna investigadora.

Anexo 14: Esterilización de materiales de laboratorio – Uladech



Fuente: alumna investigadora.

15. Esquema de preparación de muestra



Anexo 16: obtención del suero de los animales de experimentación



Fuente: alumna investigadora.

Anexo 17: agregando los reactivos



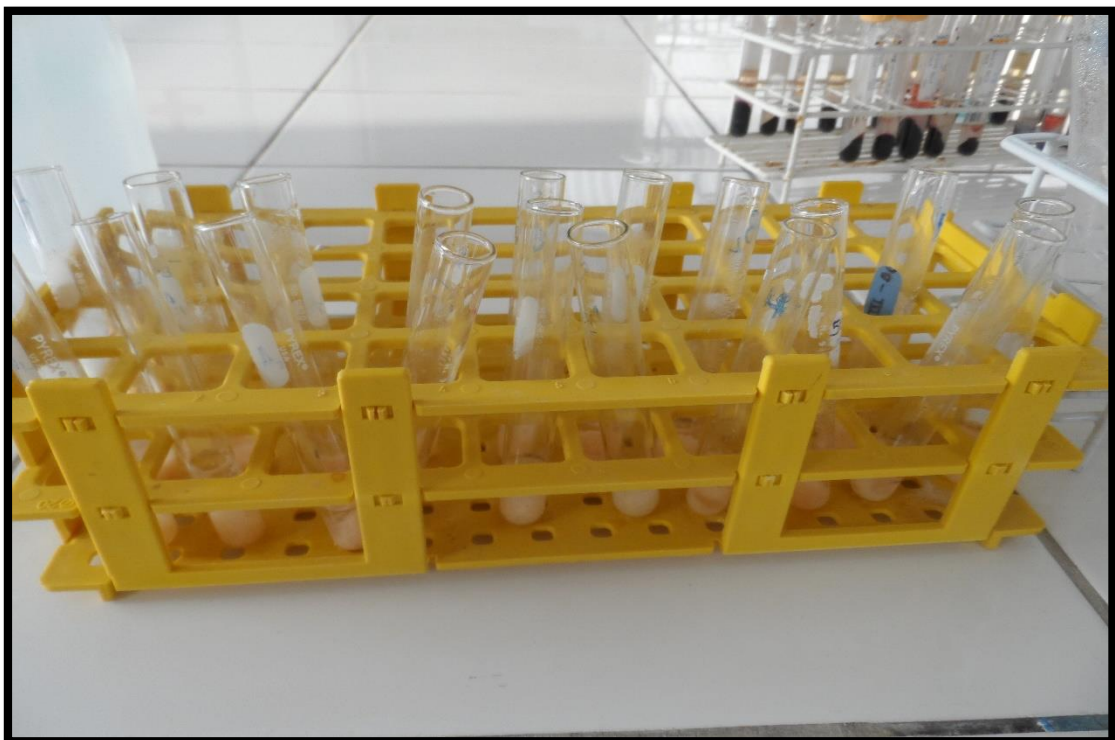
Fuente: alumna investigadora.

Anexo 18: extracción en frío de los aductos.



Fuente: alumna investigadora

Anexo 19: resultados



Fuente: alumna investigadora