

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA.

**EFFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO
DE LAS HOJAS DE *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer
(copaiba) EN RATAS ALBINAS**

Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y
Bioquímico

Bachiller:

Jenny Genoveva Mamani Paasaca

ASESOR:

Pedro Jacinto Hervias

LIMA – PERÚ

2019

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, brindándome la oportunidad de cumplir mis metas profesionales y personales.

A mi madre por su apoyo incondicional, cariño, comprensión, por enseñarme a no rendirme, alcanzar mis sueños y por ser ejemplo de perseverancia y constancia. A mi padre que desde el cielo me cuida, es mi Ángel y a mis hermanos por brindarme fuerzas.

En especial a mi novio Rolando Andres Llanos Rivera por estar siempre a mi lado, brindándome su amor, cariño y paciencia, para seguir creciendo profesionalmente y seguir luchando por alcanzar mis metas.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la inteligencia idónea y guiarme por los caminos rectos a lo largo de la carrera profesional.

A mi asesor de tesis Mg. Pedro Jacinto Hervías, por bríndame su asesoramiento y dedicación, para el desarrollo del presente trabajo.

A la Universidad Inca Garcilaso de la Vega por los conocimientos impartidos y a los profesores que con nobleza y entusiasmo dejaron enseñanzas que nunca olvidare.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Acta de sustentación	
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice general	
Índice tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción	1
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2. Problemas	3
1.2.1. Problema general	3
1.2.2. Problemas específicos	3
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos	3
1.4. Justificación e importancia del estudio	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes del estudio	5
2.1.1. Nacionales	5
2.1.2. Internacionales	8

2.2.	Bases teóricas	11
2.3.	Hipótesis	20
2.3.1.	Hipótesis general	20
2.3.2.	Hipótesis específicas	20
2.4.	Variables	21
2.4.1.	Tabla de operacionalización de variables	21
2.5.	Marco conceptual	21
CAPÍTULO III: MÉTODO		23
3.1.	Tipo de estudio	23
3.2.	Diseño a utilizar	23
3.3.	Población	27
3.4.	Muestra	27
3.5.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	28
3.6.	Procesamiento de datos	28
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS		29
4.1.	Presentación de resultados	29
4.2.	Contrastación de hipótesis	36
4.3.	Discusión	42
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		44
5.1.	Conclusiones	44
5.2.	Recomendaciones	45
REFERENCIAS		46
ANEXOS		51

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Fármacos que producen daño hepático dependiente de la dosis	15
Tabla 2.	Fármacos que producen lesión hepática y tipo de célula afectada	16
Tabla 3.	Características clínicas de intoxicación por paracetamol	18
Tabla 4.	Reactivos para identificación de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	24
Tabla 5.	Diseño experimental para ensayo de efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	25
Tabla 6.	Ensayo de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	29
Tabla 7.	Ensayo de marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	31
Tabla 8.	Valores medios de actividad de transaminasas (TGO, TGP) y fosfatasa alcalina en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	32
Tabla 9.	Valores medios de albúmina, proteínas y bilirrubina totales en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	33
Tabla 10.	Análisis ANOVA del efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	37
Tabla 11.	Análisis de Tukey de albúmina, proteínas totales y bilirrubina del efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	38

Tabla 12.	Análisis de Tukey de transaminasas (TGO, TGP) del efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	39
Tabla 13.	Análisis de Tukey de fosfatasa alcalina del efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	39
Tabla 14.	Análisis de Dunnett del efecto hepatoprotector en ratas albinas.	41

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Arterias hepáticas	13
Figura 2. Estructura química básica de algunos tipos de flavonoides	19
Figura 3. Estructura química de terpenos con efecto biológico	19
Figura 4. Ensayo de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	30
Figura 5. Ensayo de marcha fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	31
Figura 6. Valores promedios de TGO en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	33
Figura 7. Valores promedios de TGP en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	34
Figura 8. Valores promedios de Fosfatasa Alcalina en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	34
Figura 9. Valores promedios de Albúmina en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	35
Figura 10. . Valores promedios de Proteínas Totales en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	35
Figura 11. Valores promedios de Bilirrubina en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Matriz de consistencia	51
Anexo 2. Clasificación taxonómica de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)	52
Anexo 3. Certificado sanitario de los animales de experimentación	53
Anexo 4. Testimonios fotográficos	54
Anexo 5. Validación de instrumentos	57

Resumen

Las especies del género *Copaifera* son conocidas como copaiba, se distribuye en zonas amazónicas de Brasil, Colombia, Venezuela y Perú, se le atribuyen propiedades cicatrizantes, antiséptico, antiinflamatorio, antitumoral y antioxidante. El objetivo fue determinar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) (EEHCP) en ratas albinas. El diseño fue experimental preclínico y aleatorio, se usó 36 ratas albinas Holtzman divididos en seis grupos, recibieron tratamiento vía oral durante 7 días; i) solución salina normal 0,9% (SSN) 5 mL/kg, ii) SSN 5 mL/kg + Paracetamol 400 mg/kg (P), iii) EEHCP 150 mg/kg + P, iv) EEHCP 300 mg/kg + P, v) EEHCP 500 mg/kg + P y vi) Silimarina 100 mg/kg + P. La toxicidad hepática fue inducida con paracetamol 400 mg/kg, para valorar la función hepática se analizó los indicadores bioquímicos; transaminasa (TGO, TGP), proteínas totales, fosfatasa alcalina, albúmina y bilirrubina total en muestras de sangre. Resultados, en el EEHCP se identificó compuestos fenólicos, alcaloides, leucoantocianidinas, flavonoides y taninos. Los valores promedios de transaminasas (TGO, TGP), proteínas totales disminuyen en los grupos tratados con el EEHCP el cual fue dependiente de la dosis, la dosis de 500 mg/kg mostró efecto significativo ($p < 0,05$) respecto al grupo control y las otras dosis del extracto. Asimismo, el EEHCP disminuyó los valores de bilirrubina total y fosfatasa alcalina, la albúmina aumenta en los grupos tratados con el EEHCP y en el grupo de silimarina ($p < 0,05$). La dosis de 500 mg/kg del EEHCP tuvo efecto similar al grupo de silimarina ($p > 0,05$). Conclusión, se evidenció que el EEHCP tiene efecto hepatoprotector, probablemente por mecanismo antioxidante de sus metabolitos secundarios frente a daño inducido por paracetamol en ratas albinas.

Palabras clave: *Copaifera pauperas*, Copaiba, Hepatoprotector, Paracetamol

ABSTRACT

The species of the genus *Copaifera* are known as copaiba, it is distributed in Amazonian areas of Brazil, Colombia, Venezuela and Peru, it is attributed with healing, antiseptic, anti-inflammatory, antitumoral and antioxidant properties. The objective was to determine the hepatoprotective effect of ethanol extract of the leaves of *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) (EEHCP) in albino rats. The design was preclinical and random experimental, 36 Hotlzman albino rats divided into six groups were used, received oral treatment for 7 days; i) 0,9% normal saline solution (SSN) 5 mL / kg, ii) SSN 5 mL / kg + Paracetamol 400 mg / kg (P), iii) EEHCP 150 mg / kg + P, iv) EEHCP 300 mg / kg + P, v) EEHCP 500 mg / kg + P and vi) Silymarin 100 mg / kg + P. Liver toxicity was induced with paracetamol 400 mg/kg, to assess liver function biochemical indicators were analyzed; transaminase (TGO, TGP), total proteins, alkaline phosphatase, albumin and total bilirubin in blood samples. Results, phenolic compounds, alkaloids, leucoanthocyanidins, flavonoids and tannins were identified in the EEHCP. The average values of transaminases (TGO, TGP), total proteins decrease in the groups treated with the EEHCP which was dose dependent, the dose of 500 mg / kg showed significant effect ($p < 0,05$) with respect to the control group and the other doses of the extract. Likewise, the EEHCP decreased the values of total bilirubin and alkaline phosphatase, albumin increased in the groups treated with the EEHCP and in the silymarin group ($p < 0,05$). The 500 mg / kg dose of the EEHCP had an effect similar to the silymarin group ($p > 0,05$). Conclusion, it was evidenced that the EEHCP has hepatoprotective effect, probably due to antioxidant mechanism of its secondary metabolites against paracetamol-induced damage in albino rats.

Keywords: *Copaifera pauperas*, Copaiba, Hepatoprotective, Paracetamol

INTRODUCCIÓN

El hígado es un órgano extenso y complejo cumple funciones muy variadas como anabolismo y catabolismo de lípidos, carbohidratos, proteínas, depura productos de deshechos por medio de la bilis, regula o modula la respuesta inmunitaria entre otras funciones ⁽¹⁾. Una de las enfermedades hepáticas con alta prevalencia a nivel mundial es la cirrosis hepática, la cual tiene distintas etiologías, entre las de mayor importancia son de tipo alcohólico, esteatosis hepática no alcohólico o virus de la hepatitis A, B y C, esta enfermedad es irreversible y se caracteriza por presencia de fibrosis, formación de nódulos que conllevan a la alteración de la arquitectura y funcionalidad del hígado ⁽²⁾, es la forma más avanzada de las patologías hepáticas y suele presentarse en cualquier edad en infantiles, juveniles o seniles, el grupo etario que predomina se encuentran entre los 40 y 60 años y suele causar muerte a 91 personas por cada 100,000 habitantes ⁽³⁾.

La medicina tradicional en el mundo constituye un eje fundamental en la atención primaria de la salud, su uso se basa en el conjunto de creencias, conocimientos, experiencia y práctica a través de la historia. El Perú es considerado como uno de los países con alta diversidad de especies vegetales a nivel mundial que son de utilidad a los humanos por sus propiedades alimenticias y medicinales ⁽⁴⁾.

Las especies del género *Copaifera* son conocidas en la población como copaiba, se distribuye en zonas amazónicas de Brasil, Colombia, Venezuela y Perú, del cual se obtiene oleorresinas y le atribuyen propiedades cicatrizantes, antiséptico, antiinflamatorio, antitumoral y antioxidante ⁽⁵⁾.

En el presente trabajo de investigación del efecto hepatoprotector de las hojas de *Copaifera paupera* (copaiba) se realizó un modelo experimental preclínico en ratas albinas inducidas a toxicidad hepática aguda con paracetamol, los indicadores bioquímicos de evaluación hepática fueron las transaminasas, fosfatasa alcalina, bilirrubina total, albúmina y proteínas totales, se observó efecto hepatoprotector y sustentados con investigaciones nacionales e internacionales.

CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad problemática

A nivel mundial las enfermedades hepáticas representan aproximadamente 2 millones de muertes cada año, 1 millón por complicaciones de cirrosis, 1 millón por carcinoma hepatocelular y hepatitis viral. La cirrosis representa en el mundo la undécima causa más común de muerte, el cáncer de hígado representa la décimo sexta causa de muerte. Aproximadamente 2 mil millones de personas consumen alcohol a nivel mundial y más de 75 millones corren riesgo de adquirir enfermedad hepática por consumo de alcohol, por otro lado, alrededor de 2 mil millones de adultos son obesos y más de 400 millones de personas padecen de diabetes ambas patologías son factores de riesgo para padecer de enfermedad hepática grasa no alcohólica y carcinoma hepatocelular ⁽⁶⁾. La valoración de la función hepática se usa generalmente para; identificar ausencia o presencia de daño hepático, valorar la severidad e identificar pronóstico, monitorear la enfermedad del hígado; los exámenes específicos que se usan para evaluar la función del hígado incluyen análisis de albúmina, proteínas totales, aspartato aminotransferasa (TGO o AST), alanino amonitransferasa (TGP o ALT), fosfatasa alcalina, bilirrubina total y directa ⁽⁷⁾. Las plantas medicinales son un importante recurso para la investigación farmacológica ya que durante miles de años han mostrado importante papel para la prevención y tratamiento de enfermedades, dentro de las plantas medicinales encontramos a especies de *Copaifera* que pertenecen a la familia Fabáceas, estas especies en especial las oleorresinas que se obtienen de sus tallos se usan con fines medicinales que incluyen cicatrización de heridas, antiinflamatorio, antiulceroso, antibacteriano, antitumoral ⁽⁸⁾. Las especies de copaiba son arbustivas y pueden alcanzar 40 metros de altura, se distribuyen en todo el mundo en especial en América Central y América del Sur ⁽⁹⁾.

1.2. Problemas

1.2.1. Problema general

1. ¿Presentará efecto hepatoprotector el extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) en ratas albinas?

1.2.2. Problemas específicos

1. ¿Tendrá metabolitos secundarios el extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)?
2. ¿Cuál será la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) que posee efecto hepatoprotector en ratas albinas?
3. ¿Cuál será el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) comparado con silimarina en ratas albinas?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

1. Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) en ratas albinas

1.3.2. Objetivos específicos

1. Identificar los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) mediante análisis fitoquímico cualitativo
2. Precisar la concentración del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) que posee efecto hepatoprotector en ratas albinas
3. Comparar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) con silimarina en ratas albinas.

1.4. Justificación e importancia del estudio

La presente investigación pretende dar a conocer los beneficios de las hojas de copaiba frente a problemas hepáticos, debido a la presencia de metabolitos secundarios que podrían aportar beneficios a la salud humana. El Perú es un país de variedad y diversidad biológica con muchas especies que aún no han sido descubiertas o investigadas. Tiene una riqueza de especies y su distribución depende de la latitud, el clima y la disponibilidad de agua y es uno de los centros mundiales de recursos genéticos y variabilidad genética con unas 182 especies de plantas registradas ⁽¹⁰⁾; es importante estudiar a la planta de copaiba porque aportará nueva información sobre el conocimiento de sus propiedades terapéuticas del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) sobre hepatotoxicidad aguda inducida con paracetamol en ratas albinas con el fin de mejorar su estado hepático.

El presente estudio pretende contribuir con el mejor conocimiento de las propiedades terapéuticas de la copaiba y brindar nueva alternativa de tratamiento a enfermedades hepáticas. Serán beneficiados con los resultados del presente proyecto la población en general, en especial a los pacientes que sufren de enfermedad hepática. Asimismo, los productores y comercializadores de la copaiba se benefician con el estudio porque al demostrar su efectividad se generará mayor demanda de compra.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Nacionales

Lara R, et al 2016 ⁽¹¹⁾. Desarrollaron el estudio “efecto hepatoprotector del *Asparagus officinalis* (espárrago verde) en daño inducido por fármacos antituberculosos”. Para el experimento preclínico emplearon tallos de espárrago y 4 grupos (n=8) de ratas albinas machos cepa Holtzman, administraron los tratamientos por vía oral; I) solución salina normal, II) espárrago 25 mg/kg, III) espárrago 50 mg/kg, IV) espárrago 100 mg/kg. Además, cada grupo recibió por 21 días vía oral Rifampicina e Isoniazida 50 mg/Kg. Evaluaron los siguientes criterios; cambio en heces y orina, transaminasas (AST, ALT) y bilirrubina total, y observación macroscópica del hígado y estructuras hepatocelulares. Encontraron que en el primer peso disminuyó el peso en 8,06 %, el color de la orina y heces fue marrón oscuro porcentualmente mayor a los otros grupos y aumento significativo de transaminasas respecto a los otros tres grupos. Así mismo, en el primer grupo se observó dilatación severa de la sinusoide, infiltración de células inflamatorias y congestión alrededor de vena centrolobulillar a diferencia de los otros tres grupos de tratamiento. Concluyen que el tallo del espárrago tiene efecto hepatoprotector frente al daño inducido por fármacos antituberculosos en ratas albinas.

Sánchez C, et al. 2015 ⁽¹²⁾. Desarrollaron el estudio “efecto hepatoprotector de fruta de la *Opuntia ficus indica* (tuna) variedad morada en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol”. Para el experimento emplearon zumo de tuna obtenida con extractor casero, 36 ratas albinas machos peso promedio 269 g ± 22 g. La intoxicación hepática aguda a ratas fue con paracetamol vía oral 400 mg/Kg, la evaluación de la función hepática se realizó mediante la valoración de albúmina sérica, alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), gamma glutamil transferasa (GGT), bilirrubina indirecta, directa y total, proteínas totales séricas, ácido tiobarbitúrico en suero e hígado. Encontraron que la tuna disminuyó el ALT en tres grupos experimentales y el GGT, AST disminuyó en

el grupo IV, así mismo en los grupos V y VI disminuyó la bilirrubina total, los tratados con tuna disminuyó los niveles de TBARS en suero y tejido hepático respecto al grupo II. Llegaron a la conclusión que la tuna presentó efecto hepatoprotector en ratas albinas.

Alba A, et al. 2011 ⁽¹³⁾. Desarrollaron el estudio “efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera officinalis* (copaiba), en pacientes con úlcera péptica” El estudio fue experimental, aleatorio, clínico y comparativo de fase II, doble ciego, participaron pacientes diagnosticado con úlcera péptica, la técnica de endoscopia fue de elección, el tratamiento de los datos fue mediante técnicas multivariadas, trabajaron con significancia del 95 %, se tuvo presente el consentimiento informado el mismo que fue aprobado por el comité de bioética del Instituto de Investigaciones clínicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Encontraron que el 65 % y 75 % presentaron cicatrización de úlcera péptica con aceite de copaiba y no presentaron efectos secundarios significativos.

Almora Y, et al. 2009 ⁽¹⁴⁾. Desarrollaron el estudio “Efecto citoprotector y antisecretor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas”. El estudio fue experimental preclínico. Usaron aceite de copaiba y ratas albinas. De Ucayali, Pucallpa obtuvieron el aceite de copaiba. El ensayo de citoprotección se realizó con indometacina, se formó un grupo control normal, indometacina, grupos de aceite de copaiba y omeprazol. Las lesiones de la mucosa gástrica fueron valoradas como: necrosis local, enrojecimiento, hemorragia e hiperemia, según escala modificada de Macallister. El ensayo antisecretor se realizó por método de ligadura del píloro, las ratas fueron separadas al azar en 3 grupos (n = 8); se administró control solución salina normal, aceite de copaiba 40mg/kg y omeprazol 10 mg/kg. Luego de 4 horas de la ligadura, las ratas fueron sacrificadas y se extrajo los estómagos; se valoró el pH y volumen de la secreción gástrica por potenciometría. Hallaron 100 % de efecto citoprotector con el aceite de copaiba y de 97,8 % con omeprazol (p < 0,0001), los

hallazgos fueron ratificados estudios histopatológicos; el volumen de secreción disminuyó en 79,4 % con omeprazol y 42,8 % con aceite de copaiba ($p < 0,001$), hubo aumento del pH. Concluyen que el aceite de copaiba presentó efecto gastro protector en ratas inducidos a úlcera gástrica.

Godoy J, 2017 ⁽¹⁵⁾. Desarrollaron el estudio “Actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Copaifera officinalis* (copaiba) sobre *streptococcus mutans*, Chimbote, 2017”. El aceite de *Copaifera officinalis* lo obtuvieron de la casa naturista “Santa Natura” al 100 %. Prepararon 3 concentraciones diferentes al 15 % 10 % y 5 % utilizando como diluyente el dimetilsulfoxido y las cepas que se obtuvieron del laboratorio de la sección de Microbiología de la Facultad de Medicina Universidad Nacional de Trujillo. Se prepararon colonias jóvenes en agar Mueller Hinton- sangre (*S. mutans*), se prepararon suspensiones ajustadas a la turbidez del estándar 0.5 de MC Farland (1.5×10^8 UFC/ml). Para determinar el efecto antimicrobiano se empleó el método de difusión de Kirby y Bauer utilizando como control clorhexidina. Los resultados que se encontraron fueron la diferencia significativa entre las diferentes concentraciones del aceite de corteza de *Copaifera officinalis* y el fármaco de control, sobre el crecimiento del *Streptococcus mutans*, dado que el valor de P de la tabla de análisis de varianza es menos que 0,05. Concluyen, que existe actividad antimicrobiana in vitro del aceite del aceite de *Copaifera officinalis* sobre el crecimiento microbiano, siendo la concentración al 15 % la que obtuvo mayor actividad antimicrobiana.

Alcántara W, et al. 2015 ⁽¹⁶⁾. Desarrollaron el estudio “Efecto protector de la resina de *Copaifera officinalis* “copaiba” en lesiones gástricas inducidas por indometacina en *Rattus rattus* var. albinus en la ciudad de Cajamarca”. Realizaron un estudio experimental de estímulo creciente, para determinar el efecto de la resina de Copaiba sobre las lesiones gástricas. La división de los grupos se realizó aleatoriamente, en: 1) grupo blanco (cloruro de sodio 0,9 %), 2) control (ranitidina de 300 mg en una dosis de 50 mg/kg p.c), 3) problema 1 (Copaiba 2 mL/kg p.c) y 4) problema 2 (Copaiba 4 mL/kg p.c), y

para la interpretación de resultados se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas. Hallaron que la resina de *Copaifera officinalis* “copaiba” a dosis de 2 mL/kg p.c. utilizados en especímenes con lesión gástrica inducida, presentó un porcentaje de inhibición del 51 %. Sin embargo, el consumo en dosis doble (4 mL/kg p.c) de la resina de *Copaifera officinalis* “Copaiba” en especímenes con lesiones gástricas inducidas presentó un porcentaje de inhibición del 77 %, siendo la dosis más efectiva en el estudio. Concluyen que la resina de Copaiba a dosis de 4 mL/kg p.c. tiene mayor efecto protector que la ranitidina a dosis de 50 mg/kg p.c. con valor de $p \leq 0,001$, diferencia estadísticamente significativa y con una confiabilidad del 99,9 %

2.1.2. Internacionales

Almasi F, et al. 2017 ⁽¹⁷⁾. Desarrollaron el estudio “efectos hepatoprotectores del extracto hidroalcohólico de *Tribulus terrestris* (abrojo) en ratas con Inducción de hígados grasos no alcohólico”. Para el estudio experimental emplearon ratas Wistar macho divididos en 5 grupos (n = 6). El extracto se administró vía intraperitoneal en forma diaria; 500 mg/kg, 700 mg/kg y 1000 mg/kg de extracto de *T. terrestres* junto a una dieta alta en fructosa (70 %). El grupo control recibió alimento estándar. Valoraron los bio-marcadores séricos hepáticos, perfil lipídico e histología del hígado. Realizaron análisis de varianza y test de Tukey. Encontraron mejoría en los valores de perfil lipídico y bio-marcadores hepáticos en ratas que fueron tratados con el extracto, los niveles de lípidos en hepatocitos disminuyeron en forma significativa. Concluyen que el extracto hidroalcohólico de *T. terrestris* demostró tener efecto hepatoprotector en hígado graso no alcohólico.

Tillán I, et al. 2009 ⁽¹⁸⁾. Desarrollaron el estudio “actividad hepatoprotectora del extracto acuoso seco de *Boerhavia erecta* L. (tostón) en ratas”. Para el experimento emplearon ratas macho Wistar, administraron por vía oral el extracto acuoso durante 5 días 250 mg/kg y 500 mg/kg, en el día 5 indujeron toxicidad hepática aguda con mezcla de tetracloruro de carbono y aceite de oliva (1:1) 1 mL/kg, pasado 24 horas se obtuvo muestras de sangre para valorar la actividad de enzimas alanino aminotransferasa. Seguido, se

sacrificó a los animales se obtuvo el hígado para realizar estudio histológico. Encontraron que la actividad de la enzima alanino aminotrasferasa disminuyó de manera significativa con la dosis de 500 mg/kg, se observó protección del 100 % del parénquima hepático de los animales. Demostraron que el extracto acuoso de *Boerthavia erecta L*, tiene efecto hepatoprotector en ratas albinas.

Bafna A, et al. 2005 ⁽¹⁹⁾. Realizaron el estudio. “Efecto del extracto de metanol de *Achyranthes aspera linn*. Sobre la hepatotoxicidad inducida por rifampicina en ratas”. Usaron extracto metanólico de las partes aéreas de *Achyranthes aspera linn*, la hepatotoxicidad aguda fue producida por rifampicina 1 g/kg. La hepatotoxicidad se comprobó por significativo aumento de los valores de SGPT-ALT, SGOT-AST, FA y bilirrubina como indicadores de lesión hepática aguda y obstrucción biliar. Los tratamientos con extracto metanólico se comprobó por disminución dependiente de la dosis de los indicadores mencionados. Hallaron que la dosis mínima eficaz del extracto metanólico fue 100 mg/kg. En los estudios histopatológicos hubo mejoras en la actividad hepatoprotectora. Concluyen que el extracto metanólico tuvo efecto antihepatotóxico frente a intoxicación inducida por rifampicina.

Pieri F, et al. 2012 ⁽²⁰⁾. Desarrollaron el estudio “efecto bacteriostático del aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) contra *Streptococcus mutans*”. Valoraron la actividad inhibitoria del aceite de copaiba (*Copaifera officinalis*) frente al *Streptococcus mutans*. Realizaron una prueba de concentración de inhibición mínima utilizando el método de dilución en caldo. Formaron un grupo control negativo, control positivo (0,12 % de clorhexidina) y solución al 10 % de aceite de copaiba. Realizaron a la vez prueba de concentración bactericida mínima en tubos de inhibición microbiana. Hallaron que el aceite de copaiba tuvo inhibición del crecimiento bacteriano en todas las concentraciones probadas hasta 0,78 µl / ml de la copaiba al 10 %. Además, el control negativo no tuvo inhibición y la solución de clorhexidina al 0,12 % fue efectiva hasta 6.25 µL / mL. El aceite de copaiba mostró una actividad bacteriostática contra *S. mutans* en bajas concentraciones, y podría ser una

opción del agente fitoterápico para usar contra las bacterias cariogénicas en la prevención de la enfermedad de la caries.

Oliveira A, et al. 2008 ⁽²¹⁾. Realizaron el estudio “actividad antimicrobiana de los aceites de copaiba brasileña obtenida de diferentes especies del género *Copaifera*”. Evaluaron la actividad antimicrobiana de los aceites de copaiba frente a bacterias Grampositivas y Gramnegativas, levadura y dermatofitos. Obtuvieron aceite de *Copaifera martii*, *Copaifera officinalis* y *Copaifera reticulata* (recolectados en el estado de Acre) fueron activos contra especies grampositivas (*Staphylococcus aureus*, *resistentes a la meticilina*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* y *Enterococcus faecalis*) con concentraciones mínimas que van desde 31,3-62,5 µg/mL. Los aceites mostraron actividad bactericida, disminuyendo la viabilidad de estas bacterias grampositivas en 3 h, se observó actividad moderada contra hongos dermatofitos (*Trichophyton rubrum* y *Microsporum canis*). Los aceites no mostraron actividad contra las bacterias gramnegativas y la levadura. En la microscopía electrónica de *S. aureus* tratada con aceite de resina de *C. martii* reveló la lisis de las bacterias, causando aglomerados La microscopía electrónica de transmisión reveló roturas y daños en la pared celular, lo que resultó en la liberación de compuestos citoplásmicos, alteraciones en la morfología y una disminución en el volumen celular, lo que indica que el aceite de copaiba puede afectar la pared celular.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Planta de *Copaifera Paupera* (Copaiba)

a. Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Caesalpiniaceae

Género: *Copaifera*

Especie: *Copaifera paupera* (Herzog) Dwy

b. Aspectos generales de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwy

Las plantas de copaiba tienen características arbustivas, pueden alcanzar hasta 40 metros de altura, su crecimiento es lento y puede vivir unos 400 años, sus tallos son cilíndricos y contienen canales secretores donde se forman las oleorresinas producidas por células del parénquima del canal, sus hojas son alternas, pinnadas, suelen presentar puntos y glándulas translúcidas, su inflorescencia son panículas alternas, los botones florales están protegidas por brácteas, los frutos son bivalvos, comprimidos lateralmente y monospermos, la semilla es oblongo globoso sin endospermo ⁽⁹⁾.

c. Constituyentes fitoquímicos y usos medicinales de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwy

El aceite de copaiba se forma como productos de la descomposición de las membranas celulares en el interior del tronco del árbol, es el producto del metabolismo secundario de la planta. La composición química del aceite es el 15 % de aceite volátil y el 85 % por resinas y ácidos grasos. Entre las resinas con acción biológica tenemos: sesquiterpenos, diterpenos “ácido copaiba y ácido kaurenico” y ácidos terpenicos. En cuanto a los ácidos grasos está formado por un 60 % de ácidos grasos insaturados, y un 36 % de ácidos grasos saturados como el vaccenico, elaidico, linoleico, palmítico 7,10 octadinoico, behenico y el lignocerico. El 4 % restante lo conforman: ácido araquidónico, esqualeno butil hidroxitolueno y vitamina E ⁽²²⁾.

Entre sus usos medicinales se encuentran; la decocción de la oleorresina lo usan como antiinflamatorio y anticonceptivo, para cicatrizar heridas con aplicación tópica del aceite, en forma de masajes en la cabeza se usa para controlar convulsiones, dolores y parálisis, para caso de inflamación, bronquitis se ingiere dos gotas de aceite mezclada con miel, así también es usado para lavar heridas infectadas. El copaiba tiene una variedad de indicaciones etnofarmacológicas como para el tratamiento de cistitis, gonorrea, sífilis, faringitis, bronquitis, neumonía, sinusitis, psoriasis, eccema, leucorrea, dolores de cabeza, mordeduras de serpiente, antihelmínticas, anticancerígenas, antitumorales ⁽⁹⁾.

2.2.2. Anatomía y fisiología del hígado

El hígado se ubica detrás de los cartílagos costales y las costillas, pesa aproximadamente 2,5 kg, su diámetro transversal es entre 20 – 22,5 cm y vertical entre 15 – 17 cm. El parénquima hepático está constituido por lóbulos unido por tejido alveolar en el cual se ramifica la arteria hepática, vena porta, venas hepáticas, nervios y linfáticos revestidos por una túnica serosa y fibrosa, la túnica serosa reviste la mayor cantidad de la superficie del hígado el cual se encuentra firmemente adherida a la túnica fibrosa. Los vasos que se relacionan con el hígado son la vena porta, arteria y venas hepáticas, a estos elementos se relacionan los vasos linfáticos y los nervios. La arteria hepática es responsable de abastecer de sangre arterial al hígado y representa de 25 a 30 % del flujo de sangre hepático, la arteria hepática derecha ingresa al triángulo cístico donde origina la arteria cística, la arteria hepática media es originada por la arteria hepática izquierda ⁽²³⁾.

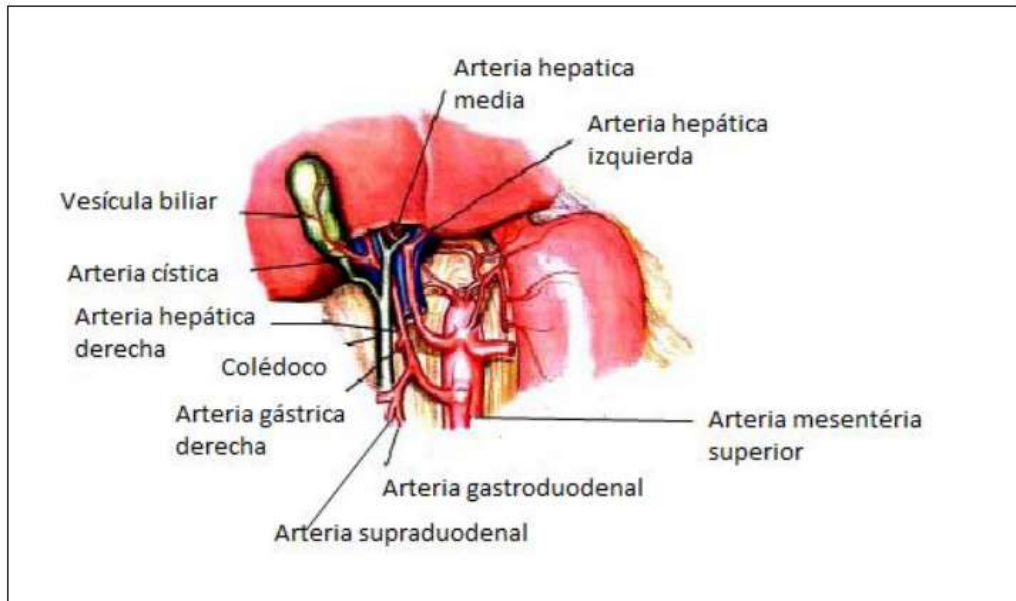


Figura 1. Arterias hepáticas

Fuente. Pedone F. 2013 ⁽²³⁾.

El hígado, fisiológicamente cumple múltiples funciones metabólicas, homeostáticas, digestivas, reservorio e inmunológica, permite flujo aproximado de 1,5 L de sangre cada minuto. Los hepatocitos presentan estructuras poliédricas, núcleo central ovalado o redondeado, en el hombre representan el 80 % de las células hepáticas. El hígado diariamente produce bilis 0,15 – 0,16 mL/min, esta producción depende de la síntesis de ácidos biliares por las células hepáticas y es influenciado por la motilidad intestinal, ingesta de alimentos y funcionamiento de la vesícula biliar, la bilis es la principal vía de excreción del colesterol, sin embargo, aproximadamente el 70 % de colesterol se esterifica a ácidos grasos ⁽²³⁾.

El hígado es un órgano multifuncional, se le atribuye más de 500 funciones, entre las principales tenemos: depura y filtra la sangre, produce bilis por el cual se digiere la grasa en el intestino, excreta colesterol, absorbe vitaminas liposolubles, metaboliza lípidos, proteínas, carbohidratos, minerales y vitaminas, mediante células de Kupffer

fagocitan bacterias, parásitos, virus y cumple función de desintoxicación, así mismo producen heparina, protrombina y fibrinógeno ⁽²⁴⁾.

2.2.3. Enfermedades del hígado

Las enfermedades que afectan al hígado pueden clasificarse en dos grandes grupos: necrosis celular y colestasis ⁽⁷⁾:

1. Necrosis Celular

- Aguda: Hepatitis viral, hepatitis tóxica, hepatitis alcohólica, necrosis isquémicas
- Crónica: Hepatitis crónica activa, hepatitis autoinmune, cirrosis

2. Colestasis

- Intrahepática
 - Difusa: Inducida por medicamentos, cirrosis biliar primaria
 - Focal: Tumor metastásico, granuloma, colelitiasis intrahepática
- Extrahepática
 - Cálculo y tumor

2.2.4. Hepatotoxicidad inducida por fármacos

Algunos grupos de fármacos y dependiendo de la dosis suelen producir hepatotoxicidad, en la tabla siguiente se indican fármacos que afectar la función hepática:

Tabla 1. Fármacos que producen daño hepático dependiente de la dosis

Fármaco	Efecto dosis dependiente
Amiodarona	Dosis acumulada: esteatohepatitis
Anticonceptivos orales	Dosis acumulada: asociación con adenomas hepáticos
Bromfenaco	Dosis acumulada: necrosis de hepatocitos
Ciclofosfamida	Dosis altas: necrosis de hepatocitos
Ciclosporina	Dosis altas: lesión colestásica
Cocaína	Dosis altas: necrosis isquémica
Metotrexato	Dosis altas o acumulada: necrosis de hepatocitos, fibrogenesis
Niacina	Dosis altas: necrosis isquémica
Paracetamol	Sobredosis: necrosis de hepatocitos, apoptosis

Fuente. Tejada F. 2010 ⁽²⁵⁾.

Las reacciones hepatotóxicas en su mayoría no presentan síntomas, habitualmente en análisis de sangre se detecta aumento de transaminasas (ALT y AST) o aumento de las enzimas GGT y Fosfatasa alcalina, bilirrubina total, entre los síntomas pueden aparecer hiporexia, astenia, ictericia, malestar general y molestias en el hipocondrio lado derecho ⁽²⁵⁾.

Tabla 2. Fármacos que producen lesión hepática y tipo de célula afectada

Tipo de célula afectada	Cuadro clínico-patológico	Ejemplos
Lesión hepatocitos	Hepatitis Aguda Hepatocelular	Paracetamol Halotano Isoniazida Diclofenac Sulfamidas Trazodona Nefazodona Troglitazona
	Hepatitis colestásica/mixta aguda	Amoxicilina/Ac.clavulánico Macrólidos (Eritromicina) Clorpromacina
	Hepatitis Granulomatosa	Difenilhidantoína Alopurinol Sulfamidas Diltiazem
	Hepatitis Crónica	Nitrofurantoina Diclofenac Metildopa Bentazepan
	Esteatosis-Esteatohepatitis	Amiodarona Tetraciclinas Metotrexate Acido Valproico Inhibidores Transcriptasa inversa Corticoides / Estrógenos Tamoxifeno Antagonistas del calcio
	Adenoma/adenocarcinoma hepático	Anticonceptivos orales Andrógenos
Colangiocito	Colestasis aguda	Anabolizantes Estrógenos
	Colestasis crónica	Clorpromacina
	Colangitis esclerosante	
Célula Endotelial	Enfermedad venooclusiva	Azatioprina
	Dilatación sinusoidal	Acido nicotínico
	Peliosis hepática	Agentes quimioterápicos (ciclofosfamida)
	Síndrome Budd-Chiari	Anticonceptivos orales/anabólicos
Células estrelladas (Ito)	Fibrosis perisinusoidal	Metotrexate Vitamina A

Fuente. Tejada F. 2010 ⁽²⁵⁾.

2.2.5. Paracetamol

El paracetamol también conocido como acetaminofén, es un fármaco analgésico y antipirético de uso frecuente en la clínica, es efectivo, bajo costo y se comercializa libremente lo cual permite automedicación y sobredosificación accidental el cual aumenta sus efectos tóxicos principalmente a nivel hepático. En el año 1960 fue aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) en tableta de 325 mg de liberación inmediata, en 1973 se aprobó cápsulas de 500 mg y en 1975 se aprobó tabletas de 500 mg, la FDA establece que el paracetamol es efectivo y seguro hasta dosis máxima de 4 g por día ⁽²⁶⁾.

El paracetamol tiene buena biodisponibilidad oral, luego de 30 a 60 minutos alcanza máxima concentración plasmática, su vida media es de 2 horas, se metaboliza en el hígado por conjugación con el ácido glucorónico, sulfúrico o cisteína en 60 %, 35 % y 3 % respectivamente, un pequeño porcentaje del fármaco se N hidroxila por el citocromo P450 hasta la formación de N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI) el cual representa un metabolito potencialmente tóxico y en condiciones normales es erradicado por conjugación con grupos sulfhídricos y glutatión ⁽²⁶⁾. Las altas dosis de paracetamol producen aumento de NAPQI los cuales agotan las reservas del glutatión, aumente la producción de radicales y altere la homeostasis e inicie la apoptosis de células hepáticas y renales ocasionando disfunción orgánica y necrosis tisular, la necrosis hepática aparece en 12 horas.

Tabla 3. Características clínicas de intoxicación por paracetamol

Etapa	Características
Primeras 24 horas	Síntomas inespecíficos: malestar general, palidez, náuseas, vómito, diaforesis. Pruebas de función hepática dentro de límites normales
II. Entre 24 y 48 horas después de la ingestión	Mejoría sintomática; sin embargo, las pruebas de función hepática comienzan a alterarse
III. 72 a 96 horas después de la ingestión	Reaparecen síntomas con mayor severidad, ocasionalmente acompañados de ictericia o alteraciones en el estado de conciencia. Puede evidenciarse compromiso renal o pancreático y el paciente puede evolucionar a falla hepática fulminante. Elevación importante de pruebas de función hepática
IV. Después de 96 horas	Mejoría sintomática con completa recuperación clínica y de la función hepática si el paciente recibe un adecuado manejo

Fuente. Mancipe L, et al. 2010 ⁽²⁶⁾.

2.2.6. Metabolitos secundarios de las plantas

Los metabolitos secundarios o compuestos bioactivos que producen las plantas les sirven para protegerse de microorganismos, insectos o para adaptarse a ambientes adversos como la humedad, temperatura, sequía, intensidad de la luz entre otros, así mismo variedad de metabolitos secundarios cumplen funciones farmacológicas en humanos y han servido para la elaboración de medicamentos o extractos con fines terapéuticos, también se ha usado para la preservación de alimentos, entre los principales tipos de metabolitos secundarios identificados se encuentran los alcaloides, terpenos y compuestos fenólicos ⁽²⁷⁾.

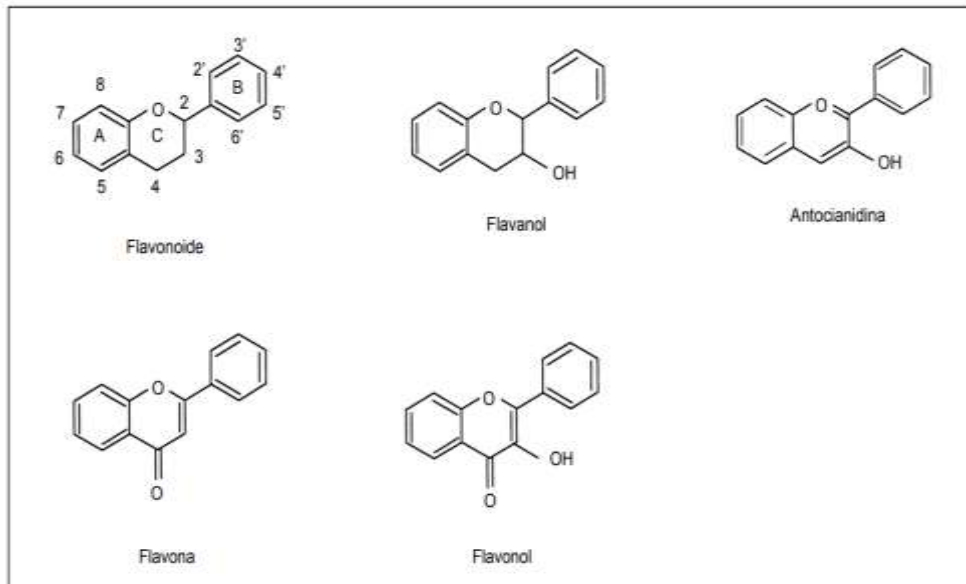


Figura 2. Estructura química básica de algunos tipos de flavonoides

Fuente. González J. 2002 ⁽²⁸⁾.

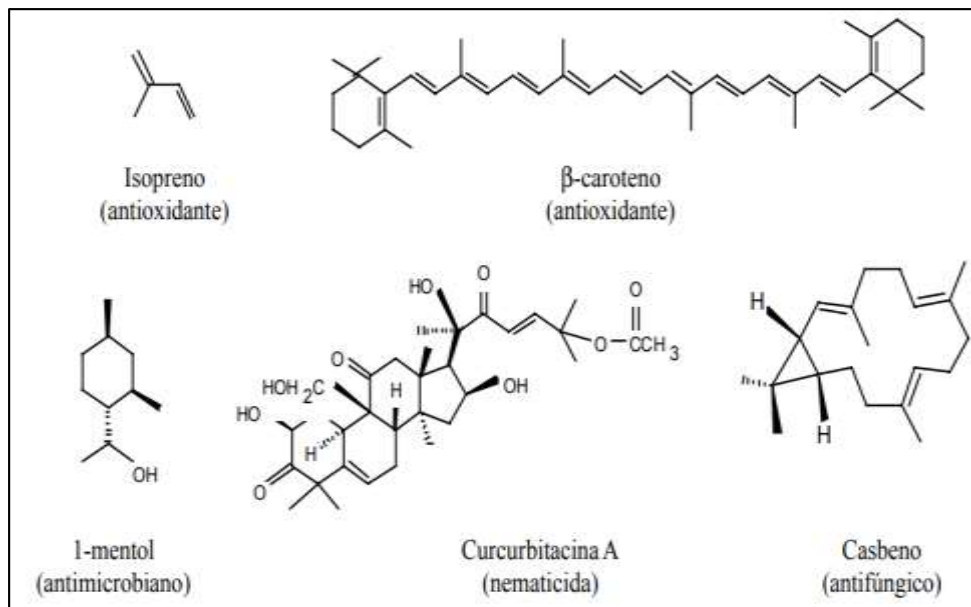


Figura 3. Estructura química de terpenos con efecto biológico

Fuente. Sepúlveda G. 2004 ⁽²⁹⁾.

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

1. El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) presenta efecto hepatoprotector en ratas albinas

2.3.2. Hipótesis específicas

1. El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) tiene metabolitos secundarios.
2. Existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) que posee efecto hepatoprotector en ratas albinas.
3. El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) tiene efecto hepatoprotector en comparación con silimarina en ratas albinas.

2.4. Variables

2.4.1. Tabla de operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Dimensión o aspecto	Indicadores
<p>Independiente Extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba)</p>	<p>Los componentes bio-activos que se encuentran en las plantas medicinales ha mostrado tener propiedades farmacológicas importantes para prevenir y tratar enfermedades que afectan a los humanos.</p>	<p>Prueba de solubilidad</p> <p>Marcha fitoquímica:</p>	<p>flavonoides, esteroides y/o triterpenoides, alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, azúcares reductores, grupo amino libre, glicósidos</p> <p>Agua, etanol 96%, metanol, cloroformo, acetona, n-butanol, hexano, acetato de etilo.</p>
<p>Dependiente: Efecto hepatoprotector</p>	<p>Los estudios preclínicos en animales experimentación son importantes para valorar la seguridad y efecto farmacológico de las plantas medicinales y sirven como sustento científico de nuestra flora medicinal</p>	<p>Prueba de función hepática</p>	<p>TGO TGP Fosfatasa alcalina Bilirrubina total Proteínas totales Albúmina</p>

2.5. Marco conceptual

- 1. Colestasis.** Enfermedad que se caracteriza por obstrucción del flujo de la bilis por las células hepáticas ⁽²³⁾.
- 2. Síndrome nefrótico.** Síntomas que indican niveles bajos de proteína en la circulación, además se suele encontrar proteína en orina, incremento de colesterol y triglicéridos, riesgo aumentado de síntesis de coágulos sanguíneos ⁽²⁴⁾.
- 3. Ictericia.** Se presenta color amarillo la piel y ojos por incremento de bilirrubina en la circulación sanguínea ⁽²³⁾.
- 4. Fármaco.** Compuesto químico usado para prevenir, aliviar, tratar o curar algún tipo de enfermedad que afecta al hombre o a los animales ⁽²³⁾.

5. **Fibrinógeno.** Sustancia que originan a la fibrina y participan en la formación de coágulos sanguíneos ⁽⁷⁾.
6. **Metabolismo.** Cambios químicos biológicos (anabolismo y/o catabolismo) que se dan en forma permanente en las células de un organismo vivo ⁽²³⁾.
7. **Plantas Medicinales.** Son especie vegetales que contienen componentes biológicamente activos y son útiles para prevenir o tratar enfermedades ⁽²⁷⁾.
8. **Antioxidantes.** Son sustancias químicas o biológicas con capacidad de neutralizar o depurar radicales libres o sustancias oxidantes con la finalidad de proteger a las células de efectos tóxicos ⁽²⁸⁾.
9. **Fitoterapia.** Ciencia que estudia las plantas con fines terapéuticos ⁽²⁹⁾.
10. **Inmunidad.** Mecanismos de defensa de un organismo frente a agentes infecciosos para evitar el desarrollo de enfermedades y depurar sustancias tóxicas originadas en el interior de las células como producto del envejecimiento, traumatismo, infecciones o crecimiento tumoral ⁽²⁴⁾.
11. **Toxicidad.** Capacidad de cualquier componente químico de origen natural o de síntesis para producir efectos nocivos sobre un organismo vivo ⁽²³⁾.

CAPÍTULO III: MÉTODO

3.1. Tipo de estudio

El estudio fue de diseño experimental, nivel explicativo, tipo aplicado, transversal y prospectivo. Es experimental porque se relacionó causa efecto, se observó la influencia de la variable independiente sobre la dependiente, se trabajó con grupos controles positivo y negativo; fue aplicada porque se empleó técnicas específicas de análisis y posterior explicación de los datos obtenidos y explicar estos conocimientos en la terapéutica, en nuestro caso sobre el efecto hepatoprotector, la formación de grupos experimentales fue aleatorio. El estudio fue prospectivo porque la observación se realizó conforme avanzó el tiempo y fue transversal porque se realizó una sola mediada de los indicadores propuesto de evaluación de función hepática ⁽³⁰⁾.

3.2. Diseño a utilizar

3.2.1. Recolección de la planta *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) (CYTED 2001) ⁽³¹⁾.

Las hojas de copaiba fueron recolectadas en la ciudad de Yurimaguas, provincia de Alto Amazonas, departamento de Loreto, ubicado a 148 metros sobre el nivel del mar. Se recolectó 800 g de hojas frescas seleccionadas y libre de polvo, luego se acondicionó en cajas de cartón y fueron trasladados a los laboratorios de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

3.2.2. Preparación del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) (Método de CYTED 2001) ⁽³¹⁾.

Las hojas recolectadas fueron deshidratadas en aire circulante a 40 °C, una vez secos se trituraron hasta polvo fino en molino casero marca National de acero quirúrgico. Se pesó 100 g de polvo seco y se maceró en 1 litro de etanol 96 % por 10 días, se agitó dos veces por día cada día. Luego de culminado el proceso de macerado se filtró con papel de filtro, el líquido filtrado se colocó en la estufa a 40 °C hasta obtención evaporación total del etanol y obtención de un extracto seco de peso constante, el extracto resultante se pesó y acondicionó en frasco de vidrio protegido de la luz y el calor, seguido se refrigeró hasta su uso.

3.2.3. Prueba de solubilidad (Lock O. 2016) ⁽³²⁾.

Se pesó 10 mg de extracto seco de hojas de copaiba, se colocó en el fondo de un tubo de ensayo y se añadió los siguientes solventes: agua, etanol 96 %, metanol, cloroformo, acetona, n-butanol, hexano, acetato de etilo.

3.2.3. Marcha fitoquímica (Lock O. 2016) ⁽³²⁾.

Se pesó 50 mg de extracto seco de hojas de copaiba, se solubilizó en etanol 96 %, luego para identificar los metabolitos secundarios se añadió cinco gotas de los reactivos siguientes:

Tabla 4. Reactivos para identificación de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

Reactivo	Metabolitos secundarios
1. Popoff	Alcaloides
2. Wagner	Alcaloides
3. Dragendorff	Alcaloides
4. Mayer	Alcaloides
5. Bertrand	Alcaloides
6. Sonnesnschein	Alcaloides
7. Lieberman Burchard	Triterpenoides y/o esteroide
8. Shinoda	Flavonoides
9. Gelatina	Taninos
10. Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos
11. Rosenhein	Leucoantocianidinas
12. Ninhidrina	Aminoácidos libres
13. Fehling A y B	Azúcares reductores

3.2.3. Determinación del efecto hepatoprotector (Método Guevara A, et al, 2014) ⁽³³⁾.

Se usaron 36 ratas albinas hembras cepa Holtzman con peso entre 200 ± 10 g del Instituto Nacional de Salud (INS), fueron trasladado al bioterio de la

Universidad Nacional Mayor de San Marcos, se aclimataron 5 días en condiciones normales de temperatura y humedad (23 °C, 60 %), ciclo luz-oscuridad fue 12h día y 12 h noche. Se alimentaron con dieta estándar obtenido del INS, ayunaron 12 horas antes del inicio del experimento con libre acceso al agua. La toxicidad hepática fue inducida con paracetamol 400 mg/kg durante 7 días, se administró por vía oral 30 minutos luego de haber administrado los tratamientos según el siguiente diseño experimental:

Tabla 5. Diseño experimental para ensayo de efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

Grupos de Tratamiento	Días de tratamiento	Número de animales
SSN 0,9 % 5 mL/kg	7	6
SSN 0,9 % 5 mL/kg + Paracetamol (P)	7	6
EEHCP 150 mg/kg + P	7	6
EEHCP 300mg/kg + P	7	6
EEHCP 500 mg/Kg + P	7	6
Silimarina 100 mg/kg + P	7	6

SSN=Solución salina normal

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

Al finalizar el tratamiento, los animales fueron sacrificados con sobre dosis de pentobarbital (100 mg/Kg), seguido se obtuvo muestra de sangre entre 3 a 4 mL por técnica de punción cardiaca. Seguido se determinó los valores de indicadores de evaluación de función hepática: TGO, TGP, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, proteínas totales y albúmina, los mismos que se realizaron según técnicas de laboratorio de los protocolos Valtek y Goñi L, et al (2011). Para la interpretación de los mismos se siguió los lineamientos de Prieto J, et al (2015).

3.2.4. Materiales, equipos y reactivos

a. Materiales

Beaker de vidrio de 100 mL (Pyrex)

Algodón CKF 100 g (Medical)

Gasa Médica 10 x 10 cm (Medical)
Papel de filtro Whatman N° 40 (Whatman)
Bagueta de vidrio
Gotero de plástico
Frasco de vidrio color ámbar de 2 L
Fuente de vidrio (Pyrex)
Guantes de látex descartable (Alkofarma)
Mascarilla descartable (Alkofarma)
Gorro descartable (Alkofarma)
Pipeta de vidrio 3 mL, 5 mL (Pyrex)
Propipeta de goma
Mortero y pilón de porcelana (Walderm)
Espátula de metal
Tubos de ensayo de vidrio 13 x 100 m (Pyrex)
Probeta de 100 mL (Boeco)
Cocinilla eléctrica
Jaula de metal para ratas

b. Equipos

Balanza analítica (Sartorius)
Balanza digital (Sartorius)
Estufa marca (Mettler)
Campana extractora (Mettler)
Molino casero Nacional de acero quirúrgico

c. Reactivo

Acetato de etilo 15 % (Merck)
Agua destilada
Benceno
Cloroformo 40 % (Merck)
Etanol 96 % (Merck)
n-butanol 99 % (Merck)

n. Hexano
Metanol 99 % (Merck)
Mayer (Merck)
Draguendorff (Merck)
Tricloruro férrico 40 % (Quimpack S.A.)
Gelatina más cloruro de sodio
Fehling A y Fehling B
Shinoda
Ninhidrina
Liebermann – Burchard
Paracetamol tabletas 500 mg Lote A01617A RS N.º EE-02752
laboratorio Genfar.
Silimarina tabletas 150 mg Lote 210010 RS N.º PNE-1225 Laboratorio
Sherfarma S.A.C

3.3. Población

- Población animal: Fue conformada por 36 ratas albinas hembras cepa Holtzman con peso entre 200 g
- Población vegetal: 06 kilos de hojas de la planta de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

3.4. Muestra

- Muestra animal: 6 grupos conformada por 6 ratas cada uno separados al azar, cada grupo recibió un tratamiento diferente, al final se obtuvo 36 muestras de sangre
- Muestra vegetal: 100 gramos de las Hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) pulverizadas.

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica fue la observación, los instrumentos fueron elaborados ad hoc y validado por juicio de experto, el registro de datos obtenidos se realizó de manera manual (Anexo 5).

3.6. Procesamiento de datos

Los datos obtenidos luego de la observación y análisis de indicadores de función hepática se registraron en una hoja de cálculo de Excel, los mismos se migraron al paquete estadístico SPSS (versión 24), luego se realizó análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía, test de Tukey y de Dunnet. Los valores fueron considerados estadísticamente significativo para $p < 0,05$. Los resultados se expresaron como el promedio \pm error estándar del promedio.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Prueba de solubilidad

Tabla 6. Ensayo de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

Solvente	Solubilidad
1. Agua	-
2. Etanol 96 %	+++
3. Metanol	+++
4. Cloroformo	+++
5. Acetona	++
6. N – Butanol	+
7. Hexano	-
8. Acetato de etilo	++
Leyenda: Muy soluble (+++), Soluble (++), Poco soluble (+), Insoluble (-)	

Fuente: Elaboración propia

El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) (EEHCP) en el ensayo de solubilidad se observó que fue muy soluble en etanol 96 %, metanol y cloroformo, soluble en acetona y acetato de etilo, poco soluble en n-butanol e insoluble en agua como se muestra en la tabla 6 y figura 4.

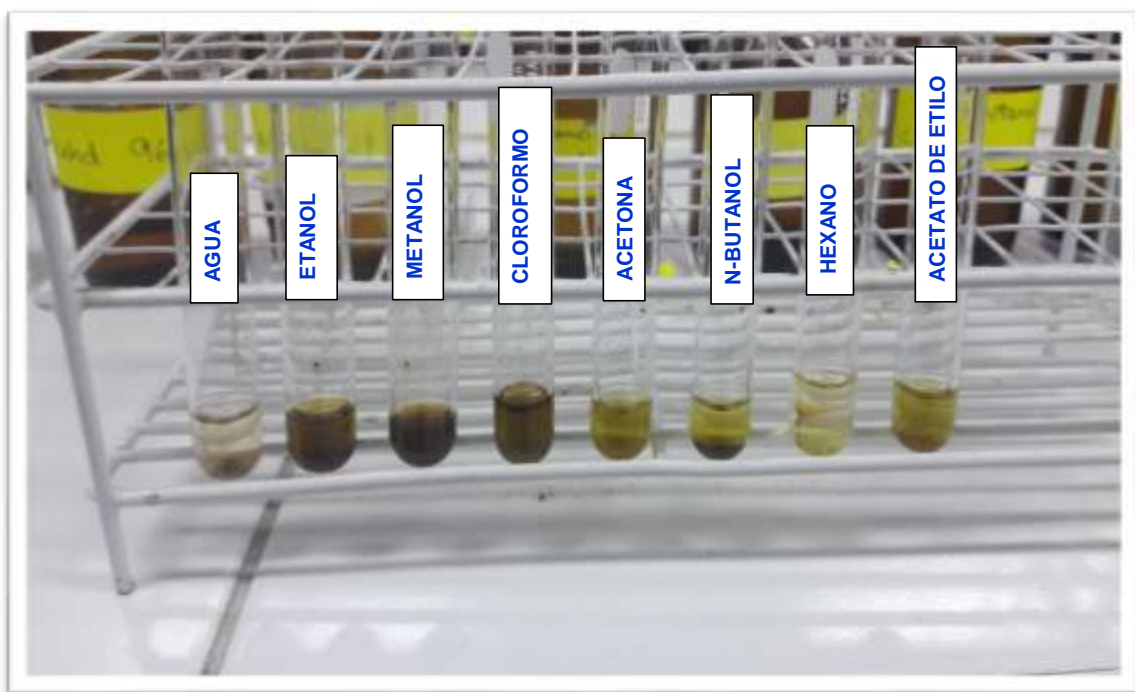


Figura 4. Ensayo de solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwy (copaiba)

Fuente. Elaboración propia

4.1.2. Marcha fitoquímica

En el EEHCP se identificó cualitativamente metabolitos secundarios: compuestos fenólicos, alcaloides y leucoantocianidinas en mayor proporción, en menor proporción se identificó flavonoides y taninos como se observa en tabla 7 y figura 5.

Tabla 7. Ensayo de marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba).

Reactivo	Constituyentes químicos	Resultado
1. Popoff	Alcaloides	-
2. Wagner	Alcaloides	+
3. Dragendorff	Alcaloides	+++
4. Mayer	Alcaloides	-
5. Bertrand	Alcaloides	++
6. Sonnenschein	Alcaloides	+++
7. Lieberman Burchard	Triterpenoides y/o esteroide	-
8. Shinoda	Flavonoides	+
9. Gelatina	Taninos	+
10. Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
11. Rosenheim	Leucoantocianidinas	+++
12. Ninhidrina	Aminoácidos libres	-
13. Fehling A y B	Azúcares reductores	-
14. Control	---	

Leyenda: Abundante (+++), Regular (++), Poco (+), Ausencia (-)

Fuente: Elaboración propia

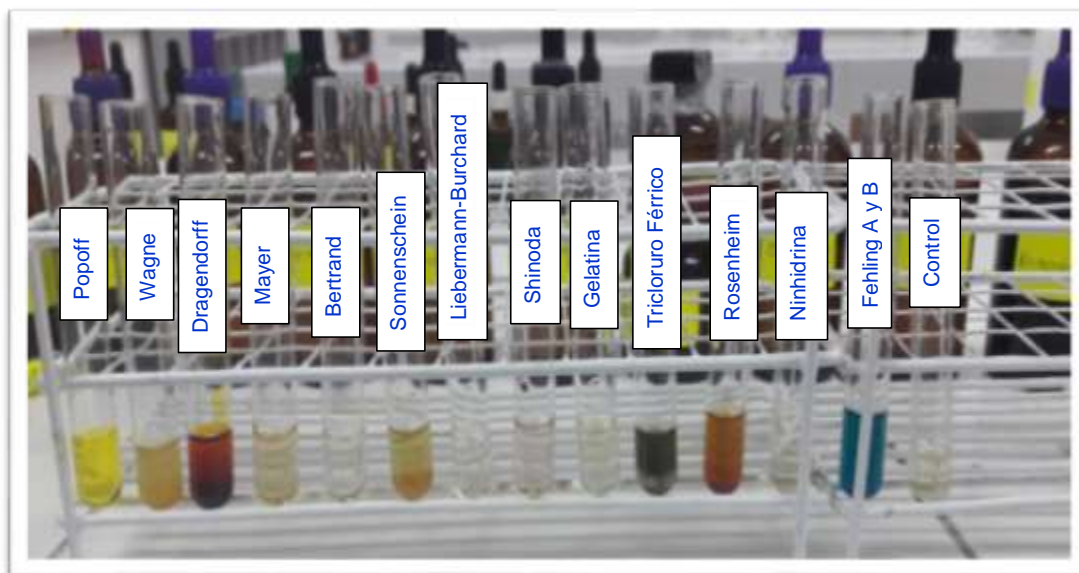


Figura 5. Ensayo de marcha fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

Fuente: Elaboración propia

4.1.3. Resultados del ensayo del efecto hepatoprotector

Los promedios de actividad enzimática de Transaminasa (TGO y TGP), Fosfatasa alcalina y los indicadores bioquímicos; albúmina, proteína totales y bilirrubina total se presentan en la tabla 8 y 9, y en las figuras 6, 7, 8, 9, 10 y 11. Se observa que los valores promedios de transaminasas (TGO, TGP), proteínas totales disminuyen en los grupos tratados con el EEHCP el cual fue dependiente de la dosis, la dosis de 500 mg/kg mostró efecto significativo ($p < 0,05$) respecto al grupo control inducido a hepatotoxicidad. Asimismo, el EEHCP disminuyó los valores de bilirrubina total y fosfatasa alcalina. Los valores promedios de la albúmina aumentaron con los grupos tratados con el EEHCP y en grupo de silimarina ($p < 0,05$).

Tabla 8. Valores medios de actividad de transaminasas (TGO, TGP) y fosfatasa alcalina en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba).

Perfil Hepático	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Fosfatasa Alcalina (U/L)
Tratamiento	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
SSN 5 mg/kg	10,22 ± 0,9	13,48 ± 0,8	110,17 ± 1,4
SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	47,22 ± 1,9	59,14 ± 2,0	163,71 ± 2,8
EEHCP 150 mg/kg + P	40,76 ± 1,5	54,40 ± 1,2	144,35 ± 3,2
EEHCP 300mg/kg + P	35,76 ± 0,9	43,95 ± 2,9	138,21 ± 1,9
EEHCP 500 mg/Kg + P	31,31 ± 1,6	36,86 ± 1,9	119,81 ± 3,2
Silimarina 100 mg/kg + P	29,50 ± 1,4	34,25 ± 3,2	122,19 ± 6,2

SSN=Solución salina normal

DE=Desviación estándar

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

Fuente. Elaboración propia

Tabla 9. Valores medios de albúmina, proteínas y bilirrubina totales en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba).

Perfil Hepático	Albúmina (g/dL)	Proteínas totales (g/dL)	Bilirrubina total (mg/dL)
Tratamiento	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
SSN 5 mg/kg	3,64 ± 0,1	6,95 ± 0,1	4,17 ± 0,1
SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	3,14 ± 0,1	7,05 ± 0,1	5,41 ± 0,1
EEHCP 150 mg/kg + P	3,20 ± 0,1	6,81 ± 0,1	5,33 ± 0,1
EEHCP 300mg/kg + P	3,42 ± 0,1	6,70 ± 0,1	4,91 ± 0,1
EEHCP 500 mg/Kg + P	3,60 ± 0,1	6,63 ± 0,1	4,37 ± 0,1
Silimarina 100 mg/kg + P	3,57 ± 0,1	3,62 ± 0,1	4,28 ± 0,1

SSN=Solución salina normal

DE=Desviación estándar

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

Fuente. Elaboración propia

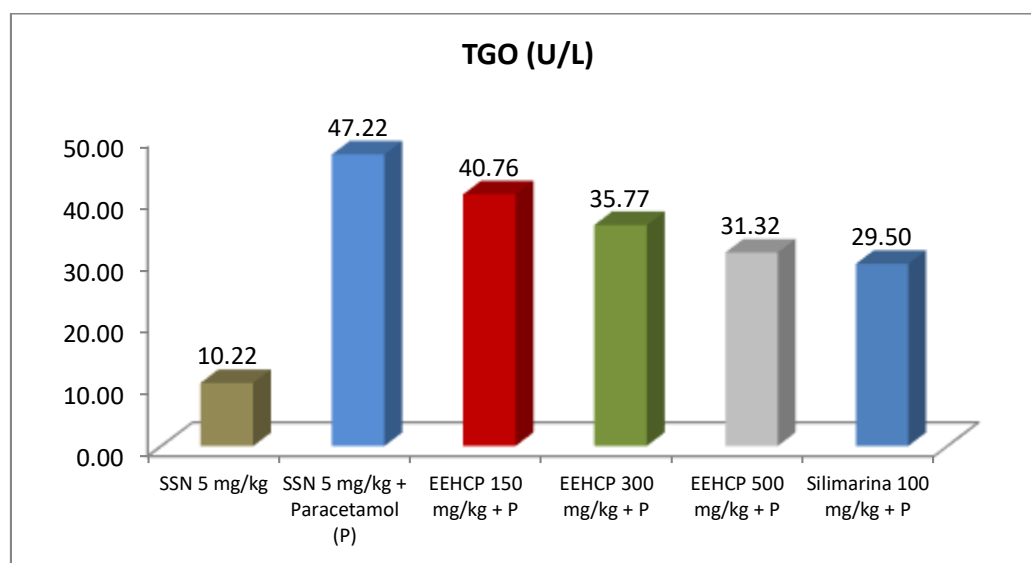


Figura 6. Valores promedios de TGO en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

SSN=Solución salina normal

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

Fuente: Elaboración propia

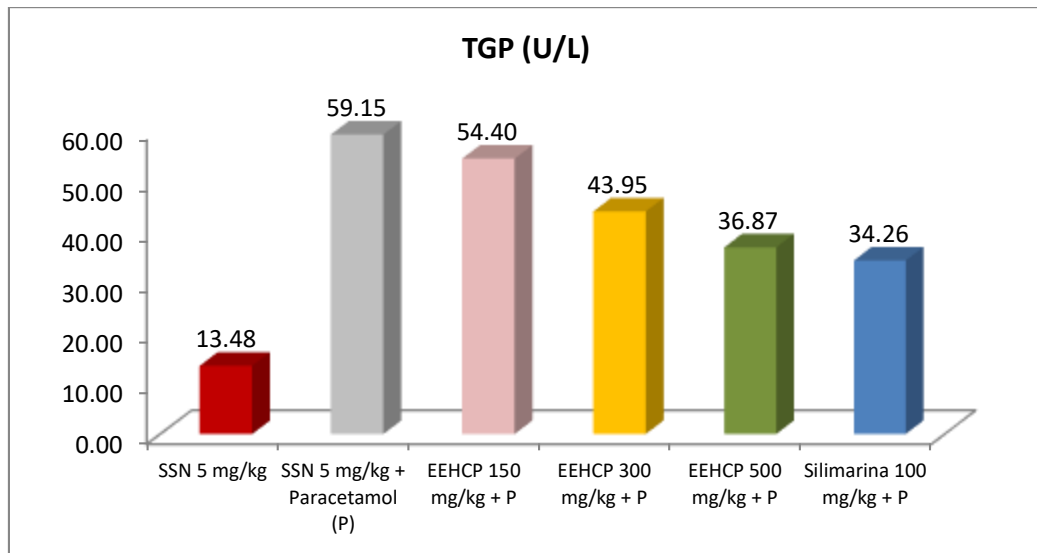


Figura 7. Valores promedios de TGP en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

SSN=Solución salina normal

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

Fuente: Elaboración propia

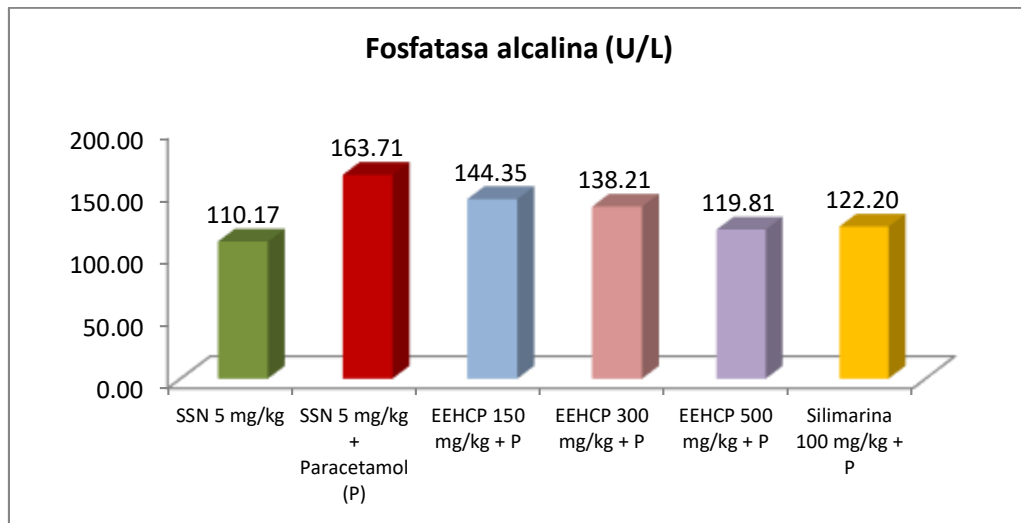


Figura 8. Valores promedios de Fosfatasa Alcalina en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

SSN=Solución salina normal

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

Fuente: Elaboración propia

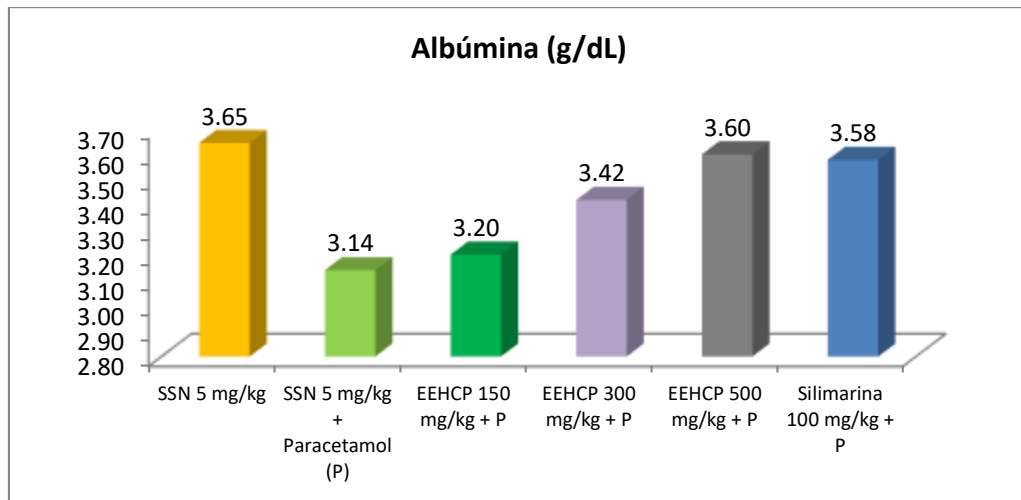


Figura 9. Valores promedios de Albúmina en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

SSN=Solución salina normal

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (copaiba)

Fuente: Elaboración propia

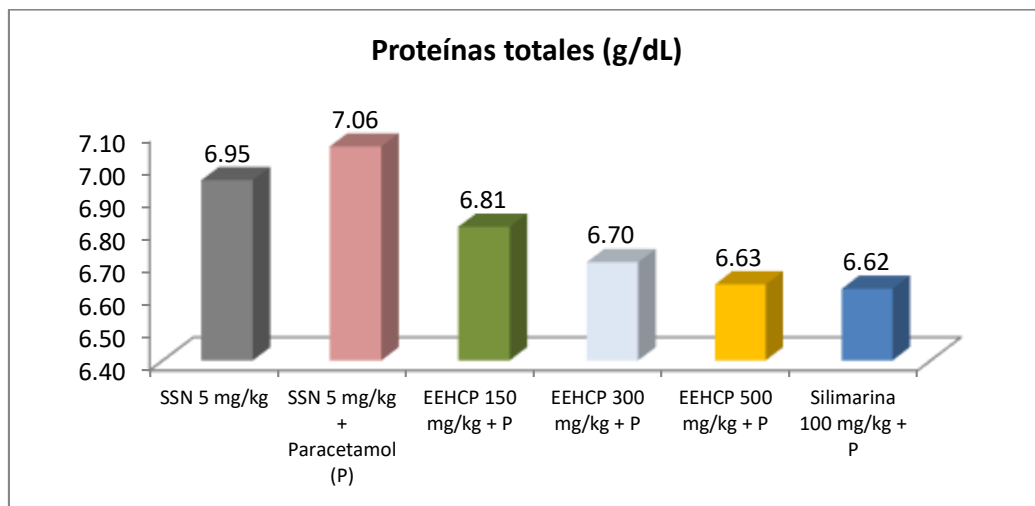


Figura 10. Valores promedios de Proteínas Totales en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

SSN=Solución salina normal

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba)

Fuente: Elaboración propia

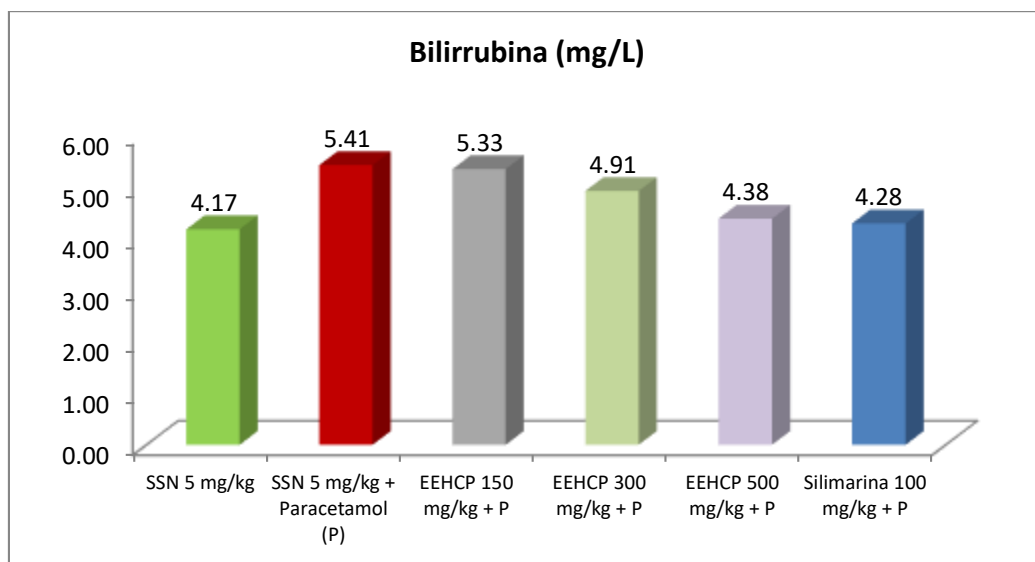


Figura 11. Valores promedios de Bilirrubina en sangre de ratas en el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (copaiba)

SSN=Solución salina normal

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (copaiba)

Fuente: Elaboración propia

4.2. Contrastación de hipótesis

4.2.1. Hipótesis general

H1: El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (copaiba) presenta efecto hepatoprotector en ratas albinas

H0: El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (copaiba) no presenta efecto hepatoprotector en ratas albinas

Tabla 10. Análisis de varianza del efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwy (copaiba).

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Albúmina (g/dL)	Inter-grupos	1.390	5	.278	48.714	.000
	Intra-grupos	.171	30	.006		
	Total	1.562	35			
Proteínas Totales (g/dL)	Inter-grupos	.955	5	.191	53.332	.000
	Intra-grupos	.107	30	.004		
	Total	1.063	35			
TGO (U/L)	Inter-grupos	4815.121	5	963.024	490.767	.000
	Intra-grupos	58.869	30	1.962		
	Total	4873.989	35			
TGP (U/L)	Inter-grupos	8009.415	5	1601.883	331.775	.000
	Intra-grupos	144.846	30	4.828		
	Total	8154.261	35			
Fosfatasa Alcalina (U/L)	Inter-grupos	11465.539	5	2293.108	187.412	.000
	Intra-grupos	367.069	30	12.236		
	Total	11832.608	35			
Bilirrubina Total (mg/L)	Inter-grupos	8.998	5	1.800	457.341	.000
	Intra-grupos	.118	30	.004		
	Total	9.116	35			

F=Estadístico F Sig.=Significancia gl=Grados de libertad

El valor de la significancia se obtiene por relación entre el grado de libertad y el estadístico F que asigna variación de los valores medios de los grupos. En nuestro caso el valor de significancia fue $p < 0,05$ el cual indica que los valores medios de los grupos son significantes.

Tabla 11. Análisis de Tukey de albúmina, proteínas totales y bilirrubina del efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba).

Grupos	Albúmina (g/dL)			PT (g/dL)			Bilirrubina (mg/L)				
	N	alfa = 0.05			alfa = 0.05			alfa = 0.05			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	4
SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	6	3.14			6.62			4.17			
EEHCP 150 mg/kg + P	6	3.20			6.63				4.28		
EEHCP 300 mg/kg + P	6		3.42		6.70				4.38		
Silimarina 100 mg/kg + P	6			3.58		6.81				4.91	
EEHCP 500 mg/kg + P	6			3.60			6.95				5.33
SSN 5 mg/kg	6			3.65			7.06				5.41
Sig.		0.72	1.00	0.65	0.20	1.00	0.06	1.00	0.13	1.00	0.31

N=número de animales

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

Sig.=Significancia

SSN=Solución salina normal

PT=Proteínas totales

En la tabla 11 se aprecia que la dosis 500 mg/kg del EEHCP tiene efecto diferente en los tres indicadores (albúmina, proteínas totales y bilirrubina) respecto a los otros grupos del extracto y al grupo control ($p < 0,05$). La dosis de 150 mg/kg y 300 mg/kg en la albúmina ambos tienen efecto similar pero sus promedios son diferentes respecto al control. El grupo de silimarina tiene efecto similar a la dosis 500 mg/kg del EHHCP en los valores de albúmina.

En la tabla 12 y 13 se observa que los valores promedios de los grupos tratados con el EHHCP tienen efecto diferente respecto al grupo control, el efecto es mayor cuando aumenta la dosis del extracto ($p < 0,05$).

Tabla 12. Análisis de Tukey de transaminasas (TGO, TGP) del efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba).

Grupos	TGO (U/L)					TGP (U/L)					
	N	alfa = 0.05					alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	6	10.22					13.48				
EEHCP 150 mg/kg + P	6		29.50					34.26			
EEHCP 300 mg/kg + P	6		31.32					36.87			
Silimarina 100 mg/kg + P	6			35.77					43.95		
EEHCP 500 mg/kg + P	6				40.76					54.40	
SSN 5 mg/kg	6					47.22					59.15
Sig.		1.00	0.25	1.00	1.00	1.00	1.00	0.34	1.00	1.00	1.00

N=número de animales Sig.=Significancia
 EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)
 SSN=Solución salina normal

Tabla 13. Análisis de Tukey de fosfatasa alcalina del efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba).

Grupos	Fosfatasa Alcalina (U/L)					
	N	alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	6	110.17				
EEHCP 150 mg/kg + P	6		119.81			
EEHCP 300 mg/kg + P	6		122.20			
Silimarina 100 mg/kg + P	6			138.21		
EEHCP 500 mg/kg + P	6				144.35	
SSN 5 mg/kg	6					163.71
Sig.		1.00	0.84	1.00	1.00	1.00

N=número de animales Sig.=Significancia
 EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)
 SSN=Solución salina normal

Por tanto y según el ANOVA y Tukey se acepta la hipótesis general H1.

4.2.2. Hipótesis específicas

a. Hipótesis específica 1

H1: El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) tiene metabolitos secundarios.

H0: El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) no tiene metabolitos secundarios.

Esta hipótesis se trata de un ensayo tipo cualitativo, por tanto, no requiere contrastación estadística de la hipótesis. Sin embargo, los resultados presentados en la tabla 7 se discuten en la sección de la discusión del presente trabajo.

b. Hipótesis específica 2

H1: Existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) que posee efecto hepatoprotector en ratas albinas.

H0: Existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) que no posee efecto hepatoprotector en ratas albinas

En las tablas 11, 12 y 13 se aprecia que la dosis de 500 mg/kg del EHHCP tiene mayor efecto hepatoprotector el cual es diferente y significativo respecto a las otras dosis estudiadas ($p < 0,05$).

Por tanto, se acepta la hipótesis 2.

c. Hipótesis específica 3

H1: El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) tiene efecto hepatoprotector en comparación con silimarina en ratas albinas.

H0: El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (copaiba) no tiene efecto hepatoprotector en comparación con silimarina en ratas albinas

Tabla 14. Análisis de Dunnett del efecto hepatoprotector en ratas albinas.

	(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
Bilirrubina total	SSN 5 mg/kg	Silimarina 100 mg/kg + P	-.11333	.03622	.016
	SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	Silimarina 100 mg/kg + P	1.12833	.03622	.000
	EEHCP 150 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	1.05167	.03622	.000
	EEHCP 300 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	.62833	.03622	.000
	EEHCP 500 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	.09333	.03622	.060
Fosfatasa alcalina	SSN 5 mg/kg	Silimarina 100 mg/kg + P	-12.03000	2.01954	.000
	SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	Silimarina 100 mg/kg + P	41.51167	2.01954	.000
	EEHCP 150 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	22.15167	2.01954	.000
	EEHCP 300 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	16.00667	2.01954	.000
	EEHCP 500 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	-2.38833	2.01954	.650
TGP	SSN 5 mg/kg	Silimarina 100 mg/kg + P	-20.77500	1.26862	.000
	SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	Silimarina 100 mg/kg + P	24.89333	1.26862	.000
	EEHCP 150 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	20.14000	1.26862	.000
	EEHCP 300 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	9.69667	1.26862	.000
	EEHCP 500 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	2.61000	1.26862	.173
TGO	SSN 5 mg/kg	Silimarina 100 mg/kg + P	-19.28333	.80876	.000
	SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	Silimarina 100 mg/kg + P	17.72000	.80876	.000
	EEHCP 150 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	11.26000	.80876	.000
	EEHCP 300 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	6.26667	.80876	.000
	EEHCP 500 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	1.81500	.80876	.120
Proteínas totales	SSN 5 mg/kg	Silimarina 100 mg/kg + P	.33333	.03456	.000
	SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	Silimarina 100 mg/kg + P	.43667	.03456	.000
	EEHCP 150 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	.19000	.03456	.000
	EEHCP 300 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	.08167	.03456	.094
	EEHCP 500 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	.01333	.03456	.994
Albúmina	SSN 5 mg/kg	Silimarina 100 mg/kg + P	.06667	.04362	.419
	SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P)	Silimarina 100 mg/kg + P	-.43667	.04362	.000
	EEHCP 150 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	-.37500	.04362	.000
	EEHCP 300 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	-.15833	.04362	.005
	EEHCP 500 mg/kg + P	Silimarina 100 mg/kg + P	.02167	.04362	.983

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba)

Sig.=Significancia

SSN=Solución salina normal

Fuente. Elaboración propia

En la tabla 14 se aprecia que el grupo de silimarina tiene efecto similar ($p > 0,05$) respecto a la dosis 500 mg/kg del EHHCP. Asimismo, la silimarina respecto a los otros grupos la diferencia de los promedios es diferente ($p < 0,05$), es decir tiene mejor efecto hepatoprotector que la dosis de 150 y 300 mg/kg del EHHCP.

Por lo tanto, el EHHCP no tiene efecto hepatoprotector significativo respecto a la silimarina, por tanto, se acepta la hipótesis nula H3.

4.3. Discusión

El paracetamol es un fármaco de uso frecuente como analgésico y antipirético, por su alta hidrosolubilidad es eliminada hasta 90 % por sulfación o gluconación, su metabolito el N-acetil-para-benzoilquinoneimina (NAPQI) es bastante tóxico, causan aumento de estrés oxidativo e inducen necrosis y daño de las células hepáticas, este mecanismo explicaría las lesiones hepáticas producidas por el paracetamol en los humanos y en modelo experimentales preclínico ⁽³⁴⁾. Valle M, et al. (2011) usaron el paracetamol en dosis de 600 mg/kg para inducir hepatotoxicidad a ratas, observaron necrosis y daño en los hepatocitos y consideraron como modelo válido para estudios preclínico ⁽³⁵⁾. Azarmehr N, et al. (2019) usaron el paracetamol 2 g/kg para inducir daño hepático a ratas, indican que el NAPQI aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno lo cual inducen a una disminución de la concentración de glutatión que conduce a daño hepático, así mismo hallaron aumento significativo de transaminasa (TGO, TGP), fosfatasa alcalina, bilirrubina en muestras sanguíneas ⁽³⁶⁾. Moshai P, et al. (2018), emplearon paracetamol 500 mg/kg vía intraperitoneal el cual aumentó significativamente los valores de transaminasa, fosfatasa alcalina sérica y bilirrubina total ⁽³⁷⁾. Estos estudios son compatibles con nuestros resultados (tabla 8 y tabla 9) el cual se muestra que el paracetamol aumentó significativamente los valores de transaminasa (TGO, TPG), fosfatasa alcalina, bilirrubina, proteínas totales y disminuyó los niveles de albúmina comparado con el grupo control, por tanto, fue buen modelo de inducción de daño hepático agudo a ratas.

Por otro lado, en el extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) en el ensayo de solubilidad se observó que fue muy soluble en etanol 96 %, metanol y cloroformo, soluble en acetona y acetato de etilo, poco soluble en n-butanol e insoluble en agua como se muestra en la tabla 6 y figura 4. Diaz G, *et al.* (2019) Indica que el extracto de hojas de copaiba fue muy soluble en metanol, soluble en acetato de etilo, acetona poco soluble en etanol, fue insoluble en agua. Se identificó compuestos fenólicos, leucoantocianidinas, alcaloides, taninos y flavonoides ⁽³⁷⁾, se identificó metabolitos secundarios en mayor proporción compuestos fenólicos, alcaloides y leucoantocianidinas, en menor proporción flavonoides y taninos (tabla 7), posiblemente estos metabolitos secundarios sean los responsables del efecto hepatoprotector evidenciado en el experimento. Hañari R, *et al.* (2015) Indican que los flavonoides y antocianidinas ejercen efecto hepatoprotector en ratas por disminución del estrés oxidativo y disminución de indicadores bioquímicos de evaluación de perfil hepático ⁽³⁸⁾, estos hallazgos son compatibles con nuestro estudio ya que el extracto de hojas de Copaiba disminuyó significativamente los valores de TGO, TGP, fosfatasa alcalina, bilirrubina y aumentó los niveles de albúmina (Figura 6 al 11). Thuwaini M, *et al.* (2016) indican que la disminución de bilirrubina en suero y de marcadores enzimáticos séricos de evaluación hepática como transaminasa y fosfatasa alcalina se relaciona con efecto hepatoprotector ocasionado por efecto tóxico del paracetamol ⁽³⁹⁾, estos hallazgos se relacionan de manera directa con nuestros resultados y apoyan al sustento del efecto protector de hojas de Copaiba frente a daño hepático. Sivakumar V, *et al.* (2018) Indican que las enzimas antioxidantes catalasa y superóxido dismutasa son suprimidas por el paracetamol lo cual conduce a daño hepático y que las sustancias que aumenten la actividad de estas enzimas podrían tener efectos beneficiosos sobre la función hepática ⁽⁴⁰⁾, mecanismo que podría relacionarse con los metabolitos secundarios identificados en nuestro estudio ya que los compuestos fenólicos ejercen importante efecto antioxidante ⁽³⁸⁾.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. Se identificaron compuestos fenólicos, alcaloides, leucoantocianidinas y en menor proporción flavonoides y taninos, los cuales probablemente sean responsables en conjunto del efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwy (copaiba).
2. La concentración óptima 500 mg/kg del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwy (copaiba) posee efecto hepatoprotector en ratas albinas.
3. El extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwy (copaiba) presenta efecto hepatoprotector, pero no estadísticamente significativo respecto a la silimarina en ratas albinas.

5.2. Recomendaciones

1. Purificar y cuantificar los principales compuestos con actividad farmacológica del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba).
2. Comprobar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba) mediante estudios anatomopatológicos y evaluación antioxidante.
3. Realizar estudios de toxicidad subaguda del extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (copaiba) para valorar los probables efectos adversos a nivel bioquímico, hematológico e histológico.

REFERENCIAS

1. Garrido E, Moreira V. Pruebas de función hepática: B, AST, ALT, FA y GGT. Rev Esp Enferm Dig. 2015; 1(1): 1-2
2. Escorcía E, Marrugo W. Caracterización epidemiológica y clínica de la cirrosis hepática en un centro regional del caribe colombiano: Clínica general del norte. Revista Biociencia. 2018; 13(2): 1-20
3. Velázquez S, Giralda M. Etiología, estadio y complicaciones de la cirrosis hepática en un hospital de referencia en Paraguay. Rev. Virtual Soc Parag. Med. Int. 2018; 5(2): 53-61
4. OPS/OMS Grupo de expertos. Situación de las plantas medicinales en el Perú. Lima. 2018. En línea. Fecha de acceso 24 noviembre 2019. URL disponible en: http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/50479/OPSPER1900_1_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
5. Arroyo J, Martínez J, Quino M, Condorhuamán M, Alba A, Almora Y. Efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera affinalis* (Copaiba) en pacientes con úlcera péptica. An Fac med. 2011; 72(2): 113-120
6. Asrani S, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath P. Burden of liver diseases in the world. J Hepatol. 2019; 70(1): 151-171. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.09.014
7. Fernández E, Moreno I, Fernández J, Moreno M. Aproximación al diagnóstico de enfermedades hepáticas por el laboratorio clínico. Medicina & Laboratorio. 2008; 14(11): 533-546
8. Oliveira H, Ferreira V, Flexa C, Santana A, Silva B, Ferreira I, Messias R, Silva C, Navarrete A, Tavares J. Effect of the treatment of *Copaifera ducker* oleoresin (Copaiba) in streptozotocin-induced diabetes rats. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2018; 28(1): 724-731
9. Da Silva J, Da Trindade R, Setzer W. *Copaifera* of the Neotropics: A Review of the Phytochemistry and Pharmacology. International Journal of Molecular Sciences. 2018; 19(5): 2-33. DOI: 10.3390/ijms19051511
10. Guevara T. Panorama de los recursos genéticos en Perú. UNAM. 2017 mayo; 2(1).
11. Lara R, Mezones L, Paredes R, Cenizario L, Goñi A, Chiclayo Y, Garibay R, Neyra N, Huamán L, Chávez R, Flores M. Efecto hepatoprotector del

- Asparagus officinalis (espárrago verde) en daño inducido por fármacos antituberculosos. Revista Peruana de Medicina Integrada. 2016; 1(3): 19-26
12. Sánchez C, Sotomayor G. Efecto hepatoprotector de fruta de la Opuntia ficus indica (tuna) variedad morada en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Cybertesis. 2015. En línea fecha de acceso 30 de noviembre 2019. URL disponible: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4192>.
 13. Alba A, Arroyo J, Martínez J, Quinto M. Efecto cicatrizante de aceite de *Copaifera officinalis* (copaiba), en pacientes con ulcera péptica. 2011
 14. Almora Y, Arroyo J, Martínez J, Quino M, Condorhuamán M, Bonilla P, Flores M. Efecto citoprotector y antisecretor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas. Na Fac med. 2009; 70(2): 89-96
 15. Godoy J. Actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Copaifera officinalis* (copaiba) sobre *Streptococcus mutans*, Chimbote, 2017. Tesis para optar el título profesional de Cirujano Dentista. Repositorio ULADECH. 2017.
 16. Alcântara W, Herrera E. Efecto protector de la resina de *Copaifera officinalis* "copaiba" en lesiones gástricas inducidas por indometacina en *Rattus rattus* var. albinus en la ciudad de Cajamarca. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Repositorio UPAGU. 2015
 17. Almasi F, Khazaei M, Chehrei S, Ghanbari A. Hepatoprotective Effects of Tribulus terrestris Hydro-Alcoholic Extract on Non-Alcoholic Fatty Liver-Induced Rats. Int. J. Morphol. 2017; 35(1): 245-350
 18. Tillán I, Bueno V, Carrillo C, Agüero S, Valdés O. Actividad hepatoprotectora del extracto acuoso seco de *Boerhavia erecta* L. (tostón) en ratas. Rev cubana Plant. Med. 2009; 14(3): 29-36
 19. Bafna A, Mishra S. Efecto del extracto de metanol de *Achyranthes aspera* linn. Sobre la hepatotoxicidad inducida por rifampicina en ratas. Ars. Pharm. 2005; 45(4): 343-351
 20. Pieri F, Mussi M, Moreira M, Schneedorf. Bacteriostatic Effect of Copaiba Oil (*Copaifera officinalis*) against *Streptococcus mutans*. Braz Dent J (2012) 23(1): 36-38

21. Oliveira A, Ueda T, Prado B, Veiga V, Pinto A, Vataru C. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008; 103(3): 277-281
22. Francia J. Actividad antimicrobiana in vitro del aceite de copaiba frente a bacterias patógenas. Instituto de Medicina Tropical Daniel Alcides Carrión. UNMSM. 2016
23. Pedone F, Vullich R. Hepatopatías crónicas y soporte nutricional. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Fasta. 2013. En línea. Fecha de acceso 07 diciembre 2019. URL disponible en: http://redi.ufasta.edu.ar:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/80/2013_n_303_L.pdf?sequence=1
24. Highleyman L, Franciscus A. Introducción sobre el hígado. En Línea. Fecha de acceso 07 diciembre 2019. URL disponible: http://hcvadvocate.org/hepatitis/sp_factsheets/EI%20h%C3%ADgado.pdf
25. Tejada F. Hepatotoxicidad por fármacos. Rev Clin Med Farm. 2010; 3(3): 177-199
26. Mancipe L, Fernández D, Fernández D. Intoxicación por acetaminofén. Rev Fac Med. 2010; 18(2): 221-227
27. Vélez M, Campos R, Sánchez H. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 2014; 17(1): 489-499
28. González J, Martínez S, Tunón J, Culebras M. Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. 2002; 17(6): 271-278
29. Sepúlveda G, Porta H, Rocha M. La participación de metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. Rev Mexicana de Fitopatología. 2004; 21(3): 355-363
30. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. 5^{ta} ed. Editorial McGrawHill. 2010
31. CYTED/CNPq. Métodos de la evaluación de la actividad farmacológica de plantas medicinales. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. 2001; 60 – 71

32. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales. 3^o ed. Perú. 2016
33. Guevara A, Marín C, Mantilla E, Ybañez R. Efecto del infuso de *Petroselinum sativum* sobre la insuficiencia hepática inducida en *Rattus norvegicus* var. *albinus*. Revista Farmaciencia. 2014; 2(1): 39-47
34. Acevedo R, Severiche C, Jaimes J. Efectos tóxicos del paracetamol en la salud humana y el ambiente. Revista de Investigación Agraria y Ambiental. 2017; 8(1): 2-19. DOI: 10.22490/21456453.1845
35. Valle M, Puig M, Mendoza S, Oyarzábal A, Mendoza N, Goicochea E. Efecto del D-002 sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas. Centro Nacional de Investigaciones Científicas La Habana. 2011; 1(1): 1-12
36. Azarmehr N, Afshar P, Moradi M, Sadeghi H, et al. Hepatoprotective and antioxidant activity of watercress extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Journal Homepage Heliyon. 2019; 5(1): 1-5. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02072
37. Días Días, G., & Quispe Crispin, E. Efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (Copaiba) en ratones albinos.
38. Hañari R, Arroyo J, Herrera O, Herrera H. Efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado del maíz morado (*Zea mays* L.) en lesiones hepáticas inducidas en ratas. An Fac med. 2015; 76(2):123-8. DOI: 10.15381/anales.v76i2.11136
39. Thuwaini M, Abdul M, Kadhem H. Hepatoprotective effects of the aqueous extract of clove (*Syzygium aromaticum*) against paracetamol-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. 2016; 3(8): 36-42
40. Sivakumar V, Sadiq M, Bharathi D. Hepatoprotective activity of *Centella asiatica* linn. against paracetamol induced liver damage in experimental animals. Emer Life Sci Res. 2018; 4(1): 19-26. DOI: <https://doi.org/10.31783/elsr.2018.411926>
41. Moshai P, Iman M, Faed F, Khamesipour A. Hepatoprotective effect of *Descurainia sophia* seed extract against paracetamol-induced oxidative

- stress and hepatic damage in mice. J Herbmec Pharmacol. 2018; 7(4): 267-272. DOI: 10.15171/jhp.2018.40.
42. Diagnostic protocols [Internet]. Chile: Valtek; 2015 [citado el 15 junio 2021]. Disponible en: www.valtekdiagnostics.com
43. Prieto J, Yuste J. Balcells La clínica y el Laboratorio. 22 ed. Barcelona: Elsevier; 2015.
44. Goñi L, Blanco D, Peña A, Ronda M, González B, Arteaga M, et al. Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas producidas en CENPALAB, Cerp: SPRD. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. 2011; 12(11): 1-10. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63622049001>

ANEXOS

ANEXO 1. Matriz de consistencia

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
-----------	-----------	-----------	-----------	-------------	-------------	-------------

<p>GENERAL 1 ¿Presentará efecto hepatoprotector el extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) en ratas albinas?</p> <p>ESPECÍFICOS 1. ¿Tendrá metabolitos secundarios el extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba)? 2. ¿Cuál será la concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) que posee efecto hepatoprotector en ratas albinas? 3. ¿Cuál será el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) comparado con silimarina en ratas albinas?</p>	<p>GENERAL 1. Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) en ratas albinas.</p> <p>ESPECÍFICOS 1. Identificar los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) mediante análisis fitoquímico cualitativo. 2.Precisar la concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) que posee efecto hepatoprotector en ratas albinas. 3. Comparar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) con silimarina en ratas albinas.</p>	<p>GENERAL 1. El extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) presenta efecto hepatoprotector en ratas albinas</p> <p>ESPECÍFICOS 1. El extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) tiene metabolitos secundarios. 2.Existe una concentración del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) que posee efecto hepatoprotector en ratas albinas. 3.El extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (copaiba) tiene efecto hepatoprotector en comparación con silimarina en ratas albinas.</p>	<p>VI Extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (Copaiba)</p> <p>VD Efecto hepatoprotector</p>	<p>Prueba de solubilidad</p> <p>Metabolitos secundarios</p> <p>Inducción de hepatotoxicidad aguda a ratas albinas</p> <p>Dosis del extracto</p>	<p>Agua, etanol 96%, metanol, cloroformo, acetona, n-butanol, hexano, acetato de etilo</p> <p>Flavonoides, esteroides y/o triterpenoides, alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, azúcares reductores, grupo amino libre, glicósidos</p> <p>TGO, TGP, Fosfatasa alcalina, albúmina, proteínas totales, bilirrubina total</p> <p>150 mg/Kg 300 mg/Kg 500 mg/Kg</p>	<p>Grupos experimentales SSN 0.9 % 5 mg/kg SSN 0.9% 5 mg/kg + Paracetamol (P) EEHCP 150 mg/kg + P EEHCP 300mg/kg + P EEHCP 500 mg/Kg + P Silimarina 100 mg/kg + P</p>
	<p>Enfoque: Cuantitativo</p> <p>Diseño: Experimental preclínico</p> <p>Tipo de estudio: Aplicado</p>	<p>Población: Población animal: 36 ratas albinas hembras cepa Holtzman con peso entre 200 g Población vegetal: Planta de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (Copaiba)" Muestras: Muestra animal: 6 grupos conformada por 6 ratas cada uno separados al azar, cada grupo recibió un tratamiento diferente, al final se obtuvo 36 muestras de sangre Muestra vegetal: Extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyr (Copaiba)</p>	<p>Técnica: Observación</p> <p>Instrumento: Ficha de observación</p>	<p>Diseño de Investigación: Experimental, prospectivo, transversal</p>		

Anexo 2. Clasificación taxonómica de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyr (copaiba)



"Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad"

CONSTANCIA N° 140-USM-2019

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril) recibida de **Jenny Genoveva Mamani Paasaca**; estudiante de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ha sido estudiada y clasificada como: *Copaifera paupera* (Herzong)Dwyer y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ROSIDAE

ORDEN: FABALES

FAMILIA: CAESALPINIACEAE

GENERO: *Copaifera*

ESPECIE: *Copaifera paupera* (Herzong)Dwyer

Nombre vulgar: "Copaiba"

Determinado por: Mag. Hamilton Wilmer Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 08 de mayo de 2019



Mag. ASUNCIÓN A. CAÑO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/dtd

Anexo 3. Certificado sanitario de los animales de experimentación

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO
CERTIFICADO SANITARIO N° 218-2019	
Producto : Rata Albina	Lote N° : R - 10-2019
Especie : <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad : 36
Cepa : Holtzman	Edad : 01 mes ½
Peso : 200 g.	Sexo : hembra
G.R. : 037933	Destino : UIGV
Lima : 02-09-2019	
<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>	
Chorrillos, 02 de setiembre del 2019 (Fecha de atención y emisión del certificado)	
NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.	 M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586

Anexo 4. Testimonios fotográficos



Foto 1. Proceso de aclimatización de los animales de experimentación



Foto 2. Bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos



Foto 3. Preparación para anestesia a ratas albinas



Foto 4. Obtención de muestras de sangre por punción cardíaca

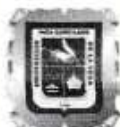


Foto 5. Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)



Foto 6. Espectrofotómetro usado para análisis de marcadores séricos hepáticos

Anexo 5. Validación de instrumentos



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

N°:

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION

MARCHA FITOQUÍMICA

EFFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Copaifera paupera* (Herzog) Dwy (COPAIBA) EN RATAS ALBINAS

Es valiosa su opinión referente a lo siguiente:

N°	DESCRIPCIÓN	PORCENTAJE					
		<50	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100
1	¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se lograrán los objetivos propuestos?						✓
2	¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?						✓
3	¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?						✓
4	¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?						✓
5	¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?						✓
6	¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrían datos similares si se aplicara en otras muestras?						✓

SUGERENCIAS:

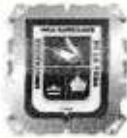
Validado y listo para aplicar

Fecha: 27/12/2019

Validado por:

Firma:

Q.F. PEDRO JACINTO HERVIAS
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.F. 17197



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

Nº:

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION

EFECTO HEPATOPROTECTOR

EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE
Copaifera paupera (Herzog) Dwyer (COPAIBA) EN RATAS ALBINAS

Luego de revisar el instrumento, es valiosa su opinión referida a lo siguiente:

Perfil Hepático	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Fosfatasa Alcalina (U/L)
Tratamiento	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
SSN 5 mg/kg SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P) EEHCP 150 mg/kg + P EEHCP 300mg/kg + P EEHCP 500 mg/Kg + P Silimarina 100 mg/kg + P			

Perfil Hepático	Albúmina (g/dL)	Proteínas totales (g/dL)	Bilirrubina total (mg/dL)
Tratamiento	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
SSN 5 mg/kg SSN 5 mg/kg + Paracetamol (P) EEHCP 150 mg/kg + P EEHCP 300mg/kg + P EEHCP 500 mg/Kg + P Silimarina 100 mg/kg + P			

SSN=Solución salina normal

DE=Desviación estándar

EEHCP=Extracto etanólico de las hojas de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer (Copaiba)

SUGERENCIAS: Validado y listo Para aplicar

Fecha: 27/12/2019 Validado por:

Firma:

QF. PEDRO JACINTO HERVIA
QUÍMICO FARMACÉUTICO
R.F.P. 17197



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTAD
DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

N°:

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE OBSERVACION

MARCHA FITOQUÍMICA

EFFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE
Copaifera paupera (Herzog) Dwy (COPAIBA) EN RATAS ALBINAS

Reactivo	Constituyentes químicos	Resultado
15. Popoff	Alcaloides	
16. Wagner	Alcaloides	
17. Dragendorff	Alcaloides	
18. Mayer	Alcaloides	
19. Bertrand	Alcaloides	
20. Sonnesnschein	Alcaloides	
21. Lieberman Burchard	Triterpenoides y/o esteroide	
22. Shinoda	Flavonoides	
23. Gelatina	Taninos	
24. Tricloruro férrico	Compuestos fenólicos	
25. Rosenhein	Leucoantocianidinas	
26. Ninhidrina	Aminoácidos libres	
27. Fehling A y B	Azúcares reductores	
28. Control	---	

Leyenda: Abundante (+++), Regular (++), Poco (+), Ausencia (-)

Validado y listo para
Aplicar

QF. PEDRO JACINTO HERVIAS
QUIMICO FARMACEUTICO
COFR. 17197

27/12/2019



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

FICHA DE VALIDACION DE INSTRUMENTO

Nombre del instrumento:	Ficha de observación solubilidad, marcha fitoquímica y efecto hepatoprotector.
Tesista	Bachiller: - Jenny Genoveva Mamani Paasaca.
Título Trabajo de Investigación – Tesis: Efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer (copaiba) en ratas albinas	

I. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Después de analizar el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

PREGUNTAS PARA EL EVALUADOR	Menos de 50%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
1. Claridad y objetividad: esta formulado con lenguaje apropiado y evidencia recojo de datos observables.	()	()	()	()	()	()	(X)
2. Actualidad y Organización: se adecua a los criterios científicos y tecnológicos y posee organización lógica.	()	()	()	()	()	(X)	()
3. Suficiente e Intencionalidad: en cantidad, calidad, adecuado para relacionar las variables en estudio.	()	()	()	()	()	()	(X)
4. Consistencia y Coherencia: se basa en aspectos técnicos y existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.	()	()	()	()	()	()	(X)
5. Metodología: la estrategia responde al propósito de la problemática de investigación.	()	()	()	()	()	(X)	()
6. Pertinencia: muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.	()	()	()	()	()	()	(X)

II. SUGERENCIAS

- ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?
..... Ninguno.....
- ¿Qué ítems considera usted que podrían eliminarse?
..... Ninguno.....
- ¿Qué ítems considera usted que deberían reformularse o precisarse mejor?
..... Ninguno.....

Fecha: 16-06-2021

Validado por: Dr. Q.F. Héctor Vilchez Cáceda

Firma:



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

FICHA DE VALIDACION DE INSTRUMENTO

Nombre del instrumento:	Ficha de observación solubilidad, marcha fitoquímica y efecto hepatoprotector.
Tesista	Bachiller: - Jenny Genoveva Mamani Paasaca.
Título Trabajo de Investigación – Tesis: Efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwy (copaiba) en ratas albinas	

I. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Después de analizar el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

PREGUNTAS PARA EL EVALUADOR	Menos de 50%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
1. Claridad y objetividad: esta formulado con lenguaje apropiado y evidencia recojo de datos observables.	()	()	()	()	()	()	(X)
2. Actualidad y Organización: se adecua a los criterios científicos y tecnológicos y posee organización lógica.	()	()	()	()	()	()	(X)
3. Suficiente e Intencionalidad: en cantidad, calidad, adecuado para relacionar las variables en estudio.	()	()	()	()	()	()	(X)
4. Consistencia y Coherencia: se basa en aspectos técnicos y existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.	()	()	()	()	()	()	(X)
5. Metodología: la estrategia responde al propósito de la problemática de investigación.	()	()	()	()	()	()	(X)
6. Pertinencia: muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.	()	()	()	()	()	()	(X)

II. SUGERENCIAS

- ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?
..... Ninguno.....
- ¿Qué ítems considera usted que podrían eliminarse?
..... Ninguno.....
- ¿Qué ítems considera usted que deberían reformularse o precisarse mejor?
..... Ninguno.....

Fecha: 18-06-2021

Validado por: Q.F. Ketty Rojas Berastein

Firma: 