



Universidad
Norbert Wiener

Powered by **Arizona State University**

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

Tesis

Efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas Holtzman - Lima, 2024

Para optar el Título Profesional de
Químico Farmacéutico

Presentado por:

Autor: Aliaga Pastor, Carlos Mario

Código ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-2961-6132>

Autora: Gutiérrez Cachique, Cinthia Pierina

Código ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-8295-0522>

Asesor: Mg. Ñañez Del Pino, Daniel

Código ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9605-8594>

Lima – Perú

2024

| | | | |
|--|---|------------------------------------|--------------------------|
|  Universidad Norbert Wiener | DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN | | |
| | CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033 | VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01 | FECHA: 08/11/2022 |

Yo, **Aliaga Pastor Carlos Mario** y **Gutiérrez Cachique Cinthia Pierina**, egresados de la Facultad de **Ciencias de la Salud** y Escuela Académica Profesional de **Farmacia y Bioquímica** de la Universidad privada Norbert Wiener declaramos que el trabajo de investigación **“Efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de Raphanus sativus L. “rabanito” sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas Holtzman - Lima, 2024”** Asesorado por el docente: **Mg. Ñañez Del Pino, Daniel** DNI **23528875** ORCID: **0000-0002-9605-8594** tiene un índice de similitud de **17 %** con código Oide:14912:397500963 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



.....
 Firma de autor 1

Aliaga Pastor Carlos Mario
 DNI: 40189704



.....
 Firma de autor 2


Gutiérrez Cachique Cinthia Pierina
 DNI: 70432044



.....
 Firma

Mg. Ñañez Del Pino, Daniel
 DNI: 23528875

Lima, ...14...de...octubre... de.....2024.....

| | | | |
|--|---|------------------------------------|--------------------------|
|  Universidad Norbert Wiener | DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN | | |
| | CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033 | VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01 | FECHA: 08/11/2022 |

Es obligatorio utilizar adecuadamente los filtros y exclusión del turnitin: excluir las citas, la bibliografía y las fuentes que tengan menos de 1% de palabras. En caso se utilice cualquier otro ajuste o filtros, debe ser debidamente justificado en el siguiente recuadro.

| |
|---|
| <p>Se excluyo según guía los formatos del propio documento que afectaban el porcentaje del índice de similitud.</p> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> |
|---|

Dedicatoria

A mi familia, por su amor, fortaleza y por ser siempre mi mayor inspiración para alcanzar mis metas. Les agradezco profundamente por todo su apoyo.

Br. Aliaga Pastor, Carlos Mario

Dedico esta investigación a mi familia, quienes fueron mi principal pilar y fuente de motivación en el logro de mis objetivos. En especial, a mi hijo Facundo, quien es mi mayor propósito de vida.

Br. Gutiérrez Cachique, Cinthia Pierina

Agradecimiento

Queremos expresar nuestro profundo agradecimiento a todas las personas que nos apoyaron durante la realización de esta tesis.

A nuestro asesor, Daniel Ñañez Del Pino, por su constante orientación y apoyo a lo largo del proceso. Sus observaciones y sugerencias fueron esenciales para mejorar nuestro trabajo y cumplir con los objetivos académicos.

A los profesores de la Universidad Norbert Wiener, les agradecemos por haber despertado en nosotros el interés por la investigación. Sus enseñanzas han sido fundamentales y se ven reflejadas en esta tesis.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| RESUMEN | 11 |
| ABSTRACT | 12 |
| INTRODUCCIÓN | 13 |
| 1. EL PROBLEMA | 14 |
| 1.1. Planteamiento del problema | 14 |
| 1.2. Formulación del problema | 16 |
| 1.1.1 Problema general | 16 |
| 1.1.2 Problemas específicos | 16 |
| 1.3. Objetivos de la investigación | 17 |
| 1.3.1 Objetivo general | 17 |
| 1.3.2 Objetivos específicos | 17 |
| 1.4. Justificación de la investigación | 18 |
| 1.4.1 Teórica | 18 |
| 1.4.2 Metodológica | 19 |
| 1.4.3 Práctica | 19 |
| 1.5. Limitaciones de la investigación | 20 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 21 |
| 2.1. Antecedentes | 21 |

| | |
|--|----|
| 2.2. Bases teóricas | 24 |
| 2.3. Formulación de hipótesis | 29 |
| 2.3.1 Hipótesis general | 29 |
| 2.3.2 Hipótesis específicas | 30 |
| 3. METODOLOGÍA | 31 |
| 3.1. Método de la investigación | 31 |
| 3.2. Enfoque de la investigación | 31 |
| 3.3. Tipo de investigación | 31 |
| 3.4. Diseño de la investigación | 31 |
| 3.5. Población, muestra y muestreo | 32 |
| 3.6. Variables y operacionalización | 33 |
| 3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos | 35 |
| 3.7.1 Técnica | 35 |
| 3.7.2 Descripción de instrumentos | 35 |
| 3.7.3 Validación del instrumento | 38 |
| 3.7.4 Confiabilidad del instrumento | 39 |
| 3.9. Aspectos éticos | 39 |
| 4. PRESENTACION Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS | 41 |
| 4.1. Resultados | 41 |
| 4.1.1 Análisis de resultado | 41 |
| 4.1.2 Histopatología de las alteraciones hepáticas | 47 |

| | |
|---|----|
| 4.1.3 Prueba de hipótesis | 53 |
| 4.1.4 Discusión de resultados | 53 |
| 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 60 |
| 5.1 Conclusiones | 60 |
| 5.2 Recomendaciones | 60 |
| 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 61 |
| 7. ANEXOS | 76 |
| Anexo 1: Matriz de consistencia | 76 |
| Anexo 2: Instrumentos | 77 |
| Anexo 3: Validez del instrumento | 80 |
| Anexo 4: Confiabilidad del instrumento | 83 |
| Anexo 5: Aprobación del comité de ética | 84 |
| Anexo 6: Programa de intervención (para estudios experimentales) | 85 |
| Anexo 7: Reporte de similitud de Turnitin | 86 |
| Anexo 8: Anexo 8: Protocolo de Seguridad y Bioseguridad de Laboratorio. | 87 |
| Anexo 9: Identificación botánica de la planta | 90 |
| Anexo 10: Tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L | 91 |

| | |
|---|----|
| Anexo 11: Extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L | 91 |
| Anexo 12: Ratas Holtzman aclimatándose previo a los días de experimentación | 92 |
| Anexo 13: Ratas Holtzman sacrificadas por sobredosis de pentobarbital 40 mg/kg por vía intraperitoneal. | 93 |
| Anexo 14: Pruebas de solubilidad del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito” | 93 |
| Anexo 15: Análisis cualitativo preliminar del extracto etanólico del tegumento <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito”. | 94 |

Índice de Tablas

| | | |
|----------|--|----|
| Tabla 1. | Operacionalización de las variables | 34 |
| Tabla 2. | Características fisicoquímicas del extracto etanólico de tegumento <i>Raphanus sativus</i> L. | 41 |
| Tabla 3. | Solubilidad del extracto etanólico del tegumento <i>Raphanus sativus</i> L. | 41 |
| Tabla 4. | Metabolitos del extracto etanólico del tegumento <i>Raphanus sativus</i> L. | 42 |
| Tabla 5. | Efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento <i>Raphanus sativus</i> L. según el tipo de lesión histológica | 43 |
| Tabla 6. | Efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. Según la extensión de la lesión | 44 |
| Tabla 7. | Tipos de lesión del efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. | 46 |

Índice de figuras

| | | |
|-----------|--|----|
| Figura 1. | Grados de lesión del efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L., según el tipo de lesión y la extensión de la lesión. | 45 |
| Figura 2. | Grupo Blanco: Suero fisiológico, 10 ml/kg. | 47 |
| Figura 3. | Grupo Control Negativo: paracetamol 400mg/kg | 48 |
| Figura 4. | Grupo Control Positivo: silimarina 150mg/kg. + paracetamol 400mg/kg. | 49 |
| Figura 5. | Grupo experimental 1: 100mg/kg de extracto de tegumento <i>Raphanus sativus</i> L+ paracetamol 400mg/kg. | 50 |
| Figura 6. | Grupo experimental 2: 200mg/kg de extracto del tegumento <i>Raphanus sativus</i> L+ paracetamol 400mg/kg. | 51 |
| Figura 7. | Grupo experimental 3: 400mg/kg de extracto del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L+ paracetamol 400mg/kg. | 52 |

Resumen

Objetivo: Determinar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas Holtzman. **Materiales y métodos:** Se realizaron pruebas de solubilidad y un estudio fitoquímico al extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L., además se determinó el efecto hepatoprotector sobre la intoxicación inducida por paracetamol comparado con silimarina. Se aplicó un diseño experimental, cuantitativo y transversal, para ello se utilizaron 48 ratas Holtzman que fueron distribuidos en 6 grupos de 8 ratas cada uno, se les administraron diferentes tratamientos: Grupo Blanco; Grupo Control Negativo (Suero fisiológico + paracetamol); Grupo Control Positivo: (Silimarina + paracetamol), Grupo experimental 1: (100mg/kg + 400mg/kg de paracetamol); Grupo experimental 2: (200mg/kg + 400mg/kg de paracetamol), Grupo experimental 3: (400mg/kg + 400mg/kg de paracetamol), después de 10 días se sacrificaron los animales, se extrajo una muestra de hígado para el estudio histopatológico, se evaluaron indicadores histopatológicos (tipo y extensión de la lesión). **Resultados:** El tegumento de *Raphanus sativus* L., es soluble en agua, metanol y etanol, el estudio fitoquímico reveló la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides, respecto al tipo y la extensión de lesión a nivel histopatológico se evidenció leve degeneración hepática y focal en los grupos experimentales 2 y 3. **Conclusión:** Según el análisis histopatológico una dosis de 200 y 400 mg/kg del extracto

etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” presentaron efectos hepatoprotectores sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol a 400mg/kg.

Palabras clave: Hepatoprotector, *Raphanus sativus* L., ratas Holtzman

Abstract

Objective: Determine the hepatoprotective effect of the ethanolic extract of the integument of *Raphanus sativus* L. “rabanito” on paracetamol-induced hepatotoxicity in Holtzman rats.

Materials and methods: Solubility tests and a phytochemical study were carried out on the ethanolic extract of the integument of *Raphanus sativus* L., and the hepatoprotective effect on paracetamol-induced intoxication compared to silymarin was determined. An experimental, quantitative and transversal design was applied, for this, 48 Holtzman rats were used, which were distributed into 6 groups of 8 rats each, different treatments were administered: White Group; Negative Control Group (Physiological saline + paracetamol); Positive Control Group: (Silymarin + paracetamol), Experimental group 1: (100mg/kg + 400mg/kg paracetamol); Experimental group 2: (200mg/kg + 400mg/kg paracetamol), Experimental group 3: (400mg/kg + 400mg/kg paracetamol), after 10 days the animals were sacrificed, a liver sample was extracted for the study histopathological, histopathological indicators (type and extent of the lesion) were evaluated.

Results: The integument of *Raphanus sativus* L. is soluble in water, methanol and ethanol. The phytochemical study revealed the presence of flavonoids, tannins, alkaloids, steroids. Regarding the type and extent of the lesion at the histopathological level, it was mild. hepatic and focal degeneration in experimental groups 2 and 3. **Conclusion:** According to the histopathological analysis, a dose of 200 and 400 mg/kg of the ethanolic extract of the integument of *Raphanus*

Sativus L. “rabanito” presented hepatoprotective effects on paracetamol-induced hepatotoxicity. 400mg/kg.

Keywords: Hepatoprotective, *Raphanus sativus* L., Holtzman rats

INTRODUCCIÓN

La insuficiencia hepática, tanto aguda como crónica, se caracteriza por la descompensación de enfermedades hepáticas crónicas y la insuficiencia orgánica, con alta mortalidad a corto plazo (1). El hígado cumple funciones vitales como la eliminación de desechos y la detoxificación de fármacos (2). La lesión hepática inducida por medicamentos, como el paracetamol, es una causa común de insuficiencia hepática aguda, especialmente en casos de sobredosis que generan un metabolito tóxico y causan estrés oxidativo (3) (4). Actualmente, la N-acetilcisteína es el único tratamiento disponible. Este estudio se enfoca en evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de *Raphanus sativus* L. (rábano), conocido por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (5), debido a su riqueza en metabolitos activos como glucosinolatos, isotiocianatos, flavonoides, y otros compuestos (6) (7). en lesiones hepáticas agudas inducidas por paracetamol en ratas Holtzman.

El objetivo principal de este estudio experimental es evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. (rabanito) sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas Holtzman. La investigación se organiza en varios capítulos. En el capítulo I se discuten los problemas asociados al uso del paracetamol y se definen los objetivos del estudio. El capítulo II ofrece un marco teórico que incluye una revisión de la literatura sobre la especie y la hepatotoxicidad. En el capítulo III se detalla la metodología utilizada, incluyendo técnicas,

instrumentos y un diseño experimental que determina el efecto hepatoprotector contra la intoxicación por paracetamol. El capítulo IV presenta la discusión de los resultados, donde se analizan y representan los hallazgos obtenidos. Finalmente, en el capítulo V se ofrecen las conclusiones y recomendaciones derivadas del estudio.

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

Uno de los órganos más importante del cuerpo humano es el hígado, porque desempeña procesos de secreción, almacenamiento y desintoxicación de sustancias endógenas y exógenas, y una falla en estos procesos produce enfermedades que debilitan la estructura y la función del hígado, por ello las enfermedades hepáticas continúan siendo una de las principales amenazas para la salud pública (8).

El acetaminofén, más conocido como paracetamol, es un fármaco analgésico y antipirético ampliamente utilizado, sin embargo, a dosis excesivas produce una hepatotoxicidad grave convirtiéndose en una de las principales causas de insuficiencia hepática aguda en el mundo (9), un ejemplo es la insuficiencia aguda en los EE. UU y el Reino Unido donde la hepatotoxicidad inducida por el paracetamol afecta al 50% de la población por una sobredosis no intencionales y tratamientos crónicos (10).

La morbi-mortalidad por enfermedades hepáticas es alarmante, las hepatitis virales especialmente la hepatitis A, B y C, cirrosis hepáticas y cáncer de hígado, estas enfermedades pueden ser crónicas, progresivas y potencialmente mortales, por ejemplo el hígado graso no alcohólico, sino se trata a tiempo va desde una esteatosis simple hasta una esteatohepatitis que incluye inflamación y daño hepatocelular que puede progresar a

cirrosis hepática (11) (12). Las lesiones hepáticas causadas por fármacos afectan al 10% de las personas y es la causa más común de muerte por fallo hepático agudo (13).

Sin embargo, otra causa de lesión hepática es la causada por las hierbas medicinales, estas provocan daños inesperados, convirtiéndose en la causa más frecuente de abandono del tratamiento (14) (15)., lo que constituyen un problema persistente y desafiante para los sistemas de salud, la industria farmacéutica e investigadores (16). La enfermedad hepática crónica impone altos costos a los sistemas de salud y se incrementa a medida que avanza la enfermedad hepática, por ello es importante prevenir y diagnosticar oportunamente las diferentes enfermedades hepáticas (17).

Los remedios a base de hierbas se usan ampliamente en la sociedad occidental y en el Medio Oriente, se practica la medicina tradicional como una alternativa natural para mejorar su estado de salud, pero al mismo tiempo, existe una creciente preocupación por la hepatotoxicidad de ciertos remedios a base de hierbas (18). Estas hierbas o productos dietéticos administradas en infusiones, extractos, etc., son responsables de consultas y hospitalizaciones por hepatitis aguda o crónicas y estos van de un 2% hasta un 50% (19).

Las poblaciones de bajos recursos económicos y que no tiene acceso a un sistema de salud tienden a recurrir a la medicina alternativa y/o a la automedicación y la mayoría de casos termina complicándose y poniendo en riesgo su vida, por ello la necesidad de realizar una investigación que valide y brinde una alternativa segura. De acuerdo a los usos tradicionales, fitoquímicos y farmacológicos, *Raphanus sativus* L., es una planta medicinal prometedora porque posee varios compuestos químicos (glucosinolatos y derivados que contienen azufre) y numerosas actividades farmacológicas (efecto antiinflamatorios, antioxidante, etc.) sin embargo, las bases teóricas y los mecanismos del efecto tradicional

necesitan de más estudios sobre todo a nivel del tegumento de *Raphanus sativus* L, para determinar el potencial a nivel hepático (20).

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Cuál será el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas Holtzman?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿En qué solventes será soluble el extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito”?
2. ¿Cuáles serán los metabolitos presentes en el extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito”?
3. ¿El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” tendrá efecto hepatoprotector a dosis de 100 mg/kg en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol?
4. ¿El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” tendrá efecto hepatoprotector a dosis de 200 mg/kg en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol?

5. ¿El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” tendrá efecto hepatoprotector a dosis de 400 mg/kg en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Determinar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas Holtzman.

1.3.2 Objetivos específicos:

1. Verificar las pruebas de solubilidad del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito”
2. Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito”
3. Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” a dosis de 100 mg/kg inducido por paracetamol en ratas Holtzman.
4. Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” a dosis de 200 mg/kg inducido por paracetamol en ratas Holtzman.

5. Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” a dosis de 400 mg/kg inducido por paracetamol en ratas Holtzman.

1.4 Justificación de la investigación

1.4.1 Teórica.

El uso y consumo de plantas con propiedades medicinales en el Perú es alto, sobre todo en las poblaciones que no tienen acceso a centros de salud (21). Para realizar este estudio nos basamos en la evidencia de otros estudios que muestran el efecto hepatoprotector de extractos vegetales similares y en la necesidad de explorar nuevas estrategias naturales para proteger el hígado contra la hepatotoxicidad inducida por paracetamol.

Estudios como el de Syed y Chaturvedi., mediante un HPLC lograron identificar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto de *Raphanus sativus* L. como: Polifenoles, catequinas, ácido protocatecuico, ácido siríngico, ácido vanílico, ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido O-cumárico, miricetina y quercetina, estos metabolitos serían los responsables de la actividad antimicrobiana, anticancerígena, antidiabético, modulador del tono gastrointestinal y uterino, antiulceroso y actividades cardio-moduladoras (22) (23).

Otro estudio por Hanlon, manifiesta que los brotes de rábano contienen concentraciones mayores de glucosinolatos (3,8 veces) isotiocianatos (8,2 veces) y fenólicos (6,9 veces), frente a la raíz de rábano maduro, también contenían concentraciones mayores de antocianidinas primarias presentes en el rábano rojo y rosado, los brotes de rábano son de 9 y 59 veces, más antioxidantes que la raíz principal madura (24).

La actividad más importante de *Raphanus sativus L.*, se refleja en sus efectos antioxidantes, manifestados por la capacidad de eliminar los radicales libres o prevenir oxidación de lipoproteínas de baja densidad. los compuestos polifenólicos como el ácido sinápico y el ácido ferúlico y los flavonoides como el kaempferol presentes en el extracto de *Raphanus sativus L.* (rabanito) se han convertido en el centro de atención de los estudios nutricionales e interés terapéutico debido a su prevención de enfermedades y efectos de promoción de la salud (25) (26).

1.4.2 Metodológica

Las hepatopatías crónicas se causan a través de modelos experimentales en animales utilizando inductores de lesión hepática como el paracetamol y etanol (21). La actividad hepatoprotectora se evaluará tomando en cuenta el modelo de hepatotoxicidad inducida por paracetamol propuesta por Huamán Gutiérrez modificada, donde la capacidad hepatoprotectora fue medida por la toxicidad hepática de paracetamol a 400 mg/kg frente a dosis de extractos de *Raphanus sativus L.* (rabanito) de 100, 200 y 400 mg/kg de peso (27). Al realizar este estudio, se espera obtener información científica que respalde el uso del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus L.*, como una posible intervención terapéutica

para proteger el hígado de la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas Holtzman.

1.4.3 Práctica

La justificación práctica de realizar este estudio se basa en la necesidad de encontrar nuevas alternativas terapéuticas para proteger el hígado contra los daños causados por el paracetamol y promover la salud hepática. Por ello la medicina moderna siempre está en constante búsqueda de nuevos fármacos que estimulen la función hepática o que ayuden a regenerar las células hepáticas (8).

Para ello el conocimiento que se tiene de las plantas medicinales no solo se debe basar en la sabiduría de quienes lo practican, sino que debe estar validado científicamente, comprobando el efecto terapéutico atribuido y la seguridad de este. Es así nuestro interés de validar su uso tradicional de la especie vegetal del tegumento de *Raphanus sativus* L. (rabanito) para el tratamiento de enfermedades hepáticas. Una validación científica no solo permitirá que la población use y consuma *Raphanus sativus* L. (rabanito) con un valor agregado, sino que permitirá desarrollar preparados farmacéuticos con efecto hepatoprotector y hasta ser fuente económica por el valor terapéutico y nutricional que representa, por lo tanto, es necesario identificar alternativas farmacéuticas más efectivas y menos tóxicas.

1.5 Limitaciones de la investigación

El estudio no presentó limitaciones.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Antecedentes nacionales

Candiotti (2020) tuvo por objetivo “Evaluar la actividad antioxidante y hepatoprotectora del zumo de taperiba (*Spondias dulcis* Sol. ex Parkinson) en ratas con hepatotoxicidad inducidas a hepatotoxicidad por paracetamol”. Formaron 5 grupos con 5 dosis de tratamientos, a quienes se les indujo a hepatotoxicidad con paracetamol a dosis de 300 mg/kg, por 11 días se les administró silimarina 100 mg/kg + paracetamol 300 mg/kg; zumo 1mL/kg + paracetamol 300 mg/kg; zumo 5 mL/kg + paracetamol 300 mg/kg para finalmente ser sacrificados. Obteniendo que el zumo del fruto taperiba disminuiría significativamente ($p < 0.05$) los niveles de lipoperoxidación, por lo que concluyeron que el zumo del fruto taperiba presenta propiedades hepatoprotectoras (28).

Enciso et al. (2020) tuvieron como objetivo “Determinar el efecto hepatoprotector y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto de dos variedades de *Opuntia megacantha* (Tuna). Para ello se distribuyeron aleatoriamente 7 grupos de 5 animales, donde se administraron los siguientes tratamientos, al grupo I se le administró suero fisiológico, al grupo II se administró tetracloruro de carbono, al grupo III se administró silimarina, a los grupos IV y V se les administró extracto de tuna morada a dosis de 250 y 500 mg/kg y a los grupos VI y VII se les administró tuna anaranjada a dosis de 250 y 500 mg/kg. Se realizaron estudios histopatológicos donde se demostró la protección de los frutos de *O Megacantha* frente al daño causado tetracloruro de carbono, la variedad morada presentó mayor contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en relación con la variedad anaranjada ($p < 0,05$). Concluyendo que el extracto hidroalcohólico de la tuna morada y anaranjada (*Opuntia megacantha*) tiene efecto hepatoprotector (29).

Rey (2017) tuvo como objetivo “Determinar la actividad hepatoprotectora de *Ananas comosus* (piña) en ratas con intoxicación hepática inducida por isoniácida”. Se distribuyeron aleatoriamente 24 ratas en 4 grupos a quienes por 14 días se les administraron los siguientes tratamientos, al grupo I: dieta y agua, al grupo II: isoniácida 50 mg/kg, al grupo III silimarina 200 mg/kg + isoniácida 50 mg/kg y al grupo IV: piña 400 mg/kg + isoniácida 50 mg/kg. A quienes se les midió un puntaje necro-inflamatorio. Donde el grupo II presentó mayor daño (4.17 ± 1.33) en comparación con los grupos I (0.67 ± 0.82), III (3.33 ± 1.37) y IV (1.67 ± 0.52) y de acuerdo con el análisis morfológico a nivel macro y microscópico el grupo tratado

con isoniacida y extracto acuoso de piña se logra evidenciar una regeneración de la estructura del hepatocito. Concluyendo que el extracto acuoso de piña tiene efecto hepatoprotector (30).

2.1.2 Antecedentes internacionales

Sinaga et al. (2021) realizaron un estudio con el objetivo de “Investigar el efecto hepatoprotector del extracto de semillas de *Pandanus odoratissimus* en ratas inducidas con paracetamol”. Se utilizaron 30 ratas macho *Sprague-Dawley*, estas se dividieron aleatoriamente en 6 grupos de 5 ratas, un grupo sirvió como control sano y cinco grupos con hepatotoxicidad (control hepatotóxico y 4 grupos de tratamiento) se administró un tratamiento oral, la hepatotoxicidad fue inducida por paracetamol a dosis de 3g/kg, además se usaron tres diferentes concentraciones de *Pandanus odoratissimus* (300, 600 y 900 mg/kg) y un grupo de silimarina a dosis de 200 mg/kg a quienes se les administraron una dosis diaria por 14 días, la histopatología de los hígados se midió bajo un microscopio con 10 aumentos. Obteniendo cambios histopatológicos inducidos por paracetamol, la fosfatasa alcalina (ALP) y la γ -glutamil transferasa (GGT) en suero de rata inducido con paracetamol ($p < 0,05$), el estudio histopatológico mostró una disminución en el grado de necrosis en las ratas tratadas con extractos de *Pandanus odoratissimus*. debido a que *Pandanus odoratissimus* contiene agentes hepatoprotectores como flavonoides, cumarina, tocoferol y compuestos orgánicos ácidos polifuncionales. Concluyeron que *Pandanus odoratissimus* mejoró el efecto hepatoprotector de una manera dependiente de la concentración al reducir las enzimas hepáticas y los marcadores de proteínas (31).

Zainul et al. (2020) tuvieron como objetivo “Investigar la actividad hepatoprotectora y antioxidante del extracto de hoja de *Dicranopteris linearis* (EADL) contra la intoxicación hepática inducida por paracetamol en ratas”. El estudio in vivo involucró a seis grupos de ratas Sprague Dawley en ayunas durante la noche, se prepararon soluciones de prueba [10% Dimetilsulfóxido (DMSO) (normal), 10% DMSO (negativo), 200 mg/kg silimarina (positivo) y EADL (50, 250 o 500 mg/kg)] y se administró por 7 días consecutivos el vehículo fue oral y la inducción hepatotóxica se dio a dosis de 3 g/kg de paracetamol. Se observa un alto contenido fenólico total ($p < 0,05$), pero bajo efecto antiinflamatorio, se detectó la presencia de saponinas, taninos y flavonoides y un análisis adicional de High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) demostró la presencia de rutina y quercetina. Concluyendo que el acetato de etilo de *D. linearis* ejerció actividades hepatoprotectoras y antioxidantes convirtiéndose en una nueva fuente para el desarrollo de fármacos hepatoprotectores (32).

Al (2020) tuvo como objetivo “Investigar la hepatotoxicidad inducida por la dosis terapéutica de paracetamol y el efecto de mejora de la coadministración oral de selenio/extracto de *Tribulus terrestris* (TT) en ratas”. Para ello se aleatorizaron 54 ratas Wistar albinas macho en 9 grupos de 6 ratas cada uno, y se les administró paracetamol y TT por vía oral por 30 días de la siguiente manera: Control 2ml de suero fisiológico, paracetamol a dosis de 470 mg/kg, selenio 2 mg/kg y TT 98 mg/kg y silimarina 200 mg/kg, se formaron grupos y se realizaron comparaciones entre los grupos obteniendo los siguiente resultados a nivel histológico donde el extracto de selenio/TT mostró cambios de leve a normal el grupo de silimarina no

mostraron cambios histopatológico. Concluyendo que la suplementación con Selenio/TT representaría un tratamiento contra la hepatotoxicidad por paracetamol (33).

2.2 Bases teóricas

2.2.2 Estudio Botánico.

Raphanus sativus L. “rábano” es una de las raíces más importantes económicamente, y es cultivado en los países tropicales, se caracteriza por la presencia de azufre en su composición, además de ser un potente antioxidante (34).

Las raíces del rabanito llevan colores intensos como son los rábanos rojos, blancos, grisáceos y negros, tienen formas esféricas, ovaladas, el tallo es ramoso y velludo, las hojas son ásperas, tienen sabor picante y son comestibles, plantadas en verano, primavera, invierno y otoño (35).

2.2.3 Taxonomía.

El rábano está dentro de la familia de Crucíferas, originaria de la China (34).

2.2.4 Clasificación taxonómica

Fue realizado por Biólogo José Ricardo Campos de la Cruz.

- Reino: Plantae
- División: Angiospermae
- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Supeorden: Rosanae
- Orden: Brassicales
- Familia: Brassicaceae

- Género: *Raphanus*
- Especie: *Raphanus sativus L.*
- Nombre vulgar: “Rabanito”

2.2.5 Usos

Raphanus sativus (Rábano) pertenece a la familia Brassicaceae y es un tubérculo ampliamente consumido en todo el mundo, las raíces y hojas se consumen tanto crudas como cocidas, debido a sus valores nutricionales como carbohidratos, proteínas y grasas además de vitaminas solubles en agua como el complejo B y la vitamina C) y minerales (Ca, Fe, Mg, Zn, Mn, K y P) y Flúor. Respecto a su valor medicinal en la medicina popular, el rábano se usa como remedio casero para el tratamiento de muchas enfermedades como ictericia, cálculos biliares, enfermedades hepáticas, trastornos cardiacos, prolapso rectal, indigestión y otros dolores gástricos debido a los compuestos bioactivos como glucosinolatos, polifenoles e isotiocianatos (36) (37).

2.2.6 Metabolitos con actividad hepatoprotectora

La caracterización fitoquímica del jugo de rábano fresco reveló la presencia de compuestos sulfurados hepatoprotectores, fenoles y terpenoides, los compuestos bioactivos, hepatoprotectores, como indol-3-carbinol, 3- [etoxi- (metiltio) metil]-2-pirrolidintiona y 3-(E) -(metiltio) -metilen-2-pirrolidintiona (38).

Los Terpenoides son derivados del compuesto IPP (Isopentenil difosfato o "5-carbono isopentenil difosfato") que se forman en la vía del ácido mevalónico, es un grupo grande de metabolitos con actividad biológica importante, entre ellos la actividad antioxidante, antiinflamatoria, los terpenos son los metabolitos secundarios que dan las características organolépticas (aroma y sabor) de las plantas

y que constituyen la mayor parte del aceite esencial producido por las plantas aromáticas de otro lado los compuestos polifenólicos es un gran grupo y este abarca a los flavonoides, para los cuales se ha reportado, actividad hepatoprotectora mediante la disminución del estrés oxidativo, es así que también presentan efectos inmunomoduladores, antiinflamatorios, antifibróticos, sequestradores de radicales libres y estabilizadores de membrana, los cuales pudieran estar contrarrestando el estrés oxidativo, la peroxidación lipídica y los cambios moleculares en el tejido hepático, ejerciendo los flavonoides dicho efecto protector sobre el tejido hepático (39). Un flavonoide presente en *Raphanus sativus L.*, es el kaempferol este presenta actividad antioxidante (alta potencia eliminadora de radicales) es importante mencionar que la actividad antioxidante es el principal mecanismo de acción que presentan estas sustancias con actividad hepatoprotectora (22).

El rábano (*Raphanus sativus L.*) posee una considerable cantidad de antocianinas glicosiladas, lo que lo convierte en una opción viable como colorante natural en alimentos, gracias a su notable estabilidad, estos pigmentos presentan propiedades terapéuticas y farmacológicas, las cuales están relacionadas con su actividad antioxidante. Además, los pigmentos del rábano tienen gran relevancia tanto en el ámbito nutricional como medicinal, debido a los múltiples beneficios que aportan a la salud humana (40).

2.2.7 Hepatotoxicidad

La hepatotoxicidad es causada por la ingestión de compuestos químicos u orgánicos y se asocia con anomalías funcionales y/o estructurales del hígado. El paracetamol es uno de los fármacos más utilizados debido a sus propiedades analgésicas y

antipiréticas, bajo costo y fácil disponibilidad, lo que conlleva a frecuentes sobredosis y por ende a toxicidad hepática y toxicidad directa por que se metaboliza por glucuronidación y sulfatación (23) (41).

El paracetamol, un fármaco analgésico-antipirético ampliamente utilizado, en sobredosis accidental (que puede ocurrir en alcohólicos y ancianos) produce daño hepático agudo, la unión covalente de un producto de oxidación del paracetamol , es decir , grupos de proteínas N-acetil-p-benzoquinoneimina y sulfidrilo, produce necrosis celular y peroxidación de lípidos, lo que provoca hepatotoxicidad que conduce a un aumento de marcadoras como el aspartato aminotransferasa (SGOT), glutamato piruvato transaminasa en suero (SGPT), alanina aminotransferasa (ALP) y bilirrubina total (TB) (26). El paracetamol es un fármaco que puede causar daño hepático cuando se usa en grandes dosis, este proceso se lleva a cabo mediante la formación de radicales libres, estos radicales libres tienen la propiedad de oxidar los lípidos de la membrana plasmática, en este sentido, al introducir sustancias con propiedades antioxidantes se pueden evitar o reducir los efectos tóxicos antes mencionados (42) (34).

2.2.8 Epidemiología de la hepatotoxicidad

Más de 900 fármacos identificados causan daño hepático, los fármacos representan el 5% de las hospitalizaciones, el 10 % de los casos de hepatitis aguda, el 50 % de la insuficiencia hepática aguda y alrededor del 2 % de la enfermedad hepática crónica, con 40.000 muertes por año (43).

La insuficiencia hepática en niños por paracetamol representa el 15% de todos los niños con insuficiencia hepática en el Reino Unido y EE. UU (37).

Se estima que la hepatotoxicidad ocurre en 1 de cada 600 a 1 de cada 3500 de todos los ingresos hospitalarios, y se estima que los fármacos representan del 2 al 5 % de los casos de ictericia, el 10% de las hepatitis y del 7 al 20% de insuficiencia hepática fulminante (13).

2.2.9 Definición de términos.

- **Hepatoprotección:** Es la protección del hígado frente a los efectos nocivos y antirradicalarios (44).
- **Paracetamol:** Conocido como acetaminofén, su mecanismo de acción es mediante la inhibición de la síntesis de prostaglandinas en el sistema nervioso central y bloqueando la generación del impulso doloroso a nivel periférico, cumple la función de analgésico y antipirético (45).
- **Radicales libres:** Son átomos o moléculas que tiene un electrón desapareado por lo que son muy reactivos (46). Suelen ser especies muy reactivas y de vida transitoria (47).
- **Antioxidantes:** Que inhibe o evita la oxidación de una sustancia o especie química (47).
- **Hepatotoxicidad:** Conjunto de efectos tóxicos sobre el hígado causados por la inhalación, la ingestión o la administración parenteral de toxinas industriales, de ciertas plantas o, sobre todo de medicamentos que ejercen una acción nociva directa, idiosincrásica o de otro tipo (47).

2.3 Formulación de la hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

(H₁) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” tiene efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol.

(H₀) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” no tiene efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol.

2.3.2 Hipótesis específica

(H₁) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” es soluble en solventes.

(H₀₁) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” no es soluble en solventes.

(H₂) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” presentan metabolitos con actividad hepatoprotectora.

(H₀₂) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” no presentan metabolitos con actividad hepatoprotectora.

(H₃) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” a dosis de 100 mg/kg tiene efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol, mediante un análisis histopatológico.

(H₀₃) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” a dosis de 100 mg/kg no tiene efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol, mediante un análisis histopatológico.

(H₄) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” a dosis de 200 mg/kg tiene efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol, mediante un análisis histopatológico.

(H₀₄) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” a dosis de 200 mg/kg no tiene efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol, mediante un análisis histopatológico.

(H₅) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” a dosis de 400 mg/kg tiene efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol, mediante un análisis histopatológico.

(H₀₅) El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” a dosis de 400 mg/kg no tiene efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol, mediante un análisis histopatológico.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Método de investigación

Se realizó un estudio comparativo, donde los grupos experimentales se compararon con el grupo blanco y los grupos de control positivo y negativo (48).

3.2 Enfoque de la investigación

La investigación tiene enfoque cuantitativo, porque se estableció una relación entre la causa efecto (49).

3.3 Tipo de la investigación

Se realizó un estudio básico, donde confirmamos las propiedades del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” (49).

3.4 Diseño de la investigación

Es un diseño experimental porque se manipuló una las variables de estudio (49). Se agruparon en 6 grupos de 8 ratas a quiénes se les administró por 10 días diferentes tratamientos: agua (grupo blanco), Suero fisiológico + paracetamol (grupo control negativo), Silimarina + paracetamol (grupo control positivo), diferentes dosis de extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. (100m, 200mg y 400mg/kg) + paracetamol, posterior a los 10 días de tratamiento se sacrificaron los animales obteniendo una muestra de hígado.

3.4.1 Corte

Es transversal, porque por única vez se realizó el diseño experimental y las muestras hepáticas fueron sometidos a examen histopatológico.

3.4.2 Nivel

Es explicativo porque se halló una relación de explicación o casualidad entre las variables de estudio, que intenta encontrar las causas de los eventos, donde diferentes tratamientos de tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” presentaron efecto a nivel hepático. (50).

3.5 Población, muestra y muestreo

3.5.1 **Población:** Conformada por ratas Holtzman machos entre 250+/-50g de peso corporal a quienes se les administró extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito”.

3.5.2 Muestra y muestreo: El muestreo fue de tipo probabilístico, donde todos los animales de experimentación fueron elegidos por elección al azar, la muestra estuvo conformada por 48 ratas Holtzman y estas se dividieron aleatoriamente en 6 grupos de 8 ratas cada uno (51).

3.5.3 Criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión:

- . Ratas Holtzman machos.
- . Ratas Holtzman de 250 +/-50 g de peso corporal
- . Rábanos jóvenes y de color rojo.
- . Rábanos limpios y en buen estado

Criterios de exclusión:

- . Ratas Holtzman que hayan sido utilizados anteriormente otros modelos experimentales
- . Ratas Holtzman con características apreciables de enfermedad.
- . Ratas con peso menor a 200g y mayor a 300g
- . Ratas sometidas a estrés y manipulación
- . Rábanos morados o blancos
- . Rábanos deshidratados y viejos
- . Rábanos sucios y con defectos apreciables.

3.6 Variable y operacionalización

3.6.1 Variables

- . **Variables independientes:** Extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L.
- . **Variable dependiente:** Efecto hepatoprotector.

3.6.2 Operacionalización

Tabla N 1. Operacionalización de las variables

| Variables | Definición Operacional | Dimensiones | Indicadores | Escala de medición | Escala valorativa (niveles o rangos) |
|---|--|---|---------------------------------|--------------------|---|
| Variable 1: Independiente: Extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito” | Evaluación de las características fisicoquímicas y fitoquímicas del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito” obtenido a partir de materia prima desecada, expuesta a maceración etanólica al 70%) (52). | Físico químico (Solubilidad) | Grado de solubilidad | Nominal | <ul style="list-style-type: none"> • Soluble = (+) • Insoluble = (-) |
| | | Fitoquímica cualitativa (Metabolitos secundarios) | Coloración. Precipitación | Nominal | <ul style="list-style-type: none"> • Flavonoides P/A • Alcaloides P/A • Esteroides, terpenos, taninos P/A |
| Variable 2: Dependiente: Efecto hepatoprotector | Protección del hígado frente a los efectos nocivos (44). | Grados de lesiones hepáticas | Según lesión histológica | Ordinal. | <ul style="list-style-type: none"> • Normal = 0 • Degeneración leve = 1 • Degeneración moderada = 2 • Necrosis. = 3 |
| | | | Según la extensión de la lesión | Ordinal | <ul style="list-style-type: none"> • Ninguna = 0 • Focal = 1 • Difusa = 2 |

leyenda: soluble (+), insoluble (-)
 leyenda: presencia (P), ausencia (A)
 leyenda :(P/A = presente/ausente)

3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1 Técnica

Se aplicó la técnica de observación a nivel histopatológico, esta técnica nos permitió recoger datos según el diseño de la investigación, estos resultados nos permitieron llegar a nuestro objetivo (53).

3.7.2 Descripción de instrumento

Guía de Observación

A: Pruebas de solubilidad: Se construyó una tabla de solventes que permitió registrar la solubilidad o la insolubilidad del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito”, la identificación de la solubilidad fue mediante el signo positivo (+) y la insolubilidad el signo negativo (-) (54).

B: Identificación de metabolitos: Se construyó una tabla de reacciones fitoquímicas que permitió registrar la presencia o ausencia de principios activos presentes en el extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito”, donde la presencia se determinó mediante la letra (P) y la ausencia mediante la letra (A) (27).

C: Efecto hepatoprotector: El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L., la primera parte: comprende datos de los investigadores, fecha de experimentación, dosis experimentales, periodo de tratamiento, vía de administración y peso de los animales de experimentación, así también la identificación de los grupos formados, La segunda parte comprende el diseño experimental donde se muestra la distribución de los grupos y los tratamientos que fueron administrados, los resultados se presentaron en 2 categorías histológicas,

primero se evaluó el grado de lesión histológica (normal: 0, degeneración leve: 1, degeneración moderna: 2 y necrosis: 3) y segundo se evaluó la extensión de la lesión (normal: 0; focal: 1 y difusa: 2) (55).

Procedimiento

A. Colecta del tubérculo *Raphanus sativus* L. “rabanito”

La colecta del tubérculo *Raphanus sativus* L. “rabanito” se realizó en el distrito de Puente Piedra, Lima.

B. Preparación del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito”

El tegumento seco de *Raphanus sativus* L., se maceró en etanol al 70 % por 7 días, posteriormente se filtró, el solvente obtenido se sometió a temperaturas altas hasta obtener el extracto del tegumento (52).

C. Pruebas de solubilidad del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito”

Se usaron 11 tubos de ensayo para realizar la prueba de solubilidad a cada tubo se añadió 20 mg de extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” y se le añadió 1mL de los diferentes solventes (54).

D. Análisis cualitativo preliminar del extracto etanólico del tegumento *Raphanus sativus* L. “rabanito”.

Se utilizaron reacciones colorimétricas y de precipitación que permitieron la identificación de principios activos del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” donde a 1 mL de las gotas problema se le agrega gotas de los diferentes reactivos (27).

- **Reacción de FeCl₃:** La reacción se tornó verde-azulada lo que indicó la presencia de compuestos fenólicos.
- **Reacción de Shinoda:** La aparición del color rojo indicó la presencia de flavonoides, chalconas y auronas.
- **Gelatina NaOH:** Un precipitado de color blanco indicó la presencia de taninos.
- **Reacción de Dragendorff:** Un precipitado anaranjado o rojo-anaranjado indicó la presencia de alcaloides.
- **Reacción de Mayer:** La presencia de turbidez de color blanco indicó la presencia de alcaloides.
- **Reacción de Lieberman-Burchardat:** La formación de color verde-azul, anaranjado o rojo, indicó la existencia de triterpenoides o esteroides.

E. Diseño experimental, hepatoprotector.

Se tomó en cuenta los diseños de propuestos de Huamán y Sánchez A, Sotomayor G, 2019, (modificado), previo a los días de experimentación se formaron 6 grupos de 8 animales, los animales estuvieron aclimatándose a temperatura constante de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, con ciclos de 12 horas luz y oscuridad y alimentación balanceada (56). (27)

- Grupo blanco, recibió suero fisiológico por vía oral (10 ml/kg) por 10 días.
- Grupo control negativo, recibió 10 ml/kg de suero fisiológico por vial oral, 1h después se les administró paracetamol (400 mg/kg) a partir de 6to día hasta completar los 10 días.
- Grupo control positivo, recibió silimarina a dosis de 150 mg/kg por 10 días, pero a partir del 6to día recibió paracetamol (400 mg/kg) por vía oral hasta completar los 10 días.

- Grupo experimental G1, se le administró 100 mg/kg del extracto etanólico de Tegumento de *Raphanus sativus* L., “rabanito” por 10 días, pero a partir del 6to día recibió paracetamol (400 mg/kg) por vía oral hasta completar los 10 días.
- Grupo experimental G2, se le administró 200 mg/kg del extracto etanólico de Tegumento de *Raphanus sativus* L., “rabanito” por 10 días, pero a partir del 6to día recibió paracetamol (400 mg/kg) por vía oral hasta completar los 10 días
- Grupo experimental G3 se le administró 400 mg/kg del extracto etanólico de Tegumento de *Raphanus sativus* L., “rabanito” por 10 días, pero a partir del 6to día recibió paracetamol (400 mg/kg) por vía oral hasta completar los 10 días.

Al término de la administración de los tratamientos los animales fueron sacrificados por sobredosis de pentobarbital 40 mg/kg por vía intraperitoneal (27).

F. Estudios histopatológicos.

La unidad de análisis del estudio fue las muestras de tejido hepático, que se obtuvo partir de los hígados de las ratas Holtzman, para ello se realizó una laparotomía abdominal para extraer una muestra de hígado, los cuales fueron lavados con solución salina y almacenados en solución de formalina neutra al 10% para ser analizado por un especialista médico patólogo (57).

3.7.3 Validación del instrumento

Se elaboró un instrumento que tuvo como base, estudios similares a la investigación. Las guías de observación fueron validadas por juicio de expertos, siendo los validadores la Dra. Lurdes Condori Huancacuri (UPNW), Dr. Jorge Luis

Arroyo Acevedo (UNMSM) y Dr. Martin Yovanny Condorhuamán Figueroa (UNMSM).

3.7.4 Confiabilidad del instrumento

Para hallar la confiabilidad del instrumento se utilizó una técnica de consistencia interna y así verificar si los ítems del instrumento son consistentes entre sí utilizando como medidas estadísticas el coeficiente de Cronbach, obteniendo un valor de 0.92, lo que sugiere que el instrumento tiene una excelente consistencia interna, indicando que las mediciones de daño hepático en las ratas a través de las dos variables (grado y extensión de la lesión) son altamente confiables.

Para evaluar la confiabilidad de los instrumentos, se utilizó el software estadístico SPSS versión 22.

3.8 Plan de procesamiento y análisis de datos

Se usaron los programas Microsoft Office 2018 y SPSS versión 22, los datos obtenidos se descargaron en una hoja Excel, los resultados se presentaron en media de los grupos y mediante un análisis de varianza (ANOVA) se determinó la significancia estadística de los grupos tratados, considerando un valor de p inferior a 0,05.

3.9 Aspectos éticos

El presente estudio fue evaluado por el Comité de Ética de la Universidad Norbert Wiener, así mismo se tomó en cuenta las recomendaciones del uso de animales de investigación del Instituto Nacional de Salud (INS), respecto a la minimización del dolor, entrenamiento de personal y condiciones de vida de los animales de experimentación (58). Además, ello se aplicó un protocolo de bioseguridad según las normas para realizar estudios experimentales (Anexo 8).

1. Previa la experimentación los investigadores recibimos capacitación de un personal calificado y entrenado en dichos procedimientos experimentales.
2. Se utilizaron procedimientos que involucraron la utilización de animales de experimentación, para ello propuso un diseño experimental donde se usó la mínima cantidad de ratas.
3. Antes de la ejecución del diseño experimental, los animales recibieron condiciones de vida adecuada, como son el confort, alojamiento, alimentación.
4. Durante la ejecución del diseño experimental se evitó y minimizo cualquier tipo de molestias, maltratos, distrés y dolor a los animales, consistente con un buen diseño de investigación.
5. Al finalizar el experimento los animales fueron sometidos a eutanasia, (recomendaciones del Colegio Médico Veterinario), en nuestra experimentación se aplicó pentobarbital.

Así también se tomó en cuenta los Principios del Institutos Nacionales de Salud de los EEUU quien recomienda que el personal debe ser entrenado en la experimentación animal en cuanto a la sedación, analgesia y anestesia apropiadas para evitar la duplicidad innecesaria de experimentos, así obtener criterios oportunos en la intervención y prevención del dolor o estrés, de la misma manera aplicar el uso de métodos de eutanasia apropiados es así que se resumen en las famosas 3R'S de Rusell y Burch reducción: a partir de uso de pocos animales, Refinamiento: métodos que alivian o minimizan el dolor potencial y la angustia para mantener al animal, remplazo; se pueda usar otros procedimientos científicos (59).

CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 Resultados

4.1.1 Análisis descriptivos de resultados

Tabla 2. Características fisicoquímicas del extracto etanólico del tegumento *Raphanus sativus* L.

| Característica | Extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L |
|-----------------------|--|
| Olor | Sui generis |
| Sabor | Amargo-picante |
| Textura | Viscoso |
| Color | Marrón |

Tabla 3. Solubilidad del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L.

| Solventes | Solubilidad |
|------------------|--------------------|
| Agua destilada | + |
| Metanol | + |
| Etanol | + |
| Acetona | - |
| Butanol | - |
| Ácido acético | - |
| Cloroformo | - |
| Éter etílico | - |
| Benceno | - |
| n – hexano | - |
| Éter de petróleo | - |

Leyenda: Soluble (+); Insoluble (-)

En la tabla N 3, se observa la solubilidad del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. siendo soluble en agua destilada, etanol y metanol.

Tabla 4. Metabolitos del extracto etanólico del tegumento *Raphanus sativus* L.

| Reacciones de caracterización | Metabolitos | Resultados |
|--------------------------------------|----------------------------|-------------------|
| AlCl ₃ 1% | Flavonoides | P |
| FeCl ₃ 1% | Compuestos fenólicos | P |
| Shinoda | Flavonoides | P |
| Prueba de gelatina/ NaOH | Taninos | P |
| Dragendorff | Alcaloides | P |
| Mayer | Alcaloides | P |
| Popoff | Alcaloides | P |
| Sonnenschein | Alcaloides | P |
| Wagner | Alcaloides | P |
| Liebermann- Burchard | Esteroides y/o triterpenos | P |
| Salkowski | Esteroides | P |

Leyenda: Presencia (P), Ausencia (A)

En la tabla N 4, se observa la presencia de metabolitos activos como son los flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides, esteroides en el extracto etanólico del tegumento *Raphanus sativus* L.

Tabla 5. Efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento *Raphanus sativus* L. según el tipo de lesión histológica

| Grado de lesión | Tratamientos | Grados de lesión | |
|-------------------------------------|---|------------------|-------|
| | | N | Media |
| | Blanco (Suero fisiológico, 10 ml/kg) | 8 | 0 |
| | Control Negativo, (paracetamol 400mg/kg) | 8 | 3 |
| | Control Positivo, (silimarina 150mg/kg. + paracetamol 400mg/kg) | 8 | 1 |
| Según el tipo de lesión histológica | G. Experimental 1, (100mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. + paracetamol 400mg/kg) | 8 | 2.8 |
| | G. Experimental 2, (200mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L + paracetamol 400mg/kg) | 8 | 1.3 |
| | G. Experimental 3, (400mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L + paracetamol 400mg/kg) | 8 | 1.3 |

En la tabla 5, se observa el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento *Raphanus sativus* L., frente a dosis de paracetamol de 400mg/kg. y según el tipo de lesión histológica, se observa que el grupo control negativo, (paracetamol 400mg/kg) y grupo experimental 1, (100mg/kg del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. + paracetamol 400mg/kg) presenta un tejido hepático necrótico (3-2.8) y el grupo control positivo, (silimarina 150mg/kg. + paracetamol 400mg/kg); grupo experimental 2, (200mg/kg del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. + paracetamol 400mg/kg) y grupo experimental 3, (400mg/kg del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. + paracetamol 400mg/kg) presenta un tejido hepático con lesión leve (1-1.3).

Tabla 6. Efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L.

Según la extensión de la lesión

| Grado de lesión | Tratamientos | Grados de lesión | |
|---------------------------------|--|------------------|-------|
| | | N | Media |
| Según la extensión de la lesión | Blanco (Suero fisiológico, 10 ml/kg) | 8 | 0 |
| | Control Negativo, (paracetamol 400mg/kg) | 8 | 2 |
| | Control Positivo, (silimarina 150mg/kg. + paracetamol 400mg/kg) | 8 | 1 |
| | G. Experimental 1, (100mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L + paracetamol 400mg/kg) | 8 | 1.8 |
| | G. Experimental 2, (200mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L + paracetamol 400mg/kg) | 8 | 1 |
| | G. Experimental 3, (400mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L + paracetamol 400mg/kg) | 8 | 1.3 |

En la tabla 6, se observa los grados de lesión del efecto hepatoprotector del extracto etanólico de *Raphanus sativus* L., y según la extensión de la lesión histológica, el grupo control negativo, (paracetamol 400mg/kg) y grupo experimental 1 (100mg/kg del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. + paracetamol 400mg/kg) se observa una lesión difusa (1.8 – 2) y el grupo control positivo, (silimarina 150mg/kg + paracetamol 400mg/kg); grupo experimental 2, (200mg/kg del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L + paracetamol 400mg/kg) y grupo experimental 3 (400mg/kg del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. + paracetamol 400mg/kg) se observa una lesión focal (1 - 1.3).

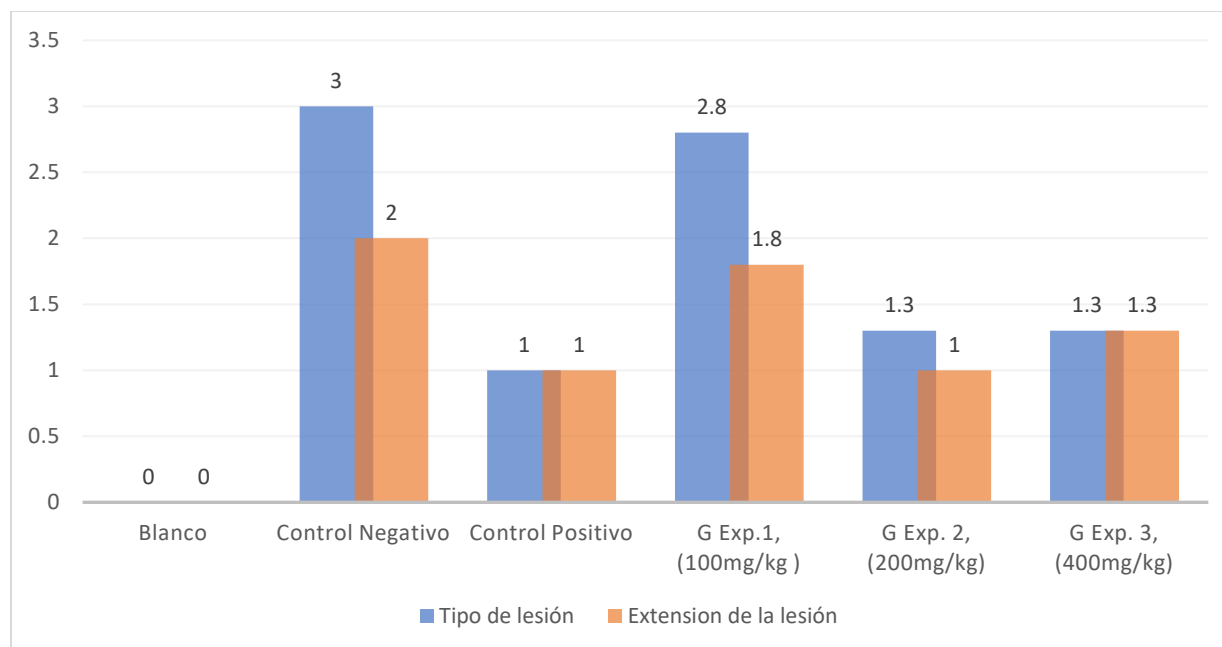


Figura 1. Grados de lesión del efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L., según el tipo de lesión y la extensión de la lesión.

En la figura 1, se observa las medias del tipo de lesión (barra azul) y las medias de la extensión de la lesión (barra Naranja); donde según el tipo de la lesión se mide en: 0: normal; 1: degeneración leve; 2: degeneración moderada; 3: necrosis y según la extensión de la lesión se mide en 1: extensión focal; 2: extensión difusa, donde según el tipo y la extensión de lesión del grupo control negativo es similar al G Exp. 1, y el grupo control positivo es similar G Exp. 2 y G Exp. 3,

Tabla 7. Tipos de lesión del efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L.

| Grupos | Tipos de lesión | | | | |
|---|-----------------|----------|----------|-----------|--------|
| | Degeneración | | Necrosis | Extensión | |
| | Leve | Moderada | | focal | difusa |
| Control Negativo, (paracetamol 400mg/kg) | | | X | | X |
| Control Positivo, (silimarina 150mg/kg) | X | | | X | |
| Experimental 1, (100mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L) | | | X | | X |
| Experimental 2, (200mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L). | X | | | X | |
| G. Experimental 3, (400mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L) | X | | | X | |

En la tabla 7, se observa la distribución de los tipos de lesión por grupo experimental donde: el grupo control negativo, presenta lesión necrótica y extensión difusa, el grupo control positivo, presenta degeneración leve y extensión focal, el grupo experimental 1 presenta necrosis y extensión difusa, por otro lado, el control positivo y los grupos experimentales 2 y 3 presentan degeneración leve y extensión focal.

4.1.2 Histopatología de las alteraciones hepáticas

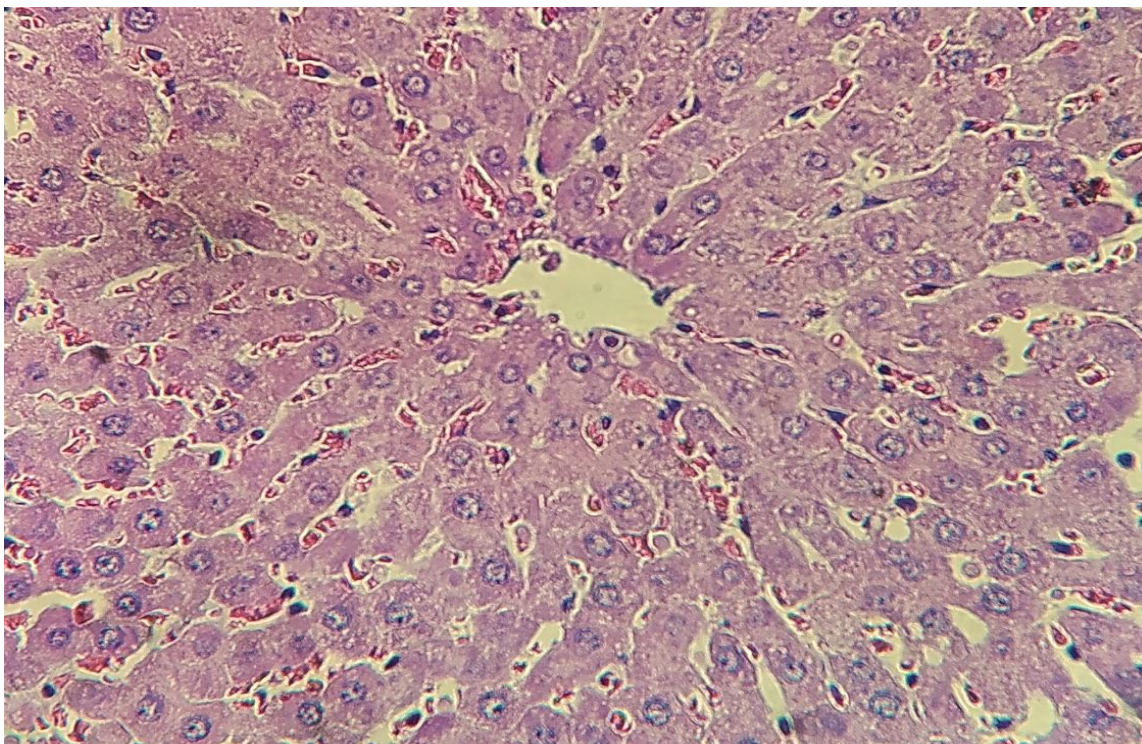


Figura 2. Grupo Blanco: Suero fisiológico, 10 ml/kg.

En la figura 2, Se observa la vista de microscopio a 40x, con coloración de hematoxilina eosina, donde se observa un hígado de estructura histológica y citológica dentro de rango de la normalidad, con un diagnóstico de hígado histológicamente normal.

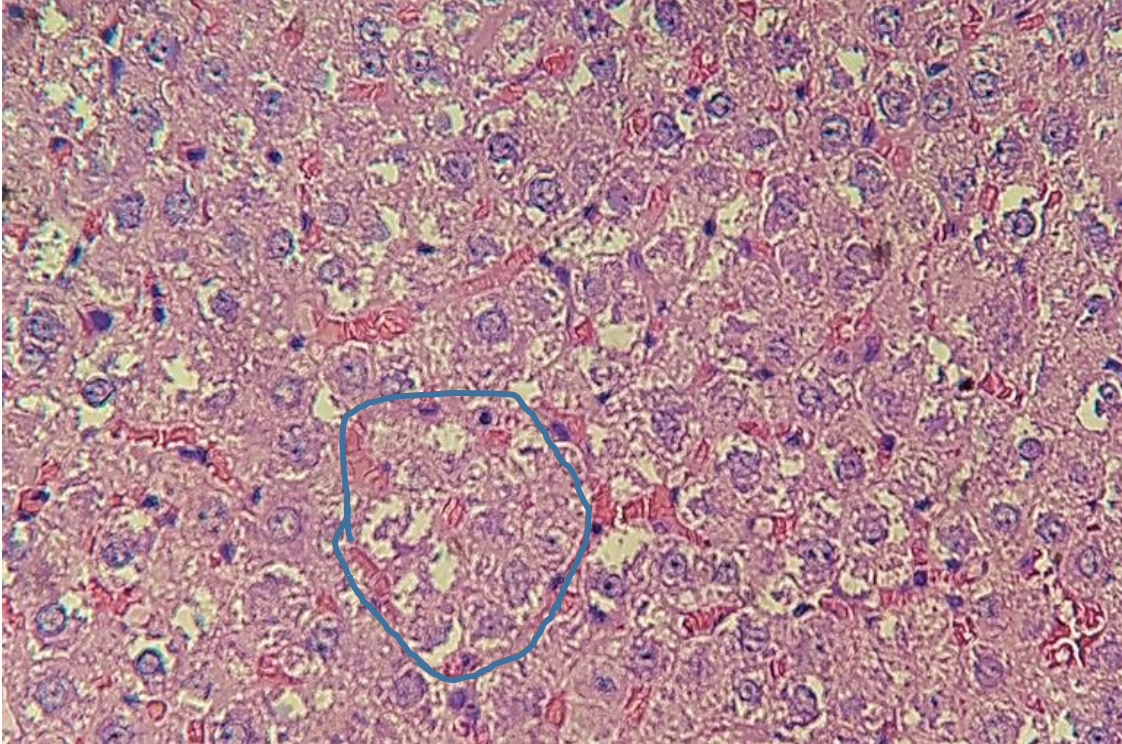


Figura 3. Grupo Control Negativo: Paracetamol 400mg/kg

En la figura 3, Se observa la vista de microscopio a 40x, con coloración de hematoxilina eosina, donde en todo el campo se aprecia un estado de degeneración hidrópica severa (se aprecian áreas difusas claras en el citoplasma de los hepatocitos) que se intercalan con zonas de necrosis (área delimitada de azul). Con un diagnóstico de degeneración y necrosis hepática difusa.

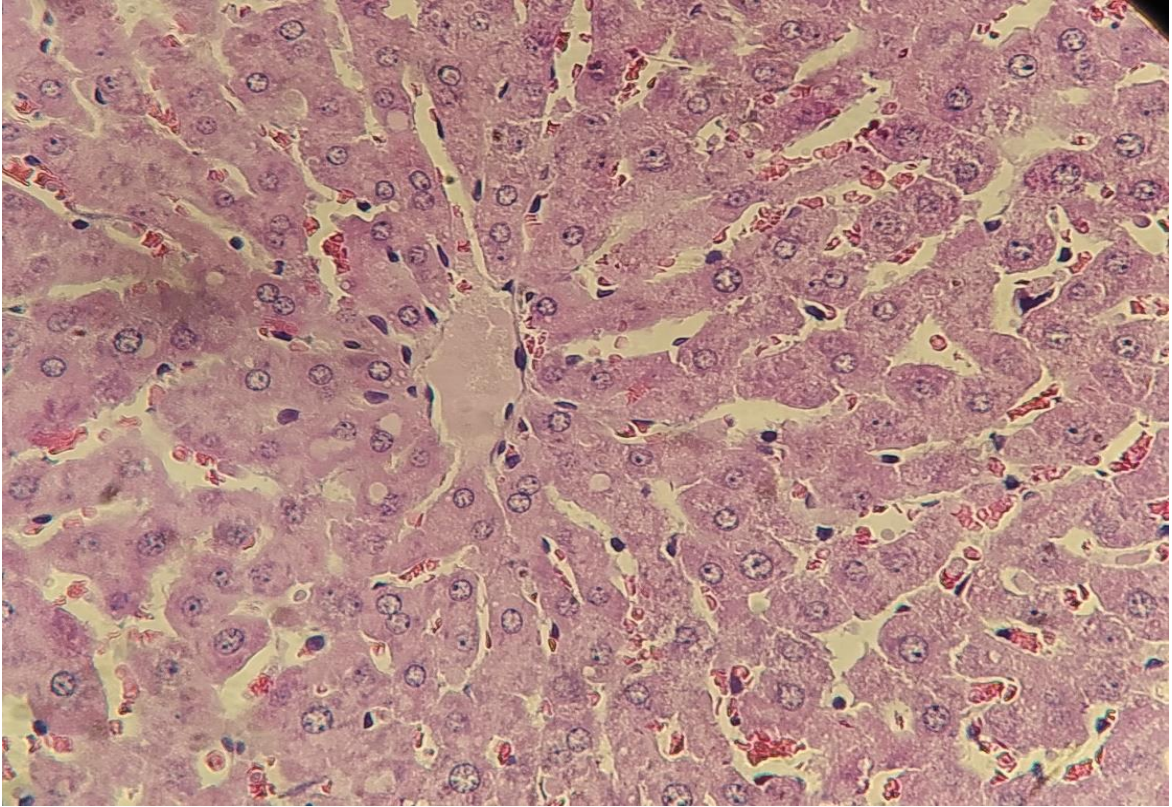


Figura 4. Grupo Control Positivo: Silimarina 150mg/kg. + Paracetamol 400mg/kg.

En la figura 4. Se observa la vista de microscopio a 40x, con coloración de hematoxilina eosina, donde se observa un tejido hepático con predominio de hepatocitos sin alteraciones, solo con un foco pequeño presenta tumefacción turbia. Teniendo un diagnóstico de degeneración hepática leve y focal.

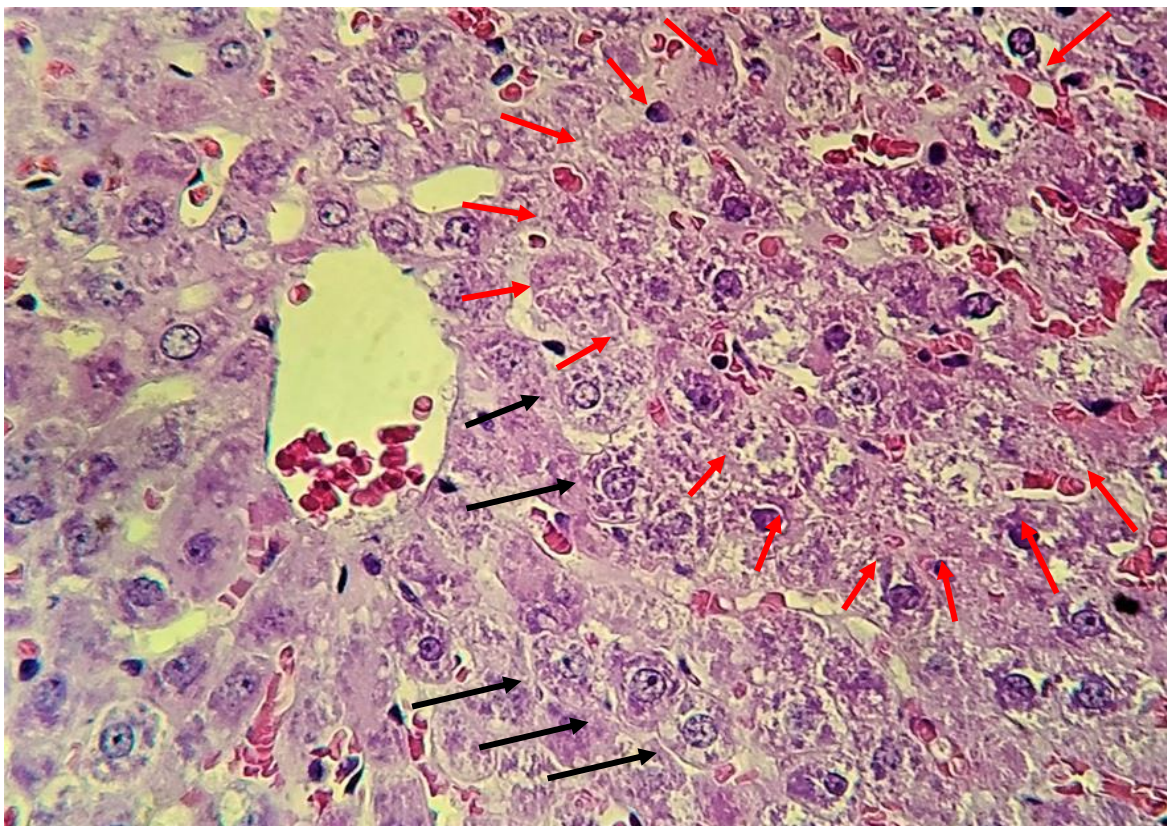


Figura 5. Grupo experimental 1: 100mg/kg de extracto de tegumento *Raphanus sativus* L+ Paracetamol 400mg/kg.

En la figura 5, Se observa la vista de microscopio a 40x, con coloración de hematoxilina eosina, donde se observa un hígado con degeneración hidrópica severa con foco de necrosis, donde las flechas negras señalan a los hepatocitos con degeneración hidrópica y flechas rojas: delimitando la zona de necrosis, obteniendo un diagnóstico de necrosis hepática difusa, lo que evidencia que 100 mg de extracto de Rabanito no son protectores contra el Paracetamol.

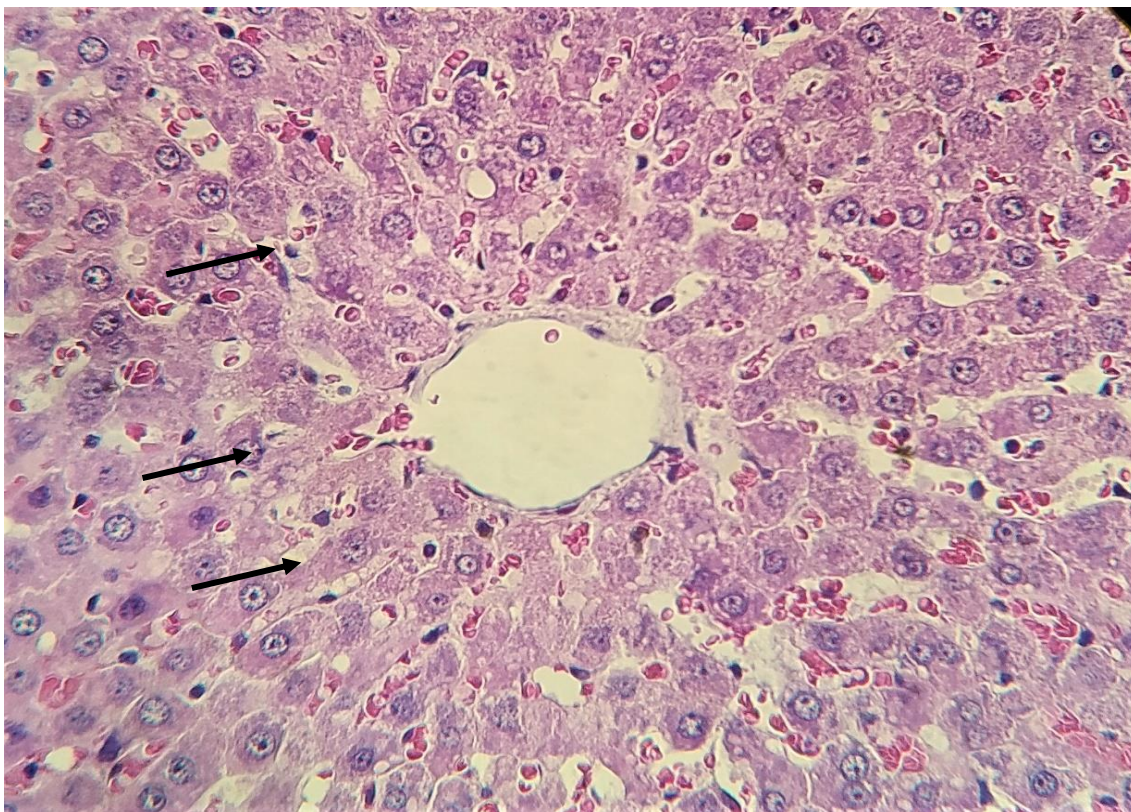


Figura 6. Grupo experimental 2: 200mg/kg de extracto del tegumento *Raphanus sativus* L+ Paracetamol 400mg/kg.

En la figura 6, Se observa la vista de microscopio a 40x, con coloración de hematoxilina eosina, donde se observa un hígado con degeneración hidrópica leve sin necrosis, donde las flechas negras señalan a los hepatocitos con degeneración hidrópica teniendo un diagnóstico de degeneración hepática leve y focal, lo que evidencia que 200 mg de extracto de rabanito logran un efecto protector significativo contra el Paracetamol.

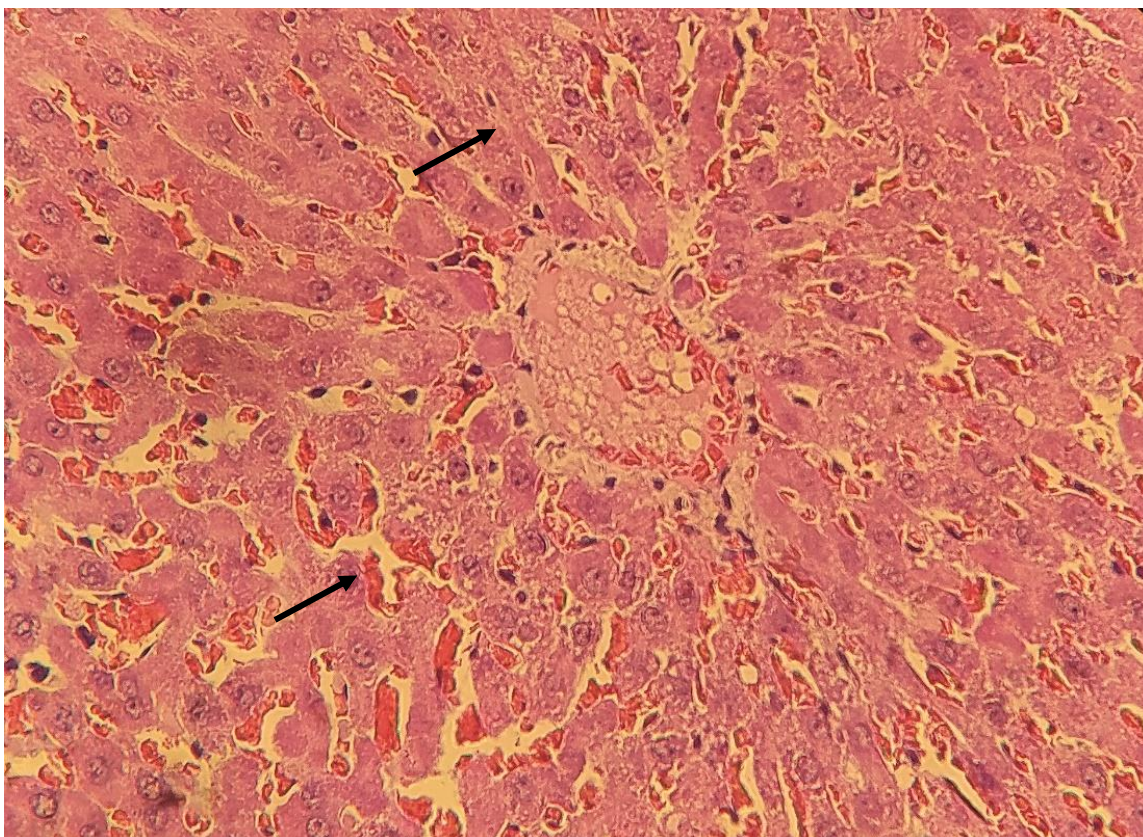


Figura 7. Grupo experimental 3: 400mg/kg de extracto del tegumento de *Raphanus sativus* L+ Paracetamol 400mg/kg.

En la figura 7, Se observa la vista de microscopio a 40x, con coloración de hematoxilina eosina, donde se observa un hígado con pequeños focos de degeneración hidrónica sin necrosis, donde las flechas negras señalan a los hepatocitos con degeneración hidrónica, teniendo un diagnóstico de degeneración hepática leve y focal, lo que evidencia que 400 mg de extracto de Rabanito logran un efecto protector significativo contra el paracetamol.

4.1.3 Prueba de hipótesis

La significancia estadística se determinó a través de un ANOVA en el programa estadístico SPSS versión 22, considerando a $p < 0.05$ como significativo, donde se acepta la hipótesis.

4.1.4 Discusión de resultados

Raphanus sativus L. pertenece a la familia Brassicaceae, es un tubérculo muy consumido en todo el mundo, varias investigaciones han demostrado los valores nutricionales y medicinales del *Raphanus sativus* L., desde la antigüedad se han utilizado para el tratamiento de trastornos estomacales, infecciones urinarias, inflamación hepática, trastornos cardíacos y úlceras en la medicina popular, el potencial farmacéutico de los rábanos se atribuye a la presencia de sus beneficiosos metabolitos secundarios.

Nuestra investigación tiene el interés de validar las propiedades hepatoprotectoras, previamente se realizó pruebas de solubilidad y tamizaje fitoquímico al extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. En la fitoquímica los solventes se usan para extraer metabolitos secundarios, por ello es importante determinar la solubilidad de los extractos de las plantas. Nuestra investigación realizó pruebas de solubilidad, donde al mezclar el extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L con diferentes solventes, se obtuvieron mejores resultados con metanol, etanol y agua, a diferencia de los solventes menos polares como cloroformo, éter etílico, benceno, n – hexano, etc., este resultado se apoya en lo reportado por Anguloye en el 2020 (60), quien comparo la solubilidad de los solventes agua destilada, etanol y cloroformo, donde los mayores resultados respecto al rendimiento fueron para etanol respecto a los otros solventes, al etanol se le atribuyó la

capacidad de extraer compuestos bioactivos como taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides, fenoles y esteroides. Por otro lado, García en el 2016 (61), determinó la eficiencia del etanol al 96 % alcanzando un 87% de eficiencia como solvente.

La solubilidad depende principalmente de factores como la polaridad, el tamaño de partícula y la naturaleza ácida o básica del compuesto analizado, la solubilidad del extracto se encuentra relacionada con la polaridad del solvente, una sustancia se considera soluble en agua cuando por lo menos se disuelve en una relación de 3 g por 100 ml de disolvente (62).

Por otro lado las reacciones cualitativas, como son las reacciones de coloración precipitación, nos permitieron identificar metabolitos secundarios como flavonoides, taninos, alcaloides y esteroides en el extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus L.* Resultados similares a los que encontraron Hanlon en el 2011 (24) y Castro en el 2013 (63), quienes determinaron concentraciones mayores de glucosinolatos (como metabolito principal), isotiocianatos, fenólicos y antocianinas. Manivannan et al., en el 2019 (38), encontraron glucosinolatos, polifenoles e isotiocianatos, Lee en el 2012 (64) determinó que los principales componentes del rábano son el isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenilo, isotiocianato de alilo, isotiocianato de bencilo e isotiocianato de fenilo, también encontró flavonoides como glucósidos de kaemferol, peroxidasas y antioxidantes. Estudios más recientes como el de Na, et al., en el 2021 (6) identificaron la presencia de alcaloides, glucósidos, saponinas, taninos, carbohidratos y compuestos fenólicos. Gao en el 2022 (65), identificaron más de 70 constituyentes químicos, incluidos glucosinolatos y derivados que contienen azufre, sucrosidos de fenilpropanoides,

pequeños ácidos orgánicos y derivados, glucósidos de flavona, alcaloides, terpenoides, esteroides, oligosacáridos, etc.

Como vemos los resultados de los estudios en mención, son similares, respecto a la presencia e identificación de los metabolitos secundarios, sin embargo, las diferencias se deben a factores externos, como son los métodos de identificación (tamizaje fitoquímico, espectrofotómetro de masas, cromatografías de gases), tipo de extracción, solvente, parte de la planta usada, estaciones año, tipo de suelo, etc.

Varios investigadores han reportado efectos hepatoprotectores de *Raphanus sativus* L., por ejemplo Takaya *et al.* En el 2003 (66), demostraron que los polifenoles como el ácido sinápico y el ácido ferúlico y los flavonoides como el kaempferol están presentes en *R. sativus* tienen propiedades antioxidantes (alta potencia eliminadora de radicales). Syed en el 2014 (22) atribuye que la hepatoprotección puede deberse a los principios antioxidantes presentes en los extractos, como son los flavonoides, terpenoides y polifenoles. Parikh en el 2015 (67) refiere que los compuestos fenólicos de las brassicaceas disminuyeron los niveles de especies reactivas de oxígenos (ROS), en respuesta a la toxicidad por paracetamol demostrándose así el efecto hepatoprotector. Ahn en el 2018 (68), refiere que el metabolito 3-(E)-(metiltio)metilen-2-pirrolidinetiona aumentó significativamente los efectos de eliminación de radicales y la expresión del factor nuclear eritroide 2 relacionado con el factor 2 (Nrf-2) en células de carcinoma hepatocitos humanos (HepG2) tratadas con ácido oleico lo que sugieren que el tratamiento con *Raphanus sativus* L., reduce la acumulación de lípidos en la esteatosis de células HepG2 inducida por ácido oleico y tiene un efecto hepatoprotector contra la lesión hepática posiblemente a través

de efectos antioxidantes mediados por la expresión del factor nuclear eritroide 2 relacionado con el factor 2 (Nrf-2) y la hemo oxigenasa-1 (HO-1) (Nrf-2/HO-1). Hwang en el 2022 (2), refiere que el glucosinolato posee varios efectos fisiológicos, como son las actividades antiinflamatorias, anticancerígenas y hepatoprotectoras. Los extractos de rábano regulan el estrés oxidativo y la apoptosis activando el factor Nrf2., este efecto puede atribuirse al glucosinolato, un compuesto de Brassicaceae que contiene azufre que se encuentra principalmente en la familia Brassica.

La hepatotoxicidad inducida por fármacos es la causa más frecuente de insuficiencia hepática aguda en Estados Unidos, debido a que el hígado es responsable de concentrar y metabolizar la mayoría de los medicamentos, entre los fármacos hepatotóxicos, el paracetamol es el más estudiado, pero una amplia gama de agentes farmacológicos puede inducir daño hepático, incluidos anestésicos, anticancerígenos, antibióticos, antituberculosos, antirretrovirales y medicamentos cardíacos, en la medicina tradicional también existen hierbas hepatotóxicas (69).

El paracetamol es el fármaco más usado como antipiréticos y analgésico, sin embargo, cuando se toma más de una dosis aceptada puede causar insuficiencia hepática aguda, por ello la Administración de Medicamentos y Alimentos de EE. UU. (FDA) en el 2011 recomendó una dosis diaria de 4g (2).

Santa Cruz en el 2021 (70), refieren que una dosis de 200 mg/kg acetaminofén en ratas, a nivel histológico, presenta hipertrofia de células de Kupffer, necrosis severa y retención biliar y una dosis de 300 mg/kg de acetaminofén en ratones, se encontró alteración de la estructura hepática, congestión parenquimal, incremento de las células de Kupffer y

apoptosis. Hwang en el 2022 (2), comprobó que el paracetamol induce toxicidad hepática, lo que provoca inflamación del tejido hepático e infiltración celular, sin embargo, los síntomas se aliviaron de forma dosis dependiente con los extractos *Raphanus sativus* L.

Por otro lado, nuestra investigación experimentó una dosis de paracetamol de 400mg/kg donde a nivel histológico se observa una degeneración hidrópica severa (se aprecian áreas difusas claras en el citoplasma de los hepatocitos) que se intercalan con zonas de necrosis, diagnosticándose una degeneración y necrosis hepática difusa. Diversos estudios han tratado de explicar esta hepatotoxicidad, es así que en 1896 Slattery, (71) refiere que el paracetamol es el mejor ejemplo de los fármacos que causan hepatotoxicidad relacionado con la dosis, una fracción de paracetamol es metabolizada por CYP2E1, CYP1A2 y CYP3A4 a un metabolito intermedio tóxico (N-acetil-p-benzoquinona imina (NAPQI)) que puede interactuar con proteínas intracelulares e inducir la muerte de los hepatocitos. El NAPQI generado se une rápidamente al glutatión (GST), lo que previene los efectos tóxicos, la hepatotoxicidad ocurre cuando se agota el GST o cuando la generación de NAPQI excede la capacidad de unión de GST, el agotamiento de GST como el aumento de la generación de NAPQI desarrollan daño hepático grave incluso con dosis bajas (2 a 4 g/día) de paracetamol. Zubkova en el 2004 (72) refiere que el paracetamol agota el GSH y causa daño hepático, el agotamiento de GSH reduce la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), provocando estrés oxidativo. McGill en el 2013 (73) y Yoon et al., 2016 (74) refieren que el paracetamol en sobredosis causa disfunción mitocondrial y necrosis centrolobulillar en el hígado, la inflamación de los orgánulos conduce a la necrosis celular y la liberación de contenidos mitocondriales, como el factor inductor de apoptosis (AIF)

y la endonucleasa G (EndoG), que a su vez migran a los núcleos y causan la fragmentación del ADN, la inflamación celular, la cariólisis, la cariorrexis, la vacuolización, la inflamación y la liberación de contenidos celulares (alanina aminotransferasa (ALT)) son procesos clave de la necrosis de hepatocitos.

La silimarina, un agente antihepatotóxico, extraído de las semillas y el fruto de *Silybum marianum* o “Cardo Mariano”, conformado por silibinina, silidianina y silicristin, utilizado como control positivo por su efecto regenerador, inhibidor y antioxidante (27).

Nuestra investigación revela que el grupo control negativo (paracetamol 400mg/kg) y el grupo experimental 1 (100mg/kg de extracto de *Raphanus sativus* L+ 400mg/kg de paracetamol) no son hepatoprotectores contra el paracetamol, porque histológicamente se evidencia una degeneración hidrópica severa y se intercalarían con zonas de necrosis lo que se diagnostica como necrosis hepática difusa. Resultados similares a Syed en el 2014 (22) donde el control negativo (CCl₄) mostró una arquitectura del tejido completamente destruida, marcada inflamación y necrosis. Hwang en el 2022 (2). El daño hepático por sobredosis de paracetamol a nivel histológico mediante tinción con hematoxilina y eosina se observó un cambio de color, inflamación, infiltración celular y congestión venosa central del hígado, confirmando que paracetamol induce toxicidad hepática.

Por el contrario, el grupo experimental 2 (200mg/kg) y grupo experimental 3 (400 mg/kg) lograron un efecto protector significativo contra el paracetamol, porque histológicamente se observa un hígado con degeneración hidrópica leve sin necrosis (hepatocitos con degeneración hidrópica) lo que se diagnostica como degeneración hepática leve y focal. Resultados similares a Syed en el 2014 (22) donde se evidencia hepatocitos preservados

que tienen apariencia normal no hay signos de congestión ni de células inflamatorias indebidas a dosis de 300mg/kg de *Raphanus sativus* L. Ahn en el 2018 (68) y Hwang en el 2022 (2) refieren que los efectos hepatoprotectores *Raphanus sativus* L., mejoran a medida que la dosis aumenta, (dosis dependiente) se evidencia notablemente un estado histológico conservado en cuanto a la inflamación y la infiltración del tejido hepático.

Por lo tanto, una dosis de 200 y 400mg/kg tienen efectos hepatoprotectores contra paracetamol, estadísticamente significativo ($p < 0.05$) resultados similares al estudio de Younus en el 2019 (75) donde una variedad de rábano (*Raphanus caudatus*) a dosis de 250, 500 y 1000mg/kg no mostraron alteraciones histológicas a nivel hepático.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito” es soluble en agua, metanol y etanol.
- El extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L presenta metabolitos activos como, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides y esteroides.
- Según el análisis histopatológico una dosis de 100 mg/kg del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” no presentó efectos hepatoprotectores inducida por paracetamol a 400mg/kg.
- Según el análisis histopatológico una dosis de 200 mg/kg del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” presentó efectos hepatoprotectores inducida por paracetamol a 400mg/kg.
- Según el análisis histopatológico de 400 mg/kg del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus Sativus* L. “rabanito” presentó efectos hepatoprotectores inducida por paracetamol a 400mg/kg.

5.2 Recomendaciones

- Realizar una identificación de metabolitos secundarios a través métodos más sofisticados como cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS).
- Identificar los mecanismos de los metabolitos activos responsables del efecto hepatoprotector.
- Aislar los metabolitos secundarios y preparar nutracéuticos hepatoprotectores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Zamora L, Aguirre J, Chávez N, Torre A. Acute-on-chronic liver failure: a review. *Ther Clin Risk Manag.* [Online]. 2014;10:295-303 [Acceso 04 de junio de 2024]. Disponible en: DOI: [10.2147/TCRM.S59723](https://doi.org/10.2147/TCRM.S59723)
- 2 Hwang A, Hwang Y, Hwang H, Park N. Hepatoprotective Effects of Radish (*Raphanus sativus* L.) on Acetaminophen-Induced Liver Damage via Inhibiting Oxidative Stress and Apoptosis. *Nutrients.* [Online]. 2022; 14(23), 5082. [Acceso 05 de junio de 2024]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu14235082>.
- 3 Tujios S, Fontana J. Mechanisms of drug-induced liver injury: from bedside to bench. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* [Online]. 2011; 8(4):202-211. [Acceso 03 de junio de 2024]. Disponible en DOI: [10.1038/nrgastro.2011.22](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2011.22).
- 4 Abdeen A, Abdelkader A, Abdo M, et al. Protective effect of cinnamon against acetaminophen-mediated cellular damage and apoptosis in renal tissue. *Environ Sci Pollut Res Int.* [Online]. 2019; 26(1):240-249.[Acceso 03 de junio de 2024]. Disponible en: [10.1007/s11356-018-3553-2](https://doi.org/10.1007/s11356-018-3553-2).
- 5 Oh S., Moon K, Song E, Wi S, Koh S. Fotosíntesis, productividad y contenido mineral de rábanos de invierno por tipo de suelo en la isla de Jeju. Coreano. *J. Hortic. Ciencia. Tecnología.* [Online]. 2019; 37: 167–177. [Acceso 03 de junio de 2024]. Disponible en: [10.12972/kjhst.20190017](https://doi.org/10.12972/kjhst.20190017)
- 6 Na J, Jeong H, Shin M, Kang M, Lee J, Bang G, et al. El extracto de rábano (*R. Sativus* Linn) promueve el efecto antiaterosclerótico utilizando la metabolómica de la orina en

- ratones ApoE -/-. [Online]. 2021;78: 1043368. [Acceso 03 de junio de 2024].
Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104368>.
- 7 Yi G, Lim S, Chae W, Park J, Park H, Lee E, et al. Perfiles de glucosinolato de raíz para la detección de recursos genéticos de rábano (*Raphanus sativus* L.). *J. Agrícola. Química de los alimentos*. [Online]. 2016; 64: 61–70. [Acceso 03 de junio de 2024].
Disponible en: [10.1021/acs.jafc.5b04575](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04575).
- 8 Madrigal E, Madrigal E, Álvarez I, et al. Review of natural products with hepatoprotective effects. *World J Gastroenterol*. [Online]. 2014;20(40):14787-14804. [Acceso 28 de diciembre de 2022]. Disponible en: [doi:10.3748/wjg.v20.i40.14787](https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i40.14787).
- 9 Gong S, Lan T, Zeng L, et al. Gut microbiota mediates diurnal variation of acetaminophen induced acute liver injury in mice. *J Hepatol*. [Online]. 2018; 69(1):51-59. [Acceso 10 de junio del 2023]. Disponible en: [doi:10.1016/j.jhep.2018.02.024](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.02.024).
- 10 Lancaster, E, Hiatt, J y Zarrinpar, A. Hepatotoxicidad por paracetamol: una revisión actualizada. *Arco Toxicol*. [Online]. 2015; 89:193–199. [Acceso 28 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1432-2>.
- 11 Bustíos C, Dávalos M, Román R, Zumaeta E. Características Epidemiológicas y Clínicas de la Cirrosis Hepática en la Unidad de Hígado del HNERM Es-Salud. *Rev. gastroenterol. Perú*. [Online]. 2007; 27(3): 238-245. [Acceso 25 de agosto de 2021].
Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292007000300003&lng=es.
- 12 Canal N, Macías C. Hígado graso no alcohólico en niños. *Arch Venez Puer Ped*. [Online]. 2015; 78(1):31-37. [Acceso 26 de setiembre de 2021]. Disponible en:

- http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492015000100007&lng=es.
- 13 Tejada F. Hepatotoxicidad por Fármacos. Rev Clin Med Fam. [Online]. 2010; 3(3):1;77-191. [Acceso 15 de agosto de 2022]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2010000300006&lng=es.
 - 14 Larrey D. Drug-induced liver diseases. J Hepatol. Journal of hepatology. [Online]. 2000; 32(1);77-88. [Acceso 27 de diciembre de 2022]. Disponible en DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(00\)80417-1](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(00)80417-1).
 - 15 Segovia A, Di D, López C, et al. Preclinical models of idiosyncratic drug-induced liver injury (iDILI): Moving towards prediction. Acta Pharm Sin B. [Online].2021;11(12):3685-3726. [Acceso 28 de diciembre de 2022]. Disponible en: [doi:10.1016/j.apsb.2021.11.013](https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.11.013).
 - 16 Ayal G. Farmacia Abierta: Cirrosis Hepaticá. [Online]. 2012; 26(4). [Acceso 15 de setiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-X0213932412502272>.
 - 17 Saucedo E, Tocto J y Acaro F. Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (“manayupa”) en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol. [Tesis de titulación para obtener el título de Químico Farmacéutico]. Peru, Universidad María Auxiliadora Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018.

- Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/177/2019-18%20%28Final%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 18 Shivakumar C, Geoffrey C, Farrell. Hepatotoxicidad a base de hierbas: un problema en expansión pero mal definido. [Online]. 2008;15(10): 1093-1099. [Acceso 28 de diciembre de 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1046/j.1440-1746.2000.02349.x>.
- 19 Lopez R. Aspectos morfológicos de la enfermedad hepática inducida por drogas. [Online]. 2014. [Acceso 10 de julio de 2023]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572014000400016&lng=en.
- 20 Ei Gao, Huan Li, Bingqian Li, Huili Shao, Xinyue Yu, Zhuang Miao, et al., Traditional uses, phytochemistry, transformation of ingredients and pharmacology of the dried seeds of *Raphanus sativus* L. (Raphani Semen), A comprehensive review. [Online]. 2022. [Acceso 10 de julio de 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115387>.
- 21 Arnao I, Suárez S, Trabucco J, Cisneros R, Elena M. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en un modelo de intoxicación con acetaminofén. An. Fac. med. [Online]. 2012; 73(3): 239-244. [Acceso 15 de setiembre de 2021]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832012000300012&lng=es.
- 22 Syed S, Rizvi W, Kumar A, Khan A, Moin S, & Ahsan A. In vitro antioxidant and in vivo hepatoprotective activity of leave extract of *Raphanus sativus* in rats using CCL4

- model. African journal of traditional, complementary, and alternative medicines. [Online]. 2014; 11(3):102–106. [Acceso 15 de setiembre de 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v11i3.15>.
- 23 Chaturvedi P, George S y Machacha C. Sativus Root Extract on Paracetamol-Induced Hepatotoxicity in Albino Rats. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* [Online]. 2007; 77 (1). [Acceso 16 de agosto de 2021]. Disponible en: DOI 10.1024/0300-9831.77.1.41.
- 24 Hanlon P, Barnes D. Phytochemical composition and biological activity of 8 varieties of radish (*Raphanus sativus* L.) sprouts and mature taproots. *Journal of food science.* [Online]. 2011; 76(1), 185–192. [Acceso 25 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01972.x>.
- 25 Goyeneche R, Roura S, Ponce A, Vega A, Quispe I, Uribe E, Di K.. Chemical characterization and antioxidant Chemical characterization and antioxidant) Chemical characterization and antioxidant. [Online]. 2015. [acceso 16 de julio de 2023]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.049>.
- 26 Kiran P, Raju A, & Rao B. Investigation of hepatoprotective activity of *Cyathea gigantea* (Wall. ex. Hook.) leaves against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine.* [Online]. 2012;2(5), 352–356. [Acceso 25 de agosto de 2021]. Disponible en: doi: 10.1016/S2221-1691(12)60055-0.
- 27 Huaman O. Evaluación de la capacidad antioxidante y efectohepatoprotector del zumo del fruto *corryocactusbrevistylus*, en ratas con intoxicación por paracetamol. [Tesis para optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias de la Salud]. Lima-Perú: Universidad

- Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina. 2019. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/10717>
- 28 Candiotti C. Actividad antioxidante y hepatoprotectora del zumo de taperiba (*Spondias dulcis* sol. ex parkinson) en ratas con hepatotoxicidad inducida por paracetamol. [Tesis para optar el Grado de Maestro Magister Scientiae en Nutricion]. Perú: Universidad Nacional Agraria la Molina. 2020. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4330>
- 29 Enciso E, Aguilar E, Comun P y Condorhuaman Y. Hepatoprotective effect and antioxidant activity of the hydroalcoholic extract of the fruit of two varieties of *Opuntia Megacantha* “Tuna”. *Ciencia e Investigación*. [Online]. 2020; 23(1):51-58. [Acceso 25 de agosto de 2021]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/ci.v23i1.18752>
- 30 Rey V. Actividad hepatoprotectora de Ananas comusus (piña) en ratas con toxicidad hepática inducida por isoniácida. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional de San Marcos; 2017. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/6827>.
- 31 Sinaga E, Fitrayadi A, Asrori A, Endarti S, Suprihatin S y Dewi V. 2021 pandanus. *Pharmaceutical biology*. [Online]. 2021; 16); (9), 1, 31–39. [Acceso 25 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1865408>.
- 32 Zainul Z. Farah K, Teh K y Zaki M. Hepatoprotective and antioxidant activities of *Dicranopteris linearis* leaf extract against paracetamol-induced liver intoxication in rats.

- Pharmaceutical Biology. [Online]. 2020. [Acceso 25 de agosto de 2021]. Disponible en: [DOI:10.1080/13880209.2020.1764058](https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1764058).
- 33 Al A. Hepatotoxicity-Induced by the Therapeutic Dose of Acetaminophen and the Ameliorative Effect of Oral Co-administration of Selenium/Tribulus terrestris Extract in Rats. *Int. J. Morphol.* [Online]. 2020. [Acceso 15 de diciembre de 2022]. Disponible en: doi.org/10.4067/S0717-95022020000501444.
- 34 Perez J. Revitalizate. Cuarta ed. Angles D, editor. Barcelona: Zarana Agencia Literaria; 2013.
- 35 Robles P. Estimación de impactos ambientales basado en el análisis de ciclo de vida de la fase agrícola de la cadena agroalimentaria convencional y agroecológica del rábano (*Raphanus sativus* L.) en el cantón Cayambe. [Tesis de titulación de Ingeniería Ambiental]. Quito: Universidad Politécnica Salesiana, Ingeniería Ambiental; 2019. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17004>
- 36 Ali S. Radish (*Raphanus sativus*) and Diabetes. *Nutrients*. [Online]. 2017; 9 (9). [Acceso 20 de julio de 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu9091014>.
- 37 Murray K, Hadzic N, Wirth S, Bassett M, & Kelly D. Drug-related hepatotoxicity and acute liver failure. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. [Online]. 2008; 47(4): 395–405. [Acceso 15 de julio de 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181709464>.

- 38 Manivannan A, Jin K, Do K, Eun L y Hye L. Deciphering the Nutraceutical Potential of *Raphanus sativus* A Comprehensive Overview. *Nutrients*. [Online]. 2019; 11(2):402. [Acceso 25 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu11020402>.
- 39 Rosales C, Soria C, Pérez M, Cedillo Cruz Leila Yadira, Huacuja Ruiz Luis, Miranda Beltrán María de la Luz. Efecto hepatoprotector de una mezcla de siete plantas en cirrosis inducida con tetracloruro de carbono. *Rev Cubana Plant Med*. [Online].2017; 22(1). [Acceso 05 de setiembre de 2024]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962017000100001&lng=es).
- 40 Matus D, Moya J, Castillo C, Cervantes M, Arguelles L, Aguilar O, et al., xtracción y uso de antocianinas del rábano (*Raphanus Sativus* L Var Crimson Gigant) como colorante natural en yogur. [Online]. 2022; 4(6). [Acceso 18 de octubre del 2024]. Disponible en: <10.24018/ejfood.2022.4.6.574>
- 41 Bermúdez D, Boffill M, Betancourt E, Escobar R, Igualada I, Alonso B. Evaluación preclínica de la actividad hepatoprotectora de *Ocimum basilicum* L. y *Allium sativum* L. *Medisur*. [Online]. 2014;12(1): 51-62. [Acceso 15 de agosto de 2021]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2014000100007&lng=es.
- 42 Sánchez C, Sotomayor G. Efecto Hepatoprotector del Zumo de Fruta de la *Opuntia Ficus Indica* (Tuna), variedad morada, en Ratas con Intoxicación Hepática Inducida por Paracetamol. [Tesis para optar el título de Licenciado en Nutricion]. Lima- Perú:

- Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina: E.A.P de Nutricion; 2015. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/4192>
- 43 Hañari R, Arroyo J, Herrera O, Herrera H. Efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado delmaíz morado (*Zea mays* L.) en lesiones hepáticas inducidas en ratas. *An Fac med.* [Online]. 2015;6(2):123-8. [Acceso 10 de julio de 2021]. Disponible en: doi.org/10.15381/anales.v76i2.11136.
- 44 Selema M, Martínez J. Efecto hepatoprotector inducido por el flavonoide frente a un modelo animal tratado con tetracloruro de carbono. *Rev Cubana Plant Med.* [Online]. 1999;4(1):36-39. [Acceso 10 de julio de 2022]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847961999000100010&lng=es.
- 45 drug.com. Paracetamol, [Online]. 2021. [Acceso 20 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://www.drugs.com/search.php?searchterm=Paracetamol&a=1>.
- 46 Freeman B, Crapo J. Free radical and tissue injury. *Lab invest.* 1982; 47.
- 47 Real Academia Nacional de Medicina. Antioxidantes. [Online]. Diccionario de terminos medicos version impresa. [Acceso 15 de enero de 2023]. Disponible en: <https://www.medicapanamericana.com/es/libro/diccionario-de-terminos-medicos-version-impresa>
- 48 Bernal C. Metodologia de la investigacion. [Online]. tercera edicion Colombia; 2010. [Acceso 15 de enero de 2023]. Disponible en: <https://docplayer.es/31316487-Tomado->

[bernal-cesar-a-2010-metodologia-de-la-investigacion-tercera-edicion-pearson-educacion-colombia.html](http://www.pearson.com/colombia/educacion/2010-metodologia-de-la-investigacion-tercera-edicion-pearson-educacion-colombia.html)

- 49 Mirón J, Alonso M, Iglesias H. Metodología de investigación en Salud Laboral. Med. segur. Trab [Online]. 2010. [Acceso 15 de enero de 2023]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0465-546X2010000400009&lng=es.
- 50 Hernandez R, Fernandez P. Metodologia de la investigacion. [Online]. Quinta edicion. Mexio. Editorrial Mcgraw-Hill / Interamericana Editores, S.A. De C.V 2023. [Acceso 23 de enero de 2023].
- 51 Funtelsaz Calculo del tamaño de la muestra. Matronas profesion. 2004; 5(18).
- 52 Acostupa F. Efecto gastroprotector y anti secretorio del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* (L.), (paico) en ratas con inducción de lesiones gástricas por indometacina y ligado pilórico. [Tesis para obtener el Grado Académico de Magíster Farmacología]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2020. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/15843>
- 53 Equipo editorial etc. Enciclopedia de Humanidades. Investigación Documental. [Online]. Primera edicion. Argentina. En editorial E. Enciclopedia Humanidades. Argentina; 2023. [Acceso 15 de enero de 2023]. Disponible en: <https://humanidades.com/investigacion-documental/>

- 54 Vargas J, Vera G, & Suppé N. Caracterización físico-química, microscópica de barrido y dispersión de rayos x del mucílago de cladodios de *Opuntia ficus indica* en la región alta de Tacna. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. [Online]. 2019. [Acceso 15 de enero de 2023]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2019000300003&lng=es&tlng=es.
- 55 Brenes F. Histología de la biopsia hepática, enfoque para el clínico. [Online]. 2008. [Acceso 15 de enero de 2023]. Disponible en: [ISSN 0001-6002/2008/50/Sup.Gastro/20-21](https://doi.org/10.1007/978-98-96-31000-0_21).
- 56 [Romero W, Batista Z, De Lucca M, Ruano A, García M, Rivera Marta et al. El 1, 2, 3 de la experimentación con animales de laboratorio. Rev. perú. med. exp. salud pública. \[Online\]. 2016. \[Acceso 16 de enero de 2023\]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2016.332.2169>.](#)
- 57 Tomasi V. Métodos histológicos. Aspectos teórico- prácticos. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias médicas. 1999. Disponible en: <https://fcm.unc.edu.ar/wp-content/uploads/2018/07/METODOS-HISTOLOGICOS-Aspectos-Te%C3%B3ricos-Pr%C3%A1cticos-TI.-Hugo>.
- 58 Instituto Nacional de Salud (INS). recomendaciones para el uso de animales de investigación del INS. [Online]. 2023. [Acceso 31 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/es/comites-del-ins/comite-institucional-de-etica-para-uso-de-animales-en-investigacion>

- 59 Lugo L. I curso internacional "Conceptos basicos sobre la investigacion y bienestae sde los animales". En: Etica en el Uso de Animales de experimentacion EEUU; 2014.
- 60 Agunloye O, Onifade A. Annona M. Comparative assessment of the antibacterial activities of the leaf and stem extracts against multiple antibiotic resistant clinical isolates. *Journal ofAdvances in Microbiology*. [Online]. 2020; 20(5),12-21. [Acceso 5 de diciembre de 2023].
- 61 García Y, Salomón I., Acosta E, Romero D, López M, Mercado V. Optimization of variables for extraction of flavonoids from *Annona muricata* L. leaves. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. [Online].2016; 21(3), 298-308. [Acceso 5 de diciembre de 2023].
- 62 Tovar J, Grande J. Pruebas de solubilidad. Colombia: Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Escuela de Química.
- 63 Castro I, De la O-Arciniega M, Gallegos J, Naranjo E, Domínguez M. *Raphanus sativus* L. var niger como fuente de fitoquímicos para la prevención de cálculos biliares de colesterol. [Online].2013; 28(2):167-171. [Acceso 2 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ptr.4964>
- 64 Lee S, Yang K, Kim J, et al. Effects of White Radish (*Raphanus sativus*) Enzyme Extract on Hepatotoxicity. *Toxicol Res*. [Online]. 2012;28(3):165-172. [Acceso 15 de noviembre de 2023]. Disponible en: [doi:10.5487/TR.2012.28.3.165](https://doi.org/10.5487/TR.2012.28.3.165).
- 65 Gao L, Li H, Li B, Shao H, Yu X, Miao Z, Zhang L. Traditional uses, phytochemistry, transformation of ingredients and pharmacology of the dried seeds of *Raphanus sativus*

- L. (Raphani Semen), A comprehensive review. *Journal of Ethnopharmacology*. [Online]; 2022;294:0378-8741. [Acceso diciembre de 01 de 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115387>.
- 66 Takaya Y, Kondo Y, Furukawa T, Niwa M. Antioxidant constituents of radish sprout (Kaiware-daikon), *Raphanus sativus* L. *J Agric Food Chem*. [Online]. 2003;51(27):8061-8066. [Acceso 8 de Diciembre de 2023]. Disponible en: [doi:10.1021/jf0346206](https://doi.org/10.1021/jf0346206).
- 67 Parikh H, Pandita N, Khanna A. Phytoextract of Indian mustard seeds acts by suppressing the generation of ROS against acetaminophen-induced hepatotoxicity in HepG2 cells. *Pharm Biol*. [Online]. 2015;53(7):975-984. [Acceso 8 de diciembre del 2023]. Disponible en: [doi:10.3109/13880209.2014.950675](https://doi.org/10.3109/13880209.2014.950675).
- 68 Ahn M, Kim J, Hong S, et al. Black Radish (*Raphanus sativus* L. var. niger) Extract Mediates Its Hepatoprotective Effect on Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Injury by Attenuating Oxidative Stress. *J Med Food*. [Online]. 2018;21(9):866-875. [Acceso 8 de diciembre del 2023]. Disponible en: [doi:10.1089/jmf.2017.4102](https://doi.org/10.1089/jmf.2017.4102).
- 69 David S, Hamilton J. Drug-induced Liver Injury. *US gastroenterology & hepatology review*. [Online]. 2010; 6, 73–80. [Acceso 25 de noviembre de 2023].
- 70 Santa K, HuamánM O. Efecto de la harina de camu camu sobre el daño hepático inducido por acetaminofén en ratones. *An. Fac. med*. [Online] 2021; 82(2): 140-145. [Acceso 02 de diciembre de 2023]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v82i2.18411>.

- 71 Slattery J, Nelson S, Thummel K. The complex interaction between ethanol and acetaminophen. *Clinical pharmacology and therapeutics*. [Online]. 1986;60(3), 241–246. [Acceso 8 de diciembre de 2023]. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0009-9236\(96\)90050-8](https://doi.org/10.1016/S0009-9236(96)90050-8).
- 72 Zubkova E, Robaire B. Effect of glutathione depletion on antioxidant enzymes in the epididymis, seminal vesicles, and liver and on spermatozoa motility in the aging brown Norway rat. *Biol Reprod*. [Online].2004;71(3):1002-1008. [Acceso 8 de diciembre de 2023]. Disponible en: [doi:10.1095/biolreprod.104.028373](https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.028373).
- 73 McGill MR, Jaeschke H. Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. *Pharm Res*. [Online]. 2013;30(9):2174-2187. [Acceso 8 de diciembre de 2023]. Disponible en: [doi:10.1007/s11095-013-1007-6](https://doi.org/10.1007/s11095-013-1007-6).
- 74 Yoon E, Babar A, Choudhary M, Kutner M, Pysopoulos N. acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update. *J Clin Transl Hepatol*. [Online].; 2016;4(2):131-142. [Acceso 8 de diciembre de 2023]. Disponible en: [doi:10.14218/JCTH.2015.00052](https://doi.org/10.14218/JCTH.2015.00052).
- 75 Younus, I., Siddiq, A., Baig, S. G., Khan, S. S., Ahmed, S., & Osama, M. Evaluation of pharmacological and toxic effects of ethanolic extract of radish pods in albino rabbits: A biochemical and histopathological study. *Pak J Pharm Sci*. [Online]; 2019;32(3): 1275–1279. [Acceso 15 de noviembre de 2023].

- 76 Gibson J, Pumford N, Samokyszyn V, Hinson J. Mechanism of acetaminophen-induced hepatotoxicity: covalent binding versus oxidative stress. Department of Pharmacology and Toxicology, University of Arkansas for Medical Sciences. USA. *Chem Res Toxicol*.

ANEXO 1: Matriz de consistencia.

| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | OBJETIVOS | HIPÓTESIS | JUSTIFICACIÓN | VARIABLE | METODOLOGÍA |
|--|---|--|---|--|---|
| <p>¿El extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito” tendrá efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol?</p> | <p>Objetivo General</p> <p>Determinar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito” sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas Holtzman.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Realizar la prueba de solubilidad del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito” 2. Verificar las pruebas de solubilidad del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito” 3. Identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito” 4. Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus Sativus</i> L. “rabanito” a dosis de 100 mg/kg inducido por paracetamol en ratas Holtzman. 5. Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus Sativus</i> L. “rabanito” a dosis de 200 mg/kg inducido por paracetamol en ratas Holtzman. 6. Evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus Sativus</i> L. “rabanito” a dosis de 400 mg/kg inducido por paracetamol en ratas Holtzman. | <p>Hipótesis de investigación (H₁): El extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus Sativus</i> L. “rabanito” tiene efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol.</p> <p>Hipótesis nula (H₀): El extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus Sativus</i> L. “rabanito” no tiene efecto hepatoprotector en ratas Holtzman con daño hepático inducido por paracetamol.</p> | <p>El paracetamol (acetaminofén) es un medicamento de venta libre, que a dosis elevada produce daño hepático (10).</p> <p>Las enfermedades hepáticas son responsables de altas tasas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (21).</p> <p>La protección hepática de <i>Raphanus sativus</i> L se debe a la actividad antioxidante de los metabolitos secundarios (polifenoles: ácido sináptico y ácido ferúlico y flavonoides: kaempferol) (65).</p> | <p>Variables independientes</p> <p>Extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito”</p> <p>Variable dependiente</p> <p>Efecto hepatoprotector</p> | <p>Tipo de investigación: Comparativo, Cuantitativo, experimental y transversal.</p> <p>Población: 48 ratas Holtzman (machos de 250+/-50g de peso corporal)</p> <p>Muestra: Extracto etanólico del tegumento <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito”</p> <p>Recolección: Se colecto el tubérculo <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito” en el distrito de Puente Piedra localizado en el departamento de Lima.</p> <p>Preparación del extracto etanólico de <i>Raphanus sativa</i> L. “rabanito”: El tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. se sometió a maceración etanólica al 70% por 7 días.</p> <p>Se sometieron a pruebas de: Solubilidad, reacción colorimétrica y de precipitación que permitieron la identificar de metabolitos secundarios: presentes en el del extracto etanólico de tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L. “rabanito”:</p> <p>Diseño experimental: Inducción de hepatotoxicidad por paracetamol propuesta por Gibson y col.1996. (76), con modificaciones propuestos por Huamán y Sánchez A, Sotomayor G, 2019.</p> <p>Estudios histopatológicos: Se secciono aproximadamente 3g del lóbulo mayor, el cual fue conservado en solución de formol 10% en NaCl 0,9%, para el estudio histopatológico por tinción de hematoxilina-eosina.</p> <p>Análisis Estadístico: Se determino la significancia estadística a través de un ANOVA obteniendo un $p < 0.05$.</p> <p>Consideraciones éticas: Se siguió las recomendaciones del INS para el tratamiento de animales de experimentación.</p> |

ANEXO 2: Instrumentos**Instrumento de Identificación de las Pruebas de solubilidad del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L.**

| Solventes | Solubilidad |
|------------------|--------------------|
| Agua Destilada | |
| Metanol | |
| Etanol | |
| Acetona | |
| Butanol | |
| Ácido acético | |
| Cloroformo | |
| Éter etílico | |
| Benceno | |
| n - hexano | |
| Éter de petróleo | |

Leyenda: Soluble (+); Insoluble (-)

**Instrumento de Identificación de metabolitos del extracto etanólico del tegumento de
Raphanus sativus L.**

| Reacciones de caracterización | Metabolitos | Resultados |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| AlCl ₃ 1% | Flavonoides | |
| FeCl ₃ 1% | Compuestos fenólicos | |
| Shinoda | Flavonoides | |
| Prueba de gelatina/ NaOH | Taninos | |
| Dragendorff | Alcaloides | |
| Mayer | Alcaloides | |
| Popoff | Alcaloides | |
| Sonnenschein | Alcaloides | |
| wagner | Alcaloides | |
| Liebermann- Burchard | Esteroides y/o triterpenos | |
| Salkowski | Esteroides | |

Legenda: Presencia (P), Ausencia (A)

Instrumento de determinación del Efecto Hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L.

| EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL TEGUMENTO DE <i>Raphanus sativus</i> L. | | | | | | |
|---|--|--------------------------|--------------------------|---|----|--------------------------|
| Responsables: | | | | Fecha: | | |
| Peso: 200-300 g Dosis: Según grupo experimental y peso de rata Periodo de tratamiento: 10 días de tratamiento, 400mg/kg de paracetamol al 6to día hasta el día 10 | | | | Vía de administración: Oral C/24h | | |
| Grupos: 06 grupos experimentales | | | | Identificación de la rata: A1, A2, A3....F6, F7 Y F8 | | |
| Grupo | | Grado de Lesión hepática | | | | |
| | | | Según Lesión histológica | Según la Extensión | | Según Lesión histológica |
| GB | Control blanco, (suero fisiológico) | A1 | | | A5 | |
| | | A2 | | | A6 | |
| | | A3 | | | A7 | |
| | | A4 | | | A8 | |
| GCN | Control Negativo, (paracetamol 400mg/kg) | B1 | | | B5 | |
| | | B2 | | | B6 | |
| | | B3 | | | B7 | |
| | | B4 | | | B8 | |
| GCP | Control Positivo, (silimarina 150mg/kg) | C1 | | | C5 | |
| | | C2 | | | C6 | |
| | | C3 | | | C7 | |
| | | C4 | | | C8 | |
| GE1 | G. Experimental 1, (100mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L + paracetamol 400mg/kg) | D1 | | | D5 | |
| | | D2 | | | D6 | |
| | | D3 | | | D7 | |
| | | D4 | | | D8 | |
| GE2 | G. Experimental 2, (200mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L + paracetamol 400mg/kg) | E1 | | | E5 | |
| | | E2 | | | E6 | |
| | | E3 | | | E7 | |
| | | E4 | | | E8 | |
| GE6 | G. Experimental 3, (400mg/kg del extracto etanólico del tegumento de <i>Raphanus sativus</i> L + paracetamol 400mg/kg) | F1 | | | F5 | |
| | | F2 | | | F6 | |
| | | F3 | | | F7 | |
| | | F4 | | | F8 | |

Leyenda donde: según el tipo de lesión (normal: 0, degeneración leve: 1; degeneración moderada: 2; Necrosis: 3); y según la extensión de la lesión (ninguna: 0; Focal: 1, Difusa: 2).

Anexo 3: Validez del Instrumento

FORMATO DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

1. Apellidos y nombre del experto: **CONDORHUAMÁN FIGUEROA YOVANI MARTIN**
2. Cargo e institución donde labora: **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
3. Nombre del instrumento motivo de evaluación: **Instrumento de recolección de información**
4. Autor (es) del Instrumento: **Carlos Mario Aliaga Pastor y Cinthia Pierina Gutiérrez Cachique**

| Calificación | | | |
|--------------|---|---|----|
| MD | D | A | MA |
| 1 | 2 | 3 | 4 |

II. ASPECTOS DE LA VALIDACION

| ITEM | PERTINENCIA | | | | RELEVANCIA | | | | CLARIDAD | | | | SUGERENCIA |
|---------------------------------|-------------|---|---|----|------------|---|---|----|----------|---|---|----|------------|
| | M | D | A | MA | M | D | A | MA | MD | D | A | MA | |
| DIMENSION 1 | | | | | | | | | | | | | |
| Pruebas de solubilidad | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |
| DIMENSION 2 | | | | | | | | | | | | | |
| Metabolitos | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |
| DIMENSION 3 | | | | | | | | | | | | | |
| Grados de lesión hepática | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |
| Extensión de la lesión hepática | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |

Donde:
MD: Muy desacuerdo
D: En desacuerdo
A: de acuerdo
MA: Muy de acuerdo

Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado
Relevancia: EL ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo
Claridad: se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem es conciso, exacto y directo.



Mg. Condorhuamán Figueroa Yovani
 Martín C.Q.F.P N° 07591

Fecha: 15/08/22

FORMATO DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO

III. DATOS GENERALES

5. Apellidos y nombre del experto: **JORGE ARROYO ACEVEDO**
6. Cargo e institución donde labora: **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
7. Nombre del instrumento motivo de evaluación: **Instrumento de recolección de información.**
8. Autor (es) del Instrumento: **Carlos Mario Aliaga Pastor y Cinthia Pierina Gutiérrez Cachique**

| Calificación | | | |
|--------------|---|---|----|
| MD | D | A | MA |
| 1 | 2 | 3 | 4 |

IV. ASPECTOS DE LA VALIDACION

| ITEM | PERTINENCIA | | | | RELEVANCIA | | | | CLARIDAD | | | | SUGERENCIA |
|---------------------------------|-------------|---|---|----|------------|---|---|----|----------|---|---|----|------------|
| | M | D | A | MA | M | D | A | MA | MD | D | A | MA | |
| DIMENSION 1 | | | | | | | | | | | | | |
| Pruebas de solubilidad | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |
| DIMENSION 2 | | | | | | | | | | | | | |
| Metabolitos | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |
| DIMENSION 3 | | | | | | | | | | | | | |
| Grados de lesión hepática | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |
| Extensión de la lesión hepática | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |

Donde:
MD: Muy desacuerdo
D: En desacuerdo
A: de acuerdo
MA: Muy de acuerdo

Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado
Relevancia: EL ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo
Claridad: se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem es conciso, exacto y directo.

Mg. Jorge Luis Arroyo Acevedo
C.Q.F.P N° 03689

Fecha: 21/08/22

FORMATO DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

V. DATOS GENERALES

9. Apellidos y nombre del experto: **CONDORI HUANCACURI LURDES BERTHA**
 10. Cargo e institución donde labora: **UNIVERSIDAD NORBERT WIENER**
 11. Nombre del instrumento motivo de evaluación: **Instrumento de recolección de información.**
 12. Autor (es) del Instrumento: **Carlos Mario Aliaga Pastor y Cinthia Pierina Gutiérrez Cachique.**

| Calificación | | | |
|--------------|---|---|----|
| MD | D | A | MA |
| 1 | 2 | 3 | 4 |

VI. ASPECTOS DE LA VALIDACIÓN

| ITEM | PERTINENCIA | | | | RELEVANCIA | | | | CLARIDAD | | | | SUGERENCIA |
|---------------------------------|-------------|---|---|----|------------|---|---|----|----------|---|---|----|------------|
| | M | D | A | MA | M | D | A | MA | MD | D | A | MA | |
| DIMENSION 1 | | | | | | | | | | | | | |
| Pruebas de solubilidad | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |
| DIMENSION 2 | | | | | | | | | | | | | |
| Metabolitos | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |
| DIMENSION 3 | | | | | | | | | | | | | |
| Grados de lesión hepática | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |
| Extensión de la lesión hepática | | | | 4 | | | | 4 | | | | 4 | |

Donde:
MD: Muy desacuerdo
D: En desacuerdo
A: de acuerdo
MA: Muy de acuerdo

Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado
Relevancia: EL ítem es apropiado para representar al componente o dimensión específica del constructo
Claridad: se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem es conciso, exacto y directo.



 Mg. Lurdes Bertha Condori Huancacuri
 C.Q.F.P. N° 10833

.....
Dra. Condori Huancacuri Lurdes
Fecha: 25/08/22

Anexo 4: Confiabilidad del instrumento

Confiabilidad del instrumento para determinación del efecto hepatoprotector del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. utilizando el coeficiente de Cronbach.

| Estadísticos de confiabilidad | | | | |
|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------------|---|
| Ítem Evaluado | Media del Ítem | Varianza del Ítem | Correlación Ítem-Total | Alfa de Cronbach si se elimina el Ítem |
| Grado de lesión hepática | 1.60 | 1.54 | 0.841 | 0.824 |
| Extensión de lesión hepática | 1.10 | 0.57 | 0.841 | 0.824 |
| Consistencia total (Global) | | | | 0.920 |

Coeficiente de α Cronbach cercano a 1: Indica una alta consistencia interna, lo que significa que los ítems están bien relacionados entre sí y miden el mismo constructo.

Anexo 5: Aprobación del comité de ética



COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA PARA LA INVESTIGACIÓN

CONSTANCIA DE APROBACIÓN

Lima, 06 de setiembre de 2023

Investigador(a)
Carlos Mario Aliaga Pastor
Cinthia Pierina Gutiérrez Cachique
Exp. N°: 0918-2023

De mi consideración:

Es grato expresarle mi cordial saludo y a la vez informarle que el Comité Institucional de Ética para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener (CIEI-UPNW) evaluó y **APROBÓ** los siguientes documentos:

- Protocolo titulado: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL TEGUMENTO DE Raphanus sativus L. “RABANITO” SOBRE LA HEPATOTOXICIDAD INDUCIDA POR PARACETAMOL EN RATAS HOLTZMAN” Versión 02 con fecha 05/09/2023.**

El cual tiene como investigador principal al Sr(a) Carlos Mario Aliaga Pastor y Cinthia Pierina Gutiérrez Cachique y a los investigadores colaboradores (no aplica)

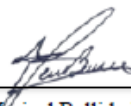
La **APROBACIÓN** comprende el cumplimiento de las buenas prácticas éticas, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo de investigación y la confidencialidad de los datos, entre otros.

El investigador deberá considerar los siguientes puntos detallados a continuación:

1. La vigencia de la aprobación es de dos años (24 meses) a partir de la emisión de este documento.
2. El Informe de Avances se presentará cada 6 meses, y el informe final una vez concluido el estudio.
3. Toda enmienda o adenda se deberá presentar al CIEI-UPNW y no podrá implementarse sin la debida aprobación.
4. Si aplica, la Renovación de aprobación del proyecto de investigación deberá iniciarse treinta (30) días antes de la fecha de vencimiento, con su respectivo informe de avance.

Es cuanto informo a usted para su conocimiento y fines pertinentes.

Atentamente,


 Yenny Marisol Bellido Fuente
 Presidenta del CIEI-UPNW



Anexo 6: Programa de intervención (para estudios experimentales)

| Cronograma de actividades | | | | | | | | | |
|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Actividades 2023 - 2024 | Jul 2023 | Ago 2023 | Set 2023 | Oct 2023 | Nov 2023 | Dic 2023 | Ene 2024 | Set 2024 | Oct 2024 |
| Revisión y búsqueda bibliográfica | X | X | | | | | | | |
| Presentación del proyecto de investigación al comité de ética de la Universidad Norbert Wiener | | X | | | | | | | |
| Aprobación del proyecto de investigación | | | X | | | | | | |
| Colecta del tubérculo <i>Raphanus sativus</i> L de la muestra | | | X | | | | | | |
| Preparación del extracto etanólico | | | X | | | | | | |
| Pruebas de solubilidad y análisis cualitativo preliminar del extracto etanólico. | | | X | | | | | | |
| Adquisición y aclimatación de los modelos biológicos (ratas Holtzman) | | | X | | | | | | |
| Ejecución del diseño experimental hepatoprotector. | | | | X | | | | | |
| Estudios histopatológicos | | | | | X | | | | |
| Procesamiento estadístico | | | | | X | | | | |
| Redacción del informe final de tesis | | | | | X | X | X | | |
| Presentación del informe final de la tesis ante el jurado evaluador. | | | | | | | | X | |
| Aprobación del informe final de tesis | | | | | | | | | X |
| Sustentación de tesis | | | | | | | | | X |

Anexo 7: Reporte de similitud de Turnitin

Similarity Report

| | |
|---|----------------------|
| PAPER NAME | AUTHOR |
| EFEECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTR ACTO ETANÓLICO DEL TEGUMENTO DE Raphanus sativus L. RABANITOS 31.09.2 | Carlos Aliaga |

| | |
|--------------------|-------------------------|
| WORD COUNT | CHARACTER COUNT |
| 15028 Words | 89180 Characters |

| | |
|-----------------|---------------|
| PAGE COUNT | FILE SIZE |
| 95 Pages | 12.2MB |

| | |
|----------------------------------|----------------------------------|
| SUBMISSION DATE | REPORT DATE |
| Oct 1, 2024 2:20 PM GMT-5 | Oct 1, 2024 2:21 PM GMT-5 |

● 17% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

- 15% Internet database
- 3% Publications database
- Crossref database
- Crossref Posted Content database
- 10% Submitted Works database

● Excluded from Similarity Report

- Bibliographic material
- Quoted material
- Cited material
- Small Matches (Less than 10 words)

Anexo 8: Protocolo de Seguridad y Bioseguridad de Laboratorio.

Protocolos de Bioseguridad

Elementos de protección personal (EPP) para uso en el laboratorio

Los profesores y los asistentes de gestión de los laboratorios deben utilizar los siguientes equipos de protección personal (EPP):

- Bata blanca limpia de material antilíquido, de manga larga, que cubra al menos hasta las rodillas y esté completamente ajustada.
- Guantes de nitrilo, mascarilla, gafas de seguridad y careta.

Por su parte, los estudiantes deben llevar los siguientes EPP:

- Bata blanca limpia de material antilíquido, de manga larga, que cubra al menos hasta las rodillas y esté completamente ajustada.
- Guantes de nitrilo, mascarilla y gafas de seguridad, siendo recomendable el uso de careta.

Normas de Bioseguridad

- Antes de entrar al laboratorio, es indispensable lavarse las manos con agua y jabón, seguido de una desinfección con gel antibacterial. Se debe respetar el aforo máximo permitido para mantener el distanciamiento social.
- Cada estudiante debe traer sus propios útiles, como esfero y libreta de apuntes, sin compartir estos elementos. Las puertas deben mantenerse abiertas para evitar el contacto frecuente.

- Para ingresar al laboratorio, se recomienda vestir ropa que cubra brazos y piernas, usar zapatos cerrados y sin tacones altos, y en caso de tener el cabello largo, llevarlo recogido.
- Es importante conocer la ubicación de la ducha de seguridad, el extintor, los recipientes de desecho, y la bolsa roja para residuos biológicos. Además, los estudiantes deben haber preparado previamente su trabajo.
- Se debe usar con moderación los reactivos e insumos del laboratorio y mantener orden y limpieza en el área de trabajo. Seguir las instrucciones del profesor en todo momento y devolver los reactivos a su lugar, evitando cruzar pipetas para no contaminar los reactivos.
- Está prohibido pipetear con la boca, debiendo usarse peras de succión. No se deben inhalar, aspirar ni probar sustancias químicas, y las sustancias inflamables deben mantenerse alejadas de fuentes de calor. Para proteger el mesón durante trabajos con colorantes o material corrosivo, utilizar papel craft y limpiar los materiales en el mismo lavabo.
- Verificar el correcto funcionamiento de los equipos antes de usarlos y, al finalizar, desconectarlos y entregarlos limpios. Durante las prácticas, el profesor y los asistentes supervisarán el uso adecuado del equipo y el cumplimiento de las normas de bioseguridad.
- En caso de accidente, notificar de inmediato al profesor o asistente, evitando conductas riesgosas. Desechar los residuos en los colectores apropiados. Los residuos biológicos deben ir en la bolsa roja y los objetos corto punzantes en el guardián, siguiendo la ruta sanitaria establecida por la universidad.

Al concluir el trabajo:

- Asegurarse de cerrar adecuadamente los frascos que contienen reactivos.
- Entregar todo el material de forma completa y limpio.
- Limpiar el área de trabajo y organizar las sillas.
- Desechar todos los elementos de protección personal desechables en el contenedor con bolsa roja.
- Quitarse la bata al salir del laboratorio.
- Lavarse las manos con agua y jabón, y desinfectarlas con gel antibacterial.

Fuente: Protocolo de seguridad y bioseguridad de laboratorios en la facultad de medicina humana USMP, 2019. Apartado 7. Disponible en: <https://medicina.usmp.edu.pe/wp-content/uploads/protocolos/Bioseguridad-2019.pdf>.

Anexo 9: Identificación botánica de la planta

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. 3796
 Cel: 963689079
 Email: jocamde@gmail.com



CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO. CBP 3796 – INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES DE IDENTIFICACION TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA – RESOLUCIÓN DIRECTORAL N.º 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, **ALIAGA PASTOR, Carlos Mario** y **GUTIÉRREZ CACHIQUE, Cinthia Pierina**, tesis-tas de la Universidad Norbert Wiener, Facultad de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de la planta de “**rabanito**”, la muestra ha sido estudiada e identificada como ***Raphanus sativus* L.** Según la base de datos de W³Tropicos del Missouri Botanical Garden que sigue el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009), actualizado por APG IV (2016), el sistema APG evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. Chase & Reveal en APG III (2009) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de W³Tropicos y el Sistema APG, para la especie identificada se adapta las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae
 División: Angiospermae
 Clase: Equisetopsida
 Subclase: Magnoliidae
 Superorden: Rosanae
 Orden: Brassicales
 Familia: Brassicaceae
 Género: *Raphanus*
 Especie: *Raphanus sativus* L.

Nombre vulgar: “Rabanito”

Se expide la presente certificación botánica para fines de investigación científica.

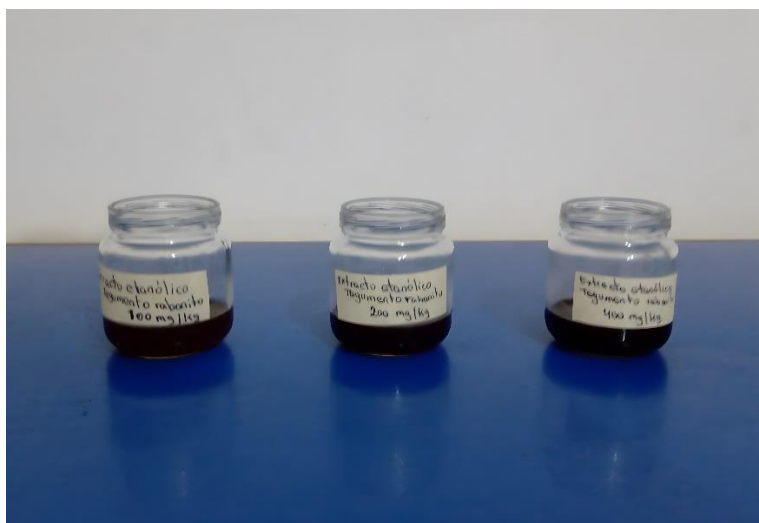
Lima, 15 de setiembre del 2023



Anexo 10: Tegumento de *Raphanus sativus* L.



Anexo 11: Extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L.



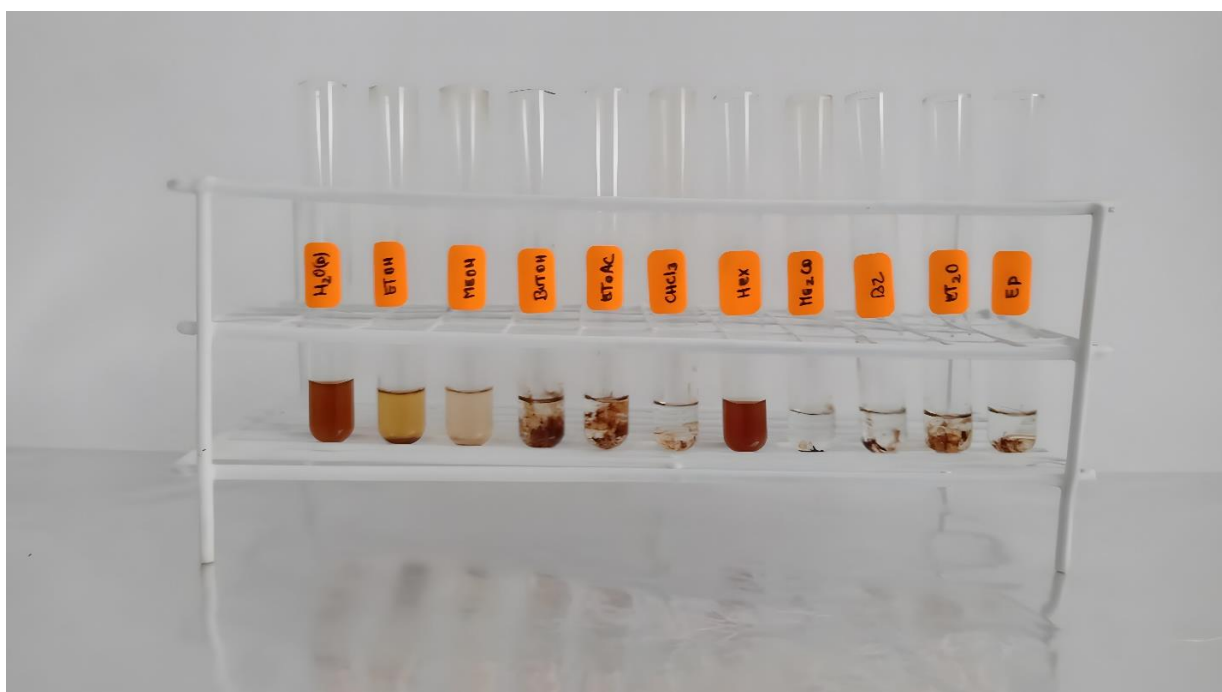
Anexo 12: Ratas Holtzman aclimatándose previo a los días de experimentación.



Anexo 13: Ratas Holtzman sacrificadas por sobredosis de pentobarbital 40 mg/kg por vía intraperitoneal.



Anexo 14: Pruebas de solubilidad del extracto etanólico del tegumento de *Raphanus sativus* L. “rabanito”



Anexo 15: Análisis cualitativo preliminar del extracto etanólico del tegumento *Raphanus sativus* L. “rabanito”.



● 17% Overall Similarity

Top sources found in the following databases:

- 16% Internet database
- 4% Publications database
- Crossref database
- Crossref Posted Content database
- 11% Submitted Works database

TOP SOURCES

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

| | | |
|---|---|-----|
| 1 | repositorio.uwiener.edu.pe Internet | 2% |
| 2 | core.ac.uk Internet | 1% |
| 3 | repositorio.uma.edu.pe Internet | 1% |
| 4 | repositorio.usanpedro.edu.pe Internet | <1% |
| 5 | cybertesis.unmsm.edu.pe Internet | <1% |
| 6 | ciget.pinar.cu Internet | <1% |
| 7 | coursehero.com Internet | <1% |
| 8 | repositorio.uigv.edu.pe Internet | <1% |