

**UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO “FRANKLIN  
ROOSEVELT”**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y  
BIOQUÍMICA**



**TESIS**

**“EFECTO DISLIPIDEMICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO  
DE LAS HOJAS DE *Allium ampeloprasum* (PORO) EN RATAS  
INDUCIDAS A HIPERCOLESTEROLEMIA”**

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

**AUTORES**

**Bach. GALARZA PALACIOS Danitza Marilu**

**Bach. MENDOZA CHAHUIN Jessica Liz**

**ASESOR**

**Mg. Q.F. Julio Díaz Uribe**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Recursos Naturales**

**Huancayo – Perú**

**2021**

**JURADOS**

**PRESIDENTE:**

**Mg. ROJAS AIRE, Carlos Max**

**MIEMBRO SECRETARIO:**

**Dr. TAPIA MANRIQUE, Edgar Robert**

**MIEMBRO VOCAL:**

**Mg. DIAZ URIBE, Julio Luis**

**MIEMBRO SUPLENTE:**

**Mg. COLLADO PACHECO, Amadeo**

## **DEDICATORIA**

A Dios por darnos vida, salud y sabiduría para lograr nuestros objetivos.

A nuestros padres por brindarnos siempre su confianza comprensión y apoyo incondicional para lograr nuestras metas.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por permitirnos lograr nuestras metas.

A nuestros docentes y asesores de la escuela profesional de Ciencias Farmacéuticas y bioquímica quienes con sus conocimientos contribuyeron a nuestra formación profesional, a nuestro asesor por el apoyo brindado para el desarrollo y termino de la tesis.

A nuestros seres queridos, compañeros y amigos por estar ahí en cada etapa de nuestras vidas, compartiendo: conocimientos, alegrías y tristezas.

## DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

### DECLARACIÓN JURADA SIMPLE

Yo, MENDOZA CHAHUIN Jessica Liz , de Nacionalidad Peruana, identificado con, DNI N° 43526646, Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado en Asoc. Los Alisos del Mantaro Mz. B Lt. 04 Carapongo, Distrito de Lurigancho. DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratifiqué en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los.....Días del mes de..... del 2021.



MENDOZA CHAHUIN Jessica Liz  
FIRMA



HUELLA DIGITAL

## DECLARACIÓN JURADA SIMPLE

Yo, GALARZA PALACIOS Danitza Marilu de Nacionalidad Peruana, identificado con, DNI N° 45059436, Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado en Av. Oscar Benavides 3881 Bellavista - Callao, DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratifiqué en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los..... días del mes de..... del 2021.



GALARZA PALACIOS Danitza Marilu

FIRMA



HUELLA DIGITAL

## ÍNDICE

Dedicatoria	
Agradecimiento	
Declaratoria de autenticidad	
Índice	
Resumen	
Abstract	
CAPITULO I: INTRODUCCIÓN.....	10
CAPITULO II: MÉTODO	
2.1 Tipo y diseño de investigación.....	23
2.1.1 Según el nivel de conocimiento científico.....	23
2.1.2 Según su ubicación Temporal.....	23
2.1.3 Según Planificación toma de datos.....	23
2.2 Operacionalizacion de variables.....	24
2.3 Población y muestra.....	24
2.3.1 Población.....	24
2.3.2 Muestra.....	25
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	25
2.5 Método de análisis de datos.....	26
2.6 Equipos, materiales y reactivos.....	26
2.7 Procedimiento experimental.....	28
2.7.1 Secado de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> (poro).....	28
2.7.2 Extracción de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> (poro).....	28
2.7.3 Concentración de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> (poro) en el rotavapor y extracto seco.....	28
2.7.4 Tamizaje fotoquímico.....	29
2.7.5 Prueba de cromatografía en capa fina (CCF).....	31
2.7.6 Actividad toxicológica y farmacológica.....	32
2.8 Dosificación y tratamiento.....	33

2.9. Análisis estadístico.....	37
<b>CAPITULO III. RESULTADOS</b>	
3.1. Presentación de resultados.....	40
3.1.1 Screening fitoquímico (tamizaje fitoquimico).....	40
3.1.2 Toxicidad aguda oral.....	41
3.1.3 Actividad hipocolesterolemica.....	42
<b>CAPITULO IV. DISCUSIÓN.....</b>	<b>44</b>
<b>CAPITULO V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>46</b>
<b>CAPITULO VI RECOMENDACIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXOS</b>	
<b>ANEXO 1 MATRIZ DE CONSISTENCIA</b>	
<b>ANEXO 2 FICHA TECNICA DEL REACTIVO</b>	
<b>ANEXO 3 CERTIFICADO SANITARIO</b>	
<b>ANEXO 4 CONSTANCIA DE CONTROL DE CALIDAD</b>	
<b>ANEXO 5 RESULTADO DE ANÁLISIS SCREENING FITOQUÍMICO</b>	
<b>ANEXO 6 CERTIFICACIÓN BOTÁNICA</b>	
<b>ANEXO 7 TESTIMONIO FOTOGRAFICOS</b>	



## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue demostrar el efecto dislipidémico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* “Poro” en ratas inducidas a hipercolesterolemia. El tipo de estudio fue experimental, prospectivo longitudinal. Para dar inicio a los estudios experimentales se evaluó la toxicidad aguda mediante DL50 de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* “Poro”. La preparación del extracto se realizó mediante el método de Maceración Hidroalcohólica, se determinaron los metabolitos secundarios mediante la Marcha Fitoquímica y el efecto dislipidémico se midió mediante el método enzimático de Espectrofotometría UV. El tratamiento duró 28 días iniciando con la inducción con Colesterol reactivo a la dosis de 60 mg/kg peso corporal por cinco días en 5 de los 6 grupos experimentales conformado por 5 ratas albinas machos de la cepa Holtzman, siendo los grupos: Control Negativo, Control positivo; Atorvastina (10mg/kg), Inducidos Sin Tratamiento y grupos de estudios para los diferentes niveles de dosis (250, 500 y 1000 mg/kg de peso de la rata). Los resultados demostraron que el extracto no presenta toxicidad aguda, ya que ninguna rata murió durante el procedimiento, se observó una disminución del colesterol total en las ratas hipercolesterolémicas, estadísticamente significativas en comparación a los resultados obtenidos con la Atorvastina; se comparó la diferencias de medias con ANOVA y test de Tukey, donde la mejor efectividad se encuentra en el siguiente orden: 1000, 500 y 250 mg/kg, siendo la concentración 1000 mg/kg la que obtuvo 66.64% de efecto hipocolesterolemico comparado con el control positivo con Atorvastina que presentó un 74.31%. ( $p < 0.05$ ). Conclusiones: se identificaron principales metabolitos secundarios como: alcaloides, compuestos fenólicos y los flavonoides los cuales se le atribuye este efecto sobre la hipercolesterolemia, en condiciones experimentales, el consumo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* disminuye los niveles de colesterol total.

**Palabras clave:** *Allium ampeloprasum*, colesterol total, efecto dislipidémico.

## ABSTRACT

The objective of the present research work was to demonstrate the dyslipidemic effect of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Allium ampeloprasum* "Poro" in rats induced to hypercholesterolemia. The type of study was experimental, longitudinal prospective. To start the experimental studies, the acute toxicity was evaluated by means of LD50 of hydroalcoholic extract of the leaves of *Allium ampeloprasum* "Poro". The preparation of the extract was carried out by the Hydroalcoholic Maceration method, the secondary metabolites were determined by the Phytochemical March and the dyslipidemic effect was measured by the enzymatic method of UV Spectrophotometry. Treatment lasted 28 days starting with induction with reactive Cholesterol at a dose of 60 mg / kg body weight for five days in 5 of the 6 experimental groups made up of 5 male albino rats of the Holtzman strain, the groups being: Negative Control, Positive control; Atorvastine (10mg / kg), Induced Without Treatment and groups of studies for the different dose levels (250, 500 and 1000 mg / kg of rat weight). The results showed that the extract does not present acute toxicity, since no rats died during the procedure, a decrease in total cholesterol was observed in the hypercholesterolemic rats, statistically significant in comparison to the results obtained with Atorvastin; the differences of means were compared with ANOVA and Tukey's test, where the best effectiveness is in the following order: 1000, 500 and 250 mg / kg, being the concentration 1000 mg / kg the one that obtained 66.64% of hypocholesterolemic effect compared to the positive control with Atorvastine that presented 74.31%. (p <0.05). Conclusions: main secondary metabolites were identified such as: alkaloids, phenolic compounds and flavonoids, which is attributed this effect on hypercholesterolemia, under experimental conditions, the consumption of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Allium ampeloprasum* reduces total cholesterol levels.

**Key words:** *Allium ampeloprasum*, total cholesterol, dyslipidemic effect

## **CAPITULO I. INTRODUCCION**

Las enfermedades no transmisibles (ENT), incluidas las cardiopatías, los accidentes cerebrovasculares, el cáncer, la diabetes y las enfermedades pulmonares crónicas, son en conjunto responsables de casi el 70% de todas las muertes en todo el mundo. Casi las tres cuartas partes de todas las muertes por ENT y el 82% de los 16 millones de personas que murieron prematuramente o antes de cumplir los 70 años se producen en países de ingresos bajos y medios.

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la mayoría de las muertes por ENT (17,9 millones cada año), seguidas del cáncer (9,0 millones), las enfermedades respiratorias (3,9 millones) y la diabetes (1,6 millones); tienden a ser de larga duración y resultan de la combinación de factores genéticos, fisiológicos, ambientales y conductuales.

Estos cuatro grupos de enfermedades son responsables de más del 80% de todas las muertes prematuras por ENT ocurren en países de ingresos bajos y medianos, siendo las enfermedades cardiovasculares la principal causa de muertes en todo el mundo. La mayoría de las ECV pueden prevenirse actuando sobre factores de riesgo comportamentales, como el consumo de tabaco, las dietas malsanas y la obesidad, la inactividad física o el consumo nocivo de alcohol, utilizando estrategias que abarquen a toda la población.

Para las personas con ECV o con alto riesgo cardiovascular (debido a la presencia de uno o más factores de riesgo, como la hipertensión arterial, la diabetes, la hiperlipidemia o alguna ECV ya confirmada), son fundamentales la detección precoz y el tratamiento temprano, por medio de servicios de orientación o la administración de fármacos.

La epidemia de ENT tiene consecuencias devastadoras para la salud de las personas, las familias y las comunidades, y amenaza con abrumar los sistemas de salud. Los costos socioeconómicos asociados con las ENT hacen que la prevención y el control de estas enfermedades sean un imperativo importante para el desarrollo del siglo XXI. <sup>(1)</sup>

En el Perú durante el año 2019, el 37,8% de las personas de 15 y más años de edad tuvo sobrepeso en todo el país, así lo dio a conocer el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI), según los resultados de la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (ENDES).

El 22,3% de las personas de 15 y más años de edad tiene obesidad, aumentando en 4,0 puntos porcentuales en los últimos cuatro años. Se considera que una persona tiene obesidad cuando presenta un índice de masa corporal mayor o igual a 30. Según área de residencia, fue más alta en las personas residentes en el área urbana (24,6%)

En el año 2019, el 41,1% de las personas de 15 y más años de edad presentó un riesgo cardiovascular muy alto. Según área de residencia, afectó principalmente a los residentes en el área urbana (44,1%) y en Lima Metropolitana (46,0%), y en las edades de 40 a 49 años (32,7%). La población femenina presentó un mayor riesgo con (60,8%) en comparación con la población masculina (20,8%). Según edad, esta incidencia fue mayor en la población de 60 y más años de edad (52,4%).<sup>(2)</sup>

Ante esta situación y para el presente trabajo se plantea como problema general ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) presentara efecto dislipidémico en ratas inducidos a hipercolesterolemia? Y como problemas específicos: a) ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) presentara efecto dislipidémico en ratas inducidas a hipercolesterolemia comparado con la atorvastatina?, b) ¿Cuál es la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) para disminuir la hipercolesterolemia? C) ¿Cómo se determina la presencia de metabolitos secundarios que probablemente producen efecto dislipidémico en hipercolesterolemia en ratas inducidas? Así mismo planteamos como objetivo general: demostrar el efecto dislipidémico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) en ratas inducidas a hipercolesterolemia. Y como objetivos específicos vamos a: a) Evaluar efecto dislipidémico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) en ratas inducidas a hipercolesterolemia comparado con la atorvastatina. B) Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) para disminuir la hipercolesterolemia. C) Determinar la presencia de metabolitos secundarios probablemente responsables del efecto dislipidémico en hipercolesterolemia en ratas inducidas.

La finalidad de esta investigación es determinar la actividad dislipidémica, del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) sobre ratas inducidas a hipercolesterolemia, como también dar a conocer los beneficios de las plantas naturales como una alternativa en el tratamiento de las enfermedades y afecciones causadas por la hipercolesterolemia. El uso de plantas medicinales con fines terapéuticos no ha perdido su

valor en el mundo entero, por el contrario hay muchos investigadores que buscan implementar la medicina tradicional con estudios científicos para así aprovechar los metabolitos secundarios de las plantas y ayudar a todas las personas en el mundo los cuales muchos de ellos tienen difícil acceso a los hospitales en zonas alejadas, el alto costo económico, reacciones adversas, la resistencia a los tratamientos farmacológicos, etc.

Los resultados de la presente investigación son para el beneficio de la población en general y todos los que sufren con ECV, como también para que los productores puedan dar un valor medicinal a su cosecha y así tener otros mercados como lo tienen el ajo y la cebolla que pertenecen a la misma familia. Además de aportar bases científicas que contribuyen a futuras investigaciones relacionadas con el tema del uso eficaz y seguro de las hojas de poro. Hay muchas plantas que requieren nuestra atención que no han sido estudiadas por completo y se ignoran su actividad terapéutica principal y no debemos olvidarlas.

Nuestra investigación se limita a realizar la investigación in vivo utilizando animales de experimentación, no se utilizaron material in vitro ni microbiológico.

Al inicio de la investigación fue difícil buscar un ambiente adecuado para el cuidado de los animales y el desarrollo del proceso de experimentación, pero se solucionó llevándose a cabo en el bioterio de la Universidad Cayetano Heredia.

Para poder enmarcarnos dentro del contexto de la investigación del efecto dislipidémico del poro vamos a citar algunos antecedentes a nivel nacional; **Tocto Y, Vega (2017)**<sup>3</sup> investigaron el Efecto del fruto de *Solanum sessiliflorum* en hiperlipidemia inducida en *Mus musculus* donde tuvieron como objetivo determinar la actividad hipolipidémica del fruto de cocona en un modelo de hiperlipidemia aguda inducida en tritón para ello se usaron la especie como animales de experimentación, trabajaron con cuatro grupos de ratones: el grupo blanco recibió agua destilada por vía oral y solución salina fisiológica por vía intraperitoneal, el grupo control recibió agua destilada por vía oral y tritón por vía intraperitoneal, el grupo problema I recibió por vía oral 0.05 g/100 g del extracto de *Solanum sessiliflorum* y tritón por vía intraperitoneal y el grupo problema II recibió por vía oral 0.2g/100g del extracto y tritón por vía intraperitoneal. Luego de 24 h de administrar los tratamientos, se realizaron las mediciones de las concentraciones de colesterol y triglicéridos en el suero. Los niveles promedio de colesterol (mg/d) fueron: 100.47 blanco,

160.9 control, 102.83 problema I y 133.83 problema II. Los valores promedio de triglicéridos fueron: 99.5 blanco, 119.4 control, 116.15 problema I y 103.33 problema II. Se encontró reducciones significativas ( $p < 0.05$ ) en las concentraciones de colesterol del grupo problema I en relación a las obtenidas en el grupo tratado solo con tritón también se evidenció una disminución de los niveles de triglicéridos pero estadísticamente no significativas". Al igual que **Carlos S. Huaman J. (2018)**<sup>4</sup> Investigaron el efecto dislipidémico del extracto hidroalcohólico del fruto de caigua (*Cyclanthera pedata*) en conejos inducidos a hipercolesterolemia. El tipo de estudio fue experimental, prospectivo longitudinal. La preparación del extracto se realizó mediante el método de Maceración Hidroalcohólica, se determinaron los metabolitos secundarios mediante la Marcha Fotoquímica y el efecto dislipidémico se midió mediante el método enzimático de Espectrofotometría UV. Las dosis del extracto fueron de 250 y 500 mg/kg administrado por vía per oral durante 2 meses. Los resultados indicaron que los niveles de Colesterol y Triglicéridos bajaron en una medida significativa ( $p < 0,05$ ) comparado con el grupo control Negativo, siendo el extracto de 500 mg con mayor efecto en la hipercolesterolemia comparado con la atorvastatina 10 mg. Del mismo modo se obtuvieron variaciones en el peso corporal en los conejos después del tratamiento, teniendo una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) en el grupo experimental 500 mg/kg. Probablemente el efecto dislipidémico se deba a la presencia de Fitoesteroles hallados en el extracto. Concluyéndose que en las condiciones experimentales el extracto hidroalcohólico del fruto de Caigua tienen efecto en la hipercolesterolemia en conejos inducidos. Asimismo **Cárdenas, A. (2019)**<sup>5</sup> realizó la investigación cuyo título fue "Efecto hipolipidémico de la ingesta de *Allium sativum* (ajo) sometido a pardeamiento sobre la hiperlipidemia inducida por glutamato monosódico en ratas" cuyo objetivo fue: Analizar el efecto hipolipidémico de la ingesta del *Allium sativum* (ajo) sometido a pardeamiento sobre el perfil lipídico en hiperlipidemia inducida por glutamato monosódico en ratas. Su diseño fue: Analítico, longitudinal, experimental y prospectivo, material biológico: *Allium sativum* (ajo) variedad morado arequipeño; 24 ratas albinas raza Holtzman, machos adultos de tres meses con  $278 \pm 8,5$  g. y las intervenciones, *Allium sativum* fue sometido a temperatura de 70 °C y humedad 85% por 15 días, para su pardeamiento. Las ratas se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos ( $n=6$ ): Grupo I (NaCl 0,9% a 10 mL/kg), Grupo II (8 mg/g de GMS) y grupos III y IV (8 mg/g de GMS más ingesta de ajo negro a dosis de 50 mg/kg y 200 mg/kg peso respectivamente). Después de 30 días del procedimiento, se realizó ayuno por 12 horas. Posteriormente las ratas fueron anestesiadas y se extrajo la sangre por punción

cardiaca para realizar la medición de los niveles de colesterol total, triglicéridos, HDL y LDL. Como resultados halló disminución significativa de colesterol total ( $p < 0,01$ ), LDL y LDL/HDL ( $p < 0,05$ ); sin embargo, no presentó disminución significativa en triglicéridos CT/HDL y Tg/HDL. Los niveles de HDL disminuyeron, esto les llevo a la conclusion de que el *Allium sativum* sometido a pardeamiento (ajo negro) exhibe efecto hipolipidémico en circunstancias experimentales. Tenemos tambien a **Rojas A. (2016)**<sup>6</sup> Que estudio los Efectos Del *Allium Sativum*, Ajo, En pacientes Con Dislipidemia En La Ciudad De Huancayo. Estudio preliminar teniendo como objetivo principal: Determinar el efecto del consumo de cápsulas de *Allium sativum* en una dosis diaria de 1 g por 12 semanas, en pacientes con dislipidemia, residentes en la ciudad de Huancayo (3200 m de altitud). Materiales y métodos. Estudio experimental de un solo grupo de intervención con comparación pre-post. Se evaluaron a 33 sujetos (hombres y mujeres) con diagnóstico de dislipidemia de acuerdo a los criterios ATP III, quienes recibieron cápsulas con dosis de 1 g diario por doce semanas. Se analizaron los valores de colesterol total, LDL-c, HDL-c y triglicéridos, antes y después de la intervención. Resultados. Después de doce semanas, se encontraron reducciones significativas ( $p < 0,001$ ) de los valores de colesterol total ( $\Delta$  62,4 mg/dL; IC 95%: 59.1-65.7), LDL-c ( $\Delta$  63,7 mg/ dL; IC 95%: 60.3-67.1) y triglicéridos ( $\Delta$  21,5 mg/dL; IC 95%: 14,3-28,7) y aumento del HDL-c ( $\Delta$  4,1 mg/dL; IC 95%: 2,9-5,3). Conclusiones. La intervención por doce semanas con cápsulas de *Allium savitum* en pacientes con dislipidemia mostró efectos significativos en los niveles de colesterol total, LDL-c, HDL-c y triglicéridos. Se recomienda realizar estudios clínicos aleatorizados para poder evaluar en real magnitud las tendencias observadas en estos resultados preliminares. tambien con el trabajo de investigacion de **Arroyo, J. Raez, E. Rodríguez, M., Chumpitaz, V, Burga, J, De la Cruz, W, Valencia, J, (2007)**<sup>7</sup> Quienes estudiaron la reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*zea mays l*) en ratas hipercolesterolemias; con el objetivo de Determinar la actividad hipocolesterolémica y antioxidante del consumo crónico del extracto hidroalcohólico atomizado del maíz morado (*Zea mays L*) en ratas hipercolesterolémicas. Materiales y métodos: Se utilizaron cinco grupos de seis ratas Holtzmann cada uno, uno sin hipercolesterolemia (control negativo), y cuatro con hipercolesterolemia inducida por consumo de colesterol puro vía oral durante 60 días: control positivo y tres para las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg, respectivamente. En el día 60 se determinaron los niveles séricos de colesterol total, triglicéridos y colesterol HDL (mg/dL), así como de malondialdehido (mmol/L) para determinar la actividad antioxidante. Se comparó la diferencias de medias con ANOVA y test de Tukey. Resultados: Se observó

una disminución del colesterol total en las ratas hipercolesterolémicas que consumieron dosis de 250 y 500 mg/kg en relación con el grupo control positivo (reducción de 21,5 y 11,2% respectivamente,  $p < 0,01$ ). No se observaron diferencias significativas sobre los niveles de triglicéridos y colesterol HDL. A mayor dosis se maíz morado se encontró una mayor reducción de radicales libres, con la dosis de 1000 mg/kg se redujo en 56,4% los niveles de malondialdehído ( $p < 0,01$ ). Conclusiones: En condiciones experimentales, el consumo crónico del extracto hidroalcohólico atomizado de maíz morado disminuye los niveles de colesterol total y aumenta la capacidad antioxidante.

También mencionaremos algunos Antecedentes Internacionales, **Purnima D, Kazi L, (2013)**<sup>8</sup> en su investigación “Una revisión extensa sobre *Allium ampeloprasum*, Una hierba mágica”; teniendo como Resumen: El vegetal *Allium* se ha utilizado como medicina popular desde la antigüedad. El género *Allium* tiene más de 600 miembros que difieren en maduración, color y sabor; sin embargo, son similares en contenido bioquímico. *Allium ampeloprasum*, es una planta monocotiledónea del lirio familia (Liliaceae) y pertenece al género *Allium*. Tiene un sabor característico y rasgos morfológicos, por lo que debe considerarse como una de las hierbas medicinales populares. Un escrutinio de la literatura reveló algunas actividades farmacológicas notables de la planta, como papel antidiabético, hipolipidémico, antimicrobiano, eliminador de radicales libres y antiinflamatorio. Esta revisión intenta abarcar el literatura disponible sobre *Allium ampeloprasum* con respecto a sus caracteres farmacognósticos, usos etno botánicos y tradicionales, componentes químicos y resumen de sus diversas actividades farmacológicas y efectos clínicos. Asimismo **M. Ghasemiyanpour, H. Rasekh, F. Mojab (2017)**<sup>9</sup> Estudiaron el Efecto antihiperlipidémico del extracto de etanol de *Allium ampeloprasum* en ratas, teniendo en resumen la siguiente Justificación y objetivos: Este estudio se diseñó para investigar el efecto del extracto etanólico de hojas de *Allium ampeloprasum* (puerro) sobre el perfil de lípidos sanguíneos en ratas. Debido a los efectos secundarios de las drogas químicas y la tendencia social hacia las medicinas a base de hierbas, está justificado proponer nuevos remedios a base de hierbas para la prevención de enfermedades cardiovasculares. Métodos: Se utilizaron treinta y seis ratas Wistar macho adultas y se dividieron en 6 grupos. Después de la inducción de la hiperlipidemia, el grupo I se alimentó con una dieta normal, el grupo II (control) con una dieta alta en colesterol (que contenía un 5% de colesterol y un 5% de aceite de oliva), el grupo III se alimentó con una dieta alta en colesterol y lovastatina (10 mg / kg), el grupo IV con dieta alta en colesterol y extracto de puerro (50 mg / kg), el grupo V recibió dieta alta



en colesterol y *Allium ampeloprasum* (extracto de puerro) 100 mg / kg y el grupo VI fue alimentado con dieta alta en colesterol y extracto de puerro (250 mg / kg) durante 21 días consecutivos mediante sonda. La concentración de colesterol sérico, LDL, TG, HDL y las proporciones de CHO / HDL y LDL / HDL para cada animal se analizaron mediante kits de laboratorio. Resultados: El régimen que contenía 50 mg / kg de extracto resultó en una reducción significativa en los niveles de CHO ( $57,00 \pm 2,25$  mg / dl vs  $107,80 \pm 3,54$  mg / dl), LDL ( $22,00 \pm 2,07$  mg / dl vs  $35,80 \pm 1,98$  mg / dl) y CHO / HDL ( $1,44 \pm 0,07$  mg / dl frente a  $2,55 \pm 0,06$  mg / dl) en comparación con el grupo control ( $p < 0,05$ ); mientras que no hubo cambios significativos en el nivel de TG y HDL en comparación con el grupo de control ( $p > 0,05$ ). Conclusión: Los resultados mostraron que el extracto etanólico de *A. ampeloprasum* podría mejorar el perfil lipídico comparable con lovastatina en ratas. También se concluyó que la dosis de 50 mg / kg del extracto mostró la mayor eficacia, también tenemos a **Alpizar V. (2020)**<sup>10</sup> Quien realizó el estudio comparativo In vitro de la inhibición bacteriana del ajo elefante (*Allium ampeloprasum complex*) y ajo negro (*Allium sativum*) sobre *Escherichia coli* ATCC® 25922, exponiendo como resumen El ajo es el que contiene mayor concentración de compuestos azufrados de toda la familia *Allium*, dichos compuestos le dan una potente actividad antimicrobiana, entre sus enzimas más importantes se encuentran la alinasa, peroxidasa y mirosinasa, aminoácidos como la arginina y glucósidos, que influyen en la actividad antimicrobiana, al igual que algunos minerales. Por lo que en este estudio se evaluó la inhibición antibacteriana del extracto acuoso de dos tipos de ajo: ajo negro (*Allium sativum*) y ajo elefante (*Allium ampeloprasum complex*) sobre *Escherichia coli* ATCC® 25922. El estudio es de tipo experimental in vitro. Se realizó la siembra de la bacteria en cajas Petri y se colocaron discos de papel celulosa impregnada a diferentes concentraciones (500 mg/ml; 250 mg/ml; 125 mg/ml) del extracto de cada ajo para luego exponer la bacteria y a partir de ello se determinó su capacidad antibacteriana, midiendo los halos de inhibición. Los resultados evidenciaron que la concentración (500 mg/ml) de extracto acuoso de ajo elefante (*Allium ampeloprasum complex*) mostró mayores halos de inhibición ( $11.44 \pm 1.30$  mm), en comparación con las concentraciones de extracto acuoso de ajo negro que no mostraron halos de inhibición. Finalmente **Setah N, Ghedeir M, Falah H, Abdulrahman S & Mohammed A (2020)**<sup>11</sup> Investigaron los Efectos Antihiperlipidémicos Y Antioxidantes Hepáticos Del Extracto De Metanol De Hoja De Puerro En Ratas Alimentadas Con Una Dieta Alta En Grasas, in vivo; Teniendo como resumen que la hiperlipidemia y el estrés oxidativo son factores de riesgo importantes para el desarrollo de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular. Este estudio fue diseñado para

investigar los potenciales antioxidantes hepáticos y hipolipidémicos del extracto de puerro con metanol (LE) en un modelo de rata alimentada con una dieta alta en grasas (HFD). Las ratas Wistar se dividieron en 6 grupos (n = 6 / grupos) como 1) control alimentado con dieta estándar, 2) HFD, 3) HFD + (atorvastatina) (20 mg / kg) y HFD + LE (100, 200 o 300 mg / kg). Todos los tratamientos se administraron por sonda y se llevaron a cabo durante 6 semanas, diariamente. En todas las pruebas, pero de manera independiente de la dosis, LE redujo significativamente el peso corporal final y la ingesta de alimentos y suprimió los niveles séricos de alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST). Además, en niveles séricos y hepáticos inhibidos de colesterol total (CT), triglicéridos (TG) y colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), pero niveles séricos y hepáticos elevados de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL-C). Concomitantemente, LE, en todas las dosis probadas, aumentó la actividad de la superoxidasa dismutasa (SOD) y la glutatión peroxidasa (GPx), aumentó los niveles de catalasa (CAT) y disminuyó los niveles de malondialdehído (MDA) en los hígados de ratas alimentadas con HFD. En conclusión, LE ejerce un potente potencial antioxidante hipolipidémico y hepático en ratas alimentadas con HFD que destacan sus efectos beneficiosos en diversos trastornos relacionados con el metabolismo. <sup>(11)</sup>

Entre las teorías que refuerzan nuestro trabajo de investigación tenemos: a) Descripción del poro o puerro; conocido científicamente como *Allium ampeloprasum porrum*, están relacionados con el ajo, la cebolla, las chalotas y el cebollín. Su apariencia es similar a la de una cebolleta grande, se compone de un bulbo ligeramente desarrollado, que se une a un vástago cilíndrico formado por hojas superpuestas, gruesas y planas. Por lo general alcanza una altura de 0.6 a 0.9 metros.

Esta verdura firme y crujiente es nativa de Asia Central y el Mediterráneo, donde ha sido un elemento culinario básico durante siglos. Su sabor es similar al de la cebolla, pero más suave.<sup>12</sup>

b) Clasificación taxonómica:

*División: Magnoliophyta*

*Clase: Liliopsida*

*Subclase: Liliidae*

*Orden: Liliales*

*Familia: Liliaceae*

*Género: Allium*

*Especie: Allium ampeloprasum var.porrum (L) J. Gay.*

*Nombre Vulgar: Poro*

c) Usos medicinales:

- Refuerza el sistema inmunológico. Su principio activo, la alicina, estimula el sistema inmunitario y es antiséptico.
- Antibiótico natural debido a sus compuestos sulfurados, con propiedades antibacterianas. Puede ayudar a curar afecciones respiratorias como la tos.
- Bajo contenido calórico. Con sólo 61 calorías por 100 gramos de puerro cocido, es una hortaliza recomendada para controlar la línea. De hecho, un 90% de su contenido es agua. Es bajo en hidratos de carbono y su fibra resulta muy saciante.
- Propiedades diuréticas. Su riqueza en potasio y la pobreza en sodio estimulan la eliminación de líquidos. Es muy recomendable para personas que sufran retención de líquidos o hipertensos.
- Alto contenido en fibra. El puerro ayuda a combatir el estreñimiento por el efecto mucilaginoso de sus fibras y tiene un ligero efecto laxante por su contenido en magnesio.
- Variedad de vitaminas. Sobre todo C, E y B6. Además, es una gran fuente de folatos (ácido fólico) y carotenos.
  - Ayuda a reducir el colesterol y los triglicéridos. Es la alicina la que ayuda a eliminar el colesterol del organismo.
- Su aceite esencial facilita el proceso digestivo y estimula el apetito. <sup>(13)</sup>

Entre sus Compuestos químicos tienen: fibra, un 94 % de agua, es baja en calorías, así como hidratos de carbono. Contienen las vitaminas: A, C, B6; los minerales potasio, calcio, fósforo, sodio, hierro; y otros elementos como tiamina, riboflavina, niacina, ácido ascórbico y folatos.

Como información nutricional por cada 100 g tienen: 26 calorías, 2.5 g de proteínas, 4.5 g de hidratos de carbono, 90 g de agua. Debemos reiterar que aporta el 50 % de las necesidades diarias de vitamina C, y aproximadamente el 13 % de la vitamina E, B6 y selenio. También obtendremos un 10 % de nuestros requerimientos de calcio y hierro. Contiene una apreciable cantidad de carotenos, potasio, ácido fólico y vitamina B1. <sup>(14)</sup>

Es importante también saber la Toxicidad que aunque el consumo de puerros se considera seguro para la mayoría de las personas, son alimentos que contienen oxalatos. Los oxalatos son iones que se encuentran de forma natural en las plantas, los animales y los humanos; en general no son un motivo de preocupación, sin embargo en personas que tienen problemas no tratados de vesícula o riñón, la acumulación de oxalatos en los fluidos corporales podría causar complicaciones en sus condiciones preexistentes.

Los puerros, al igual que los ajos y las cebollas, contienen fructanos, un tipo de fibra soluble que puede causar gases. En personas sensibles, incluso en pequeñas cantidades, estos bulbos pueden causar flatulencias, eructos, hinchazón y otros problemas digestivos. <sup>15</sup>

**Es importante también conocer la dislipidemia ya que es** considerada como un factor de riesgo modificable de enfermedad coronaria y se define como la alteración de una o más lipoproteínas en sangre que conduce al aumento del colesterol total (CT), de triglicéridos (TG), al aumento de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) y a la disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL-C). <sup>16</sup> La dislipidemia es un factor de riesgo aterogénico con un efecto pronóstico que depende de la edad: cuanto más joven sea la persona, mayor será el impacto negativo sobre la esperanza de vida <sup>(17)</sup>.

En Perú, estudios poblacionales evidencian que la prevalencia de sobrepeso u obesidad asciende a 7,6% en jóvenes y 19,8% en adultos. <sup>17</sup> Mientras que la prevalencia de colesterol total es de 19,6 %, la hipertrigliceridemias de 15,0% y LDL-C elevado de 13% en adultos peruanos. <sup>18</sup>

El incremento de sobrepeso, obesidad y dislipidemia obedecen a factores genéticos y ambientales. Entre los factores ambientales tenemos el tipo de dieta, la baja actividad física, el bajo consumo de frutas y verduras, la ingesta de comida rápida con alto contenido de grasa y carbohidratos y bajo contenido de fibras, el consumo de bebidas azucaradas, entre otros. <sup>17</sup>

La obesidad se asocia a niveles elevados de dislipidemias, este último incrementa el riesgo de enfermedades cardiovasculares y ambos afectan la expectativa y la calidad de vida de la persona, incrementan la muerte prematura<sup>19</sup> y repercuten en el Sistema de Salud debido al elevado costo por tratamiento y atención especializada<sup>20</sup>

La dislipidemia no suele causar síntomas por sí misma, pero puede ocasionar enfermedad vascular sintomática, incluso enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular y enfermedad arterial periférica. La dislipidemia debe sospecharse en pacientes con hallazgos característicos en el examen físico o con complicaciones de la dislipidemia (p. ej., enfermedad aterosclerótica). Se diagnostica mediante: Perfil lipídico en el suero (concentración medida de colesterol total, TG, colesterol HDL y concentraciones calculadas de colesterol LDL y VLDL). Para el **tratamiento farmacológico en adultos**, la 2018 AHA/ACC/ Guideline on the Management of Blood Cholesterol (Directrices de la AHA/ACC para el control del colesterol en sangre) de 2018 recomienda el tratamiento con una estatina para 4 grupos de pacientes, que tienen algunas de las siguientes condiciones:

- ECVAS clínica
- Colesterol LDL  $\geq 190$  mg/dl ( $\geq 4,9$  mmol/L)
- Entre 40 y 75 años, con diabetes y colesterol LDL entre 70 y 189 mg/dl (1,8 a 4,9 mmol/L)
- Edad de 40 a 75 años, colesterol LDL 70 a 189 mg/dl (1,8 a 4,9 mmol/L), y riesgo estimado a 10 años de ECVAS  $\geq 7,5\%$ . (21)

Las estatinas son el tratamiento de elección para reducir el colesterol LDL, dado que se ha demostrado su capacidad para disminuir la tasa de mortalidad y morbilidad por trastornos cardiovasculares. Las estatinas inhiben a la hidroximetilglutaril CoA reductasa, una enzima clave en la síntesis del colesterol, lo que conduce al aumento del número de receptores para LDL y promueve su eliminación. Estos fármacos disminuyen hasta 60% la concentración de colesterol LDL y generan pequeños incrementos en las concentraciones de colesterol HDL, con descenso moderado de la concentración de triglicéridos. Las estatinas también parecen disminuir la inflamación intraarterial o la inflamación sistémica al estimular la producción endotelial de óxido nítrico y pueden ejercer otros efectos beneficiosos. Otras clases de fármacos hipolipemiantes no son la primera opción, ya que no ha demostrado una eficacia equivalente a la de la disminución del ACVAS. (21)

Es importante también conocer la Atorvastatina y sus Propiedades farmacológicas: Agente hipolipemiente que, al igual que otras estatinas, inhibe de manera competitiva, reversible, a la HMG-CoA reductasa (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A), enzima que media la primera fase en la biosíntesis de esteroides, e inhibe la enzima catalítica que regula la conversión hepática de HMG-CoA a mevalonato. Esto resulta en disminución de la concentración de colesterol hepático. En respuesta a esta reducción, se aumenta la síntesis de receptores para las lipoproteínas de baja densidad (LDL) e incrementa el catabolismo de estas lipoproteínas. El efecto bioquímico principal de esta estatina es, por lo tanto, la reducción plasmática de los niveles de colesterol-LDL; también reduce los triglicéridos plasmáticos y aumenta los niveles de colesterol-HDL (lipoproteínas de alta densidad) y disminución de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Se absorbe bien en el tubo digestivo y sus concentraciones máximas se alcanzan en 1 a 2 h. La presencia de alimentos reduce significativamente su velocidad de absorción. Se une de manera importante a las proteínas plasmáticas (98%) y se metaboliza extensamente en el hígado a través de hidroxilación y beta-oxidación; también tiene circulación enterohepática. Se elimina en la orina. (22) sus indicaciones terapéuticas: Hipercolesterolemia: Tratamiento adicional a la dieta en la reducción del colesterol total, colesterol LDL, apoproteína B y triglicéridos elevados, en adultos, adolescentes y niños a partir de 10 años con hipercolesterolemia primaria incluyendo la hipercolesterolemia familiar (variante heterocigótica) o hiperlipidemia combinada (mixta) (correspondiente a los tipos Iia y Iib de la clasificación de Fredrickson), cuando la respuesta obtenida con la dieta u otras medidas no farmacológicas ha sido inadecuada. Prevención de la enfermedad cardiovascular: Prevención de acontecimientos cardiovasculares en pacientes de alto riesgo de sufrir un primer evento cardiovascular, como tratamiento adyuvante a la corrección de otros factores de riesgo.

Dentro del marco conceptual tenemos la siguiente definición de términos básicos:

- ❖ **Plantas medicinales.**- especie vegetal, de la cual toda o una parte de la misma tiene actividad farmacológica.
- ❖ **Extractos hidroalcohólicos.** Se obtienen de la extracción de la planta con una dilución de alcohol y agua, para la mejor obtención de principios activos.
- ❖ **Flavonoides.** Son compuestos fenólicos procedentes del metabolismo secundario de los vegetales

- ❖ **Alicina.-** Es un compuesto azufrado que posee diversas actividades farmacológicas de interés
- ❖ **CCF:** Cromatografía De Capa Fina
- ❖ **ENT.-** Enfermedades No Transmisibles
- ❖ **ECV.-** Enfermedad Cardio Vascular
- ❖ **HDL.-** Lipoproteínas De Alta Densidad
- ❖ **LDL.-** Lipoproteínas De Baja Densidad
- ❖ **VLDL.-** Lipoproteínas De Muy Baja Densidad
- ❖ **OMS.-** Organización Mundial de la Salud.
- ❖ **INEI.-** Instituto Nacional De Estadística E Informática.
- ❖ **ENDES.-** Encuesta Demográfica Y De Salud Familiar.
- ❖ **Bioterio.-** Lugar destinado a la cría y control de los animales de laboratorio utilizados como reactivos biológicos en protocolos experimentales.
- ❖ **Dislipidemia.-** Es el aumento de la concentración plasmática de colesterol y lípidos en la sangre.
- ❖ **Hipercolesterolemia.-** Nivel elevad de colesterol en la sangre.
- ❖ **Agente Hipolipemiente.-** Sustancia farmacológicamente activa con la propiedad de disminuir los niveles de lípidos en sangre
- ❖ **Estatina.-** son drogas usadas para bajar el colesterol y otras grasas en la sangre.

La hipótesis general planteada para este trabajo de investigación es: Existe efecto dislipidémico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) en ratas inducidos a hipercolesterolemia. Y como hipótesis específica tenemos: a) El extracto

hidroalcoholico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) tienen efecto dislipidemico superior a la atorvastatina en ratas inducidos a hipercolesterolemia. B) Existe una concentración del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) que posee efecto dislipidemico sobre hipercolesterolemia. C) Existen metabolitos secundarios probablemente responsables del efecto dislipidemico en hipercolesterolemia en ratas inducidos.

## **CAPITULO II. METODO.**

### **2.1 TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.**

#### **2.1.1.- SEGÚN EL NIVEL DE CONOCIMIENTO CIENTÍFICO:**

Experimental: Ya que se van a emplear animales de experimentación y especies botánicas con actividad terapéutica, también se puede evaluar la dosis / concentración del extracto con la que obtiene el efecto dislipidemico,

#### **2.1.2.- SEGÚN SU UBICACIÓN TEMPORAL**

Transversal: debido a que el estudio se realizará en un determinado tiempo, lugar y con ciertas características de animales de experimentación.

#### **2.1.3.- SEGÚN LA PLANIFICACIÓN DE TOMA DE DATOS**

Prospectivo: Este estudio posee una característica fundamental, es la de iniciarse con la exposición de una supuesta causa, y luego seguir a través del tiempo a una población determinada hasta determinar o no la aparición del efecto.

Análítico: Se analizarán los componentes del extracto obtenido de las hojas de la planta de *Allium ampeloprasum* (Poro) y como este influye en efecto dislipidemico.



## 2.2 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES:

Variables	DIMENSIONES	INDICADORES
<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b></p> <p>Extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> (Poro)</p>	<p>Fito química</p>	<p>Identificación de metabolitos secundarios.</p> <p>Concentraciones al:</p> <p>100%</p> <p>50%</p> <p>25%</p>
<p><b>VARIABLE DEPENDIENTE</b></p> <p>Efecto dislipidemico sobre hipercolesterolemia.</p>	<p><b>Evaluación farmacológica</b></p> <p>Evaluación del efecto dislipidemico de forma experimental tras inducir a hipercolesterolemia con etanol.</p>	<p>Análisis Farmacológico</p> <p>Niveles de colesterol</p> <p>Rangos: Colesterol rata: 10-100 mg/dl</p> <p>Triglicéridos rata: 50-200 mg/dl</p> <p>Gramos de peso de la rata</p>

## 2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA.

### 2.3.1 POBLACIÓN.

- **Población de la especie vegetal**

*Allium ampeloprasum* (poro), la planta fue recolectada en el departamento de Junín provincia de Tarma en el centro poblado de Jacahuasi.

- **Población de los animales de experimentación:**

Se utilizaron ratas albinas macho de la cepa Holtzman, de 2 meses de edad, provenientes de las instalaciones del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

### 2.3.2 MUESTRA.

- **Muestra de la especie vegetal:**

*Allium ampeloprasum* (poro), se recolectó 500 gramos de ramas, obteniéndose 350 gramos de hojas para realizar el estudio.

- **Muestra de los animales de experimentación:**

Fueron usadas 39 ratas albinas machos (cepa Holtzman) de 8 - 10 semanas de edad con un peso promedio de 220 - 240 g; provenientes de las instalaciones del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El proceso de cuarentena para la aclimatación a las condiciones ambientales y conductuales fue de cinco días.

El total de animales para todo el ensayo fueron distribuidos de la siguiente forma:

Un grupo de 3 ratas con una repetición y un control (total 9, 3 de cada grupo), para la prueba de toxicidad aguda oral y otros 6 grupos de 5 animales por cada tratamiento, con un grupo control positivo y uno control negativo, ratas normales (sin inducción), para el ensayo farmacológico

La muestra fue administrada mediante sondas nasogástricas a diferentes niveles de dosis tanto para la prueba de toxicidad aguda y prueba farmacológica, a los grupos de estudio y a las dosis diseñadas.

### 2.4 TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Para el desarrollo del siguiente estudio se realizaron experimentos en los que se llevaron a cabo las siguientes pruebas: Screening fitoquímico, prueba de cuantificación de flavonoides totales por UV-VIS y el estudio del efecto dislipidémico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) en ratas albinas, las que se ejecutaron en los laboratorios de Control de Calidad y Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

## 2.5 MÉTODO DE ANÁLISIS DE DATOS.

Los ensayos cualitativos son reportados en función a su respuesta: Positivo (+) o Negativo (-), y la descripción de los resultados como color o intensidad, según sea el caso.

Los resultados obtenidos en los tratamientos se analizaron estadísticamente para evaluar el efecto del producto sobre los diferentes tratamientos con niveles de significancia del 95% ( $p < 0.05$ ) por un test de comparación múltiple (Test de Anova) para determinar si existen diferencias entre ellas.

## 2.6 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS.

### ❖ Equipos

Para el trabajo se utilizaron los siguientes equipos:

- Balanza Gramera <sup>(1)</sup>: para el pesado de las hojas de *Allium ampeloprasum* (poro).
- Balanza Gramera <sup>(2)</sup>: para el pesado de las ratas albinas cepa Holtzman.
- Balanza Analítica: para el pesado de las concentraciones del Poro
- Estufa: para el secado de las hojas del Poro y obtención del extracto seco
- Rotavapor: para la concentración del extracto del Poro
- Plancha de calentamiento: para el secado de las placas cromatográficas
- Luz UV 254 y 366 nm: para ver las manchas y coloración.
- Centrifuga: para trabajar con el suero sanguíneo.
- Espectrofotómetro uv-vis

### ❖ Materiales

Se utilizaron los siguientes materiales:

- Alimento balanceado de la Universidad Agraria La Molina
- Viruta de pino procesada
- Jaulas de polipropileno con tapa de acero inoxidable.
- Jeringas de 1ml
- Material estéril de Laboratorio
- Papel Kraft
- Matraz Erlenmeyer

- Embudo de vidrio
- Papel filtro
- Tubos de ensayo
- Pipetas
- Fiolas de 50 ml
- Pera de bromo de 250 ml
- Estándar de Quercetina
- Estándar de Cafeína
- Fármaco de Atorvastatina de 10 mg (**Genfar**)

#### ❖ **Reactivos**

Para el trabajo se utilizaron los siguientes reactivos:

- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Reineckato
- Reactivo de Shinoda (magnesio + ácido clorhídrico concentrado)
- Reactivo de Cloruro Férrico
- Reactivo de gelatina al 1%
- Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger)
- Reactivo de Ninhidrina
- Reactivo de Fehling A
- Reactivo de Fehling B
- Reactivo de Lugol
- Reactivo 2,4 DNPH
- Reactivo Metanol : Agua (25:75)
- Reactivo BAW (Butanol : Agua : AAG) (4:3:1)
- Ácido sulfúrico 2 N

## **2.7 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.**

### **✓ ETAPA I**

El tamizaje fitoquímico, cromatografía en capa fina y ensayos preliminares así como también el estudio de la actividad dislipidémica de las hojas de *Allium ampeloprasum* (poro) se ejecutaron en los laboratorios de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia

#### **2.7.1- Secado de las hojas de *Allium ampeloprasum* (poro)**

Se procedió a separar las hojas de las ramas con cuidado y recolectarlas, se lavaron con agua destilada para quitarle toda la suciedad, luego se pone en papel Kraft para luego ser llevado a temperatura ambiente por una semana. Se pesó un total de 350 gramos de hojas del Poro.

#### **2.7.2- Extracción de las hojas de *Allium ampeloprasum* (poro)**

Una vez ya secas las hojas del Poro es colocada en un recipiente adecuado para verter el solvente de etanol-agua (70-30) con lo cual se va extraer los metabolitos que pueda tener, la muestra se macera por una semana (7 días) con agitación constante y protegidos de la luz para no alterar los metabolitos que pudieran tener.

Después del tiempo transcurrido la muestra de Poro es filtrada con papel Whatman #40, para no dejar pasar las hojas y si solo líquido para nuestros análisis posteriores.

#### **2.7.3.- Concentración de las hojas de *Allium ampeloprasum* (poro) en el rotavapor y extracto seco.**

Para el procedimiento del extracto seco se lleva el extracto filtrado al rotavapor, equipo que es utilizado para la evaporación del solvente; este equipo consta de una vasija de calentamiento donde ponemos el agua destilada, un brazo que sujeta el balón donde es depositada la muestra y al otro extremo un refrigerante que tiene una terminación para el recojo del alcohol en la muestra. Este trabajo es a una temperatura controlada que no debe de exceder los 50°, después de un tiempo transcurrido la muestra es llevada a la estufa a 40° para obtener el extracto seco en forma de melcocha (extracto seco).

La muestra es recolectada en envase protegido de la luz y guardada a temperatura de 2 a 8 °C hasta su utilización para la prueba de solubilidad y dosificación para la prueba de la actividad hipocolesterolemica.

#### **2.7.4 Tamizaje fitoquímico**

Estos ensayos se pueden verificar sobre la misma droga; en forma entera, pulverizada o como es más frecuente en extractos que se pudieron obtener de diferentes procedimientos de extracción de la planta y con diferentes solventes.

Son ensayos de tipo cualitativo que permiten la identificación de la droga a estudiar, es por lo general la presencia de determinados compuestos específicos derivados del metabolismo secundario de la planta.

También para los ensayos de metabolitos secundarios se les hace prueba pero van a hacer comunes a todas las plantas es por eso que carece de interés diagnóstico.

Las pruebas para el tamizaje fitoquímico comprenden reacciones de identificación (coloreadas, de precipitación, fluorescencia, microsublimación). El procedimiento es poner de 2 a 5 ml del extracto de *Allium ampeloprasum* (poro) en los tubos de ensayo para luego agregar de tres (03) a cinco (5) gotas de los reactivos para la identificación de los metabolitos.

#### **❖ Metabolitos Primarios**

##### **A.- Prueba para Azúcares.**

**Reactivo de Fehling A y B.-** A la muestra se le añade 5 ml de Fehling A y B y se lleva a baño maría la presencia de un precipitado anaranjado ladrillo nos da la presencia de azúcares reductores en la muestra.

##### **B.- Prueba para Almidón.**

**Reactivo de Lugol.-** A la muestra se le añade 3 gotas de Lugol si presenta una coloración oscura nos da la presencia de almidón en la muestra.

### **C.-Prueba para Cetonas.**

**Reactivo de 2,4 Dinitrofenilhidrazina (DNPH).**- A la muestra se le añade 1 gotas de DNPH si presenta un precipitado amarillo o naranja rojizo nos da la presencia de cetonas en la muestra.

#### **❖ Metabolitos Secundarios**

##### **A.- Prueba para Alcaloides:**

Para la prueba de identificación de alcaloides se hacen ensayos generales como son (Wagner, Dragendorff, Mayer y Reineckato) sobre el extracto de *Allium ampeloprasum* (poro)

**Reactivo de Wagner.**- (yodo-yoduro de potasio), da una coloración marrón cuando se agrega de 3 a 5 gotas.

**Reactivo de Dragendorff.**- (Yoduro de bismuto y potasio), da una coloración rojo a naranja cuando se adiciona unas 3 a 5 gotas a la solución acidulada del extracto.

**Reactivo de Reineckato.**- ( $\text{NH}_4 [\text{Cr} (\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]2\text{H}_2\text{O}$ ), da un precipitado floculante color rosa cuando se agrega de 3 a 5 gotas.

**Reactivo de Mayer.**- (Yoduro de mercurio y potasio), da una coloración blanca a crema cuando se adiciona unas 3 a 5 gotas a la solución acidulada del extracto

##### **B.- Prueba para Flavonoides y Compuestos Fenólicos:**

Las plantas sintetizan una amplia variedad de compuestos fenólicos durante crecimiento y desarrollo, estos compuestos productos de la ruta biosintética del ácido fenilpropanoico.

Es interesante señalar que este tipo de metabolitos por su estructura contiene a las antraquinonas, naftoquinonas y taninos, este último es condensado de un flavonoide como la antocianidina y si es hidrolizable de ácidos fenólicos.

**Reactivo de Shinoda.**- (Limaduras de magnesio + HCl concentrado), da coloraciones amarillas a rojas (flavonas y flavonoles), si la coloración es rojo a magenta (flavanonoles),

si son coloraciones rojo, violeta o azul (flavanonas), si son amarillos (isoflavonas), si esta no presenta coloración pueden ser isoflavononas, chalconas y auronas.

**Reactivo de Cloruro Férrico.-** (Cloruro férrico disuelto en agua), darán coloraciones azul, verde o negra cuando se agrega de 3 a 5 gotas, prueba general.

**Reactivo de Gelatina al 1%.-** (Gelatina + cloruro de sodio), da un precipitado blanco cuando se agrega de 3 a 5 gotas, prueba para taninos.

**Reactivo de Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger).-** Da una coloración roja al agregar de 3 a 5 gotas, prueba para identificar la presencia de Antraquinonas y Naftoquinonas.

### **2.7.5.- Prueba de Cromatografía en capa fina (CCF)**

Son técnicas analíticas simples, se puede realizar con muy poca muestra, es una técnica ampliamente usada en los controles de toda clase de productos naturales.

También puede ser empleado como ensayo semicuantitativo comparando las intensidades de las manchas visualizadas con patrones adecuados.

La detección de los compuestos separados generalmente se realiza por métodos generales o específicos, la luz UV permite detectar sustancias que absorben a la longitud de onda larga 365nm y de onda corta a 254 nm.

#### **A.- Cromatografía en capa fina para Alcaloides**

Para la prueba de cromatografía en capa fina para alcaloides se usó la placa cromatografica de la marca Merck (TLC Silica gel F<sub>254</sub>) como fase estacionaria, para la fase móvil se usó el diluyente de elución de Metanol: Agua en proporción de (25:75) respectivamente.

Para la comparación se usó un estándar de Cafeína en concentración de 10 mg/ ml el cual se inyectoro 5 µl, caso similar con la muestra de *Allium ampeloprasum* (poro). En la placa cromatografica se aplica 5 µl del estándar y de muestra y una vez terminada la corrida se seca la placa en la plancha de calentamiento hasta evaporar todo el solvente, caso seguido se evidencia las manchas de desplazamiento en la luz UV 254 nm. Para la identificación de alcaloides en la muestra se rocía ácido sulfúrico al 2 % y luego el reactivo de Dragendorff, como revelador, para una evidencia positiva se tiene que ver manchas naranjas.



La muestra de *Allium ampeloprasum* (poro), dio positivo para alcaloides.

### **B.- Cromatografía en capa fina para Flavonoides**

Para la prueba de cromatografía en capa fina para alcaloides se usó la placa cromatografica de la marca Merck (TLC Silica gel F254) como fase estacionaria, para la fase móvil se usó el solvente de elución de Butanol: Agua: Ácido acético glacial en proporción de (20:15:5) respectivamente, esta mezcla se colocó en una pera de bromo de 250 ml y se agito, se evidencia la formación de dos fases, la fase móvil es la menos densa.

Para la comparación se usó un estándar de Quercetina en una concentración de 10 mg/ ml el cual se inyectó 5 µl a la placa cromatografica, caso similar con la muestra de *Allium ampeloprasum* (poro)

En la placa cromatografica se aplica 5 µl del estándar y de muestra una vez terminada la corrida la muestra es secada en una plancha de calentamiento, hasta evaporación del solvente, se evidencia las manchas en la luz UV a 254 nm, y se usa como revelador el tricloruro de aluminio, para una muestra positiva es característico de manchas amarillas.

La muestra de *Allium ampeloprasum* (poro) dio positivo para flavonoides

### ✓ **Etapa II**

#### **2.7.6.-Actividad toxicológica y farmacológica:**

El presente trabajo tuvo como objetivo, **primero** la determinación de la Toxicidad Aguda Oral en ratas, para analizar si el extracto acuoso en estudio causa mortalidad o signos adversos en los animales de experimentación y **segundo** la determinación de la Actividad Hipocolesterolemica del extracto hidroalcoholico de *Allium ampeloprasum* "Poro".

En ambos ensayos la administración del extracto en estudio fue por la vía oral.

En la prueba de actividad hipocolesterolemica la muestra fue administrada mediante el empleo de una sonda nasogástrica a un total de 30 ratas distribuidas de la siguiente forma: tres niveles de dosis en 15 ratas albinas machos (250, 500 y 1000 mg/kg de peso corporal, previamente inducidas), 5 ratas control positivo, tratadas con el medicamento Atorvastatina a la dosis de 10 mg/kg (previamente inducidas) y 5 ratas hipercolesterolemicas (inducidas sin tratamiento), 5 ratas control negativo, animales normales, sin inducción alguna, todas de la cepa Holtzman.

### ✓ **Etapa III**

Se determinó la Toxicidad Aguda por vía oral en ratas, según Guía OECD – Test 423 (Método de Clases) y la determinación de la Actividad Hipoglicemiante por vía oral del extracto hidroalcoholico de *Allium ampeloprasum* “Poro” mediante la técnica citada en el Manual del Cytel y del modelo in vivo citado (7)

**Animales de experimentación:** Fueron usadas ratas albinas machos (cepa Holtzman) de 8 - 10 semanas de edad con un peso promedio de 220 - 240 g; provenientes de las instalaciones del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El proceso de cuarentena para la aclimatación a las condiciones ambientales y conductuales fue de cinco días.

El total de animales para todo el ensayo fueron distribuidos de la siguiente forma: un grupo de 3 ratas con una repetición y un control (total 9, 3 de cada grupo), para la prueba de toxicidad aguda oral y otros 6 grupos de 5 animales por cada tratamiento, con un grupo control positivo y uno control negativo, ratas normales (sin inducción), para el ensayo farmacológico.

## **2.8.- DOSIFICACIÓN Y TRATAMIENTO:**

### **Toxicidad Aguda Oral - Método de Clases (DL<sub>50</sub>):**

Se evaluó la Toxicidad aguda oral del extracto hidroalcoholico de *Allium ampeloprasum* “Poro”, que fue administrado oralmente de acuerdo con la guía OECD Test 423, mediante el uso de una sonda nasogástrica a dos grupos de tres ratas cada uno (un grupo con una repetición) y un grupo control (agua destilada).

Se realizaron observaciones diarias, buscando signos o síntomas de toxicidad o efectos adversos y mortalidad en los animales de experimentación. Además se hizo control visual del agua y alimento *ad libitum*.

La prueba incluyó un tratamiento del extracto acuoso con una repetición con la dosis de 2000 mg/Kg de peso corporal. El volumen de administración de la muestra diluida en agua destilada fue de 1 ml, al grupo control se le administró agua destilada. La mortalidad fue observada diariamente hasta los 14 días.

Luego de la administración de la dosis, se hizo un seguimiento a los animales para observar si hay mortalidad y si existen conductas anormales (como alteración en la actividad motriz, postración, depresión, irritabilidad) o presencia de signos de toxicidad (como salivación, convulsión, pilo erección, disnea, diarrea, entre otros).

Se realiza registros de peso corporal a los animales de experimentación, para evaluar si hay alteración de aumento o pérdida.

Los tratamientos y sus respectivos valores de concentración ensayados son detallados en la siguiente tabla:

**Tabla N. ° 1: Tratamientos de Experimentación con “Poro”**

<b>Dosis (mg / Kg rata)</b>	<b>N° de animales</b>	<b>Peso promedio por grupos (g)</b>
2000	3	223.94
2000 (repetición)	3	222.75
Control	3	228.63

Fuente: elaboración propia

**- Evaluación de la Actividad Hipocolesterolemica. -**

El ensayo comprendió un total de seis grupos de experimentación.

Los tratamientos y sus respectivos valores de concentración ensayados son detallados en la siguiente tabla:

**Tabla N. ° 2: Tratamientos de experimentación con PORO**

<b>Grupo</b>	<b>Animales</b>	<b>Dosis</b>
Control negativo	5	0
Hipercolesterolemicas sin tratamiento	5	0
Atorvastatina (Control positivo)	5	10 mg/kg
Dosis 1	5	250 mg/kg
Dosis 2	5	500 mg/kg
Dosis 3	5	1000 mg/kg

Fuente: elaboración propia

### **Determinación de la Actividad Hipocolesterolemica en ratas inducidas.**

Previo al inicio de la prueba, todos los animales seleccionados para el estudio fueron restringidos en su alimentación 24 horas antes del ensayo. Los animales fueron mantenidos en jaulas de polietileno con tapas de acero inoxidable que aloja el agua y alimento.

Se toman las muestras de sangre a todos los animales por el método de extracción retro orbital para las determinaciones basales en las lecturas de colesterol.

Luego se procede a la inducción de los grupos que se van a tratar, a excepción del grupo control negativo, con el Colesterol reactivo a la dosis de 60 mg/kg peso corporal por cinco días, para elevar los niveles de colesterol y triglicéridos en sangre., con los animales agrupados como se indica en la Tabla .

Con los animales ya inducidos o hipercolesterolemicos, se procede al inicio del tratamiento con el extracto hidroalcoholico del poro (*Allium ampeloprasum*) por 21 días. Se administra un volumen diario de 1 ml por cada dosis con el uso de una sonda nasogástrica, por 21 días.

Se registran los pesos corporales una vez por semana de las ratas de los tratamientos y controles respectivamente. Asimismo, se realiza la determinación de los perfiles de colesterol (mg/dl) de todos los animales en los días 7, 14 y 21.

- **Inducción de Hipercolesterolemia :**

El inductor fue el Colesterol Reactivo (maraca Sigma). Este fue administrado por vía oral en un volumen de administración de 1 ml, en función de la dosis de 60 mg/kg de peso corporal, disuelto en una solución de goma tragacanto al 2%, por cinco días.

Luego de este periodo, se selecciona un animal por cada grupo a los cuales se tomaron muestras sanguíneas para confirmar la inducción con valores mayores a 200 mg/dl de colesterol, considerados hipercolesterolemicos. Todos esos animales alcanzaron y superaron este valor.

TABLA N° 3.

Dosis (mg/Kg rata)	Numero de rata	Basal	7 días	14 días	21 días
Control negativo	1	55.23	54.22	57.89	52.14
	2	64.28	65.29	69.32	64.29
	3	36.59	38.24	43.78	45.36
	4	58.24	57.26	61.24	60.48
	5	41.29	47.48	42.58	41.84
	Promedio	51.13	52.50	54.96	52.82
	D.E.	11.71	10.22	11.54	9.58
Inducidos S/tratamiento	6	48.25	246.77	268.94	301.16
	7	56.71	234.86	255.78	298.75
	8	50.84	256.49	274.62	304.62
	9	60.15	241.83	277.52	312.86
	10	44.32	247.55	271.03	295.75
	Promedio	52.05	245.50	269.58	302.63
	D.E.	6.38	7.96	8.39	6.58
Control positivo	11	41.77	260.78	152.98	87.52
	12	43.85	243.77	144.92	76.51
	13	56.82	225.86	153.75	86.49
	14	55.77	234.77	131.25	65.72
	15	46.16	221.85	145.56	72.53
	Promedio	48.87	241.30	145.69	77.75
	D.E.	6.96	14.91	9.04	9.29
250	16	61.16	264.87	220.12	171.08
	17	62.73	254.81	231.66	189.64
	18	54.81	244.95	225.85	185.52
	19	56.82	256.92	227.53	178.95
	20	62.15	243.81	219.45	166.54
	Promedio	59.53	253.07	224.92	178.35
	D.E.	3.51	8.79	5.15	9.64
500	21	55.72	243.16	209.72	162.25
	22	54	250.04	212.87	158.94
	23	62.8	234.56	200.98	143.75
	24	43.16	241.07	214.94	152.37
	25	56.89	253.66	198.75	137.64
	Promedio	54.51	244.50	207.45	150.99
	D.E.	7.16	7.53	7.21	10.28
1000	26	43.33	251.98	197.63	110.87
	27	48.75	253.74	187.66	89.71
	28	42.74	243.96	190.45	105.36
	29	52.16	256.83	178.92	96.52
	30	57.83	260.15	182.35	102.36
	Promedio	48.96	253.33	187.40	100.96
	D.E.	6.31	6.09	7.27	8.15

Fuente: elaboración propia

- **Técnicas de extracción de sangre:**

Las muestras sanguíneas de los animales de experimentación en las determinaciones basal, y en los días 7 y 14 se obtuvieron por utilización del Método de sangrado del seno venoso retro orbital.

Esta técnica implicó punzar el seno venoso detrás del globo ocular. El sangrado del seno venoso orbital es un método útil para obtener óptimas muestras.

Al final de la prueba, la recolección se hizo por la Técnica de punción cardiaca, sedando a los animales con Halatal (Pentobarbital sódico), por vía intraperitoneal, para luego exponer el corazón y realizar la extracción.

### **Análisis bioquímico**

Las muestras sanguíneas extraídas se analizaron usando Kits comerciales de Colesterol total (CHOD – PAP) VALTEK diagnostics, para posteriormente evaluarlas en un Espectrofotómetro UV- vis., donde nos darán los valores esperados y analizarlos estadísticamente.

- **Condiciones de Ensayo:**

Las condiciones de temperatura, humedad y fotoperiodo en el tiempo de experimentación se registraron en los siguientes rangos: temperatura = 22 + 2°C; humedad = < 70 %; 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. El consumo de agua y alimento fue ad libitum.

## **2.9- ANALISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados obtenidos, en los diferentes tratamientos, se analizaron estadísticamente para evaluar el efecto del extracto hidroalcoholico del “Poro” sobre los diferentes tratamientos con niveles de significancia del 95% ( $p < 0.05$ ), las cifras fueron recogidas e ingresadas a una hoja de cálculo en MS-Excel 2010 para ser ordenados y analizados.

Los indicadores Colesterol total tuvieron una distribución normal, por tanto se aplicó la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA). Para los indicadores que presentaron diferencia significativa se realizó con test de comparación múltiple (Test de Tukey) para determinar si existen diferencias significativas entre ellas.

	<b>Control negativo</b>	<b>Inducidos S/tratamiento</b>	<b>Control positivo</b>	<b>250 mg/Kg de rata</b>	<b>500 mg/Kg de rata</b>	<b>1000 mg/Kg de rata</b>
	52.14	301.16	87.52	171.08	162.25	110.87
	64.29	298.75	76.51	189.64	158.94	89.71
	45.36	304.62	86.49	185.52	143.75	105.36
	60.48	312.86	65.72	178.95	152.37	96.52
	41.84	295.75	72.53	166.54	137.64	102.36
<b>Promedio</b>	<b>52.82</b>	<b>302.63</b>	<b>77.75</b>	<b>178.35</b>	<b>150.99</b>	<b>100.96</b>
<b>D. E.</b>	<b>9.58</b>	<b>6.58</b>	<b>9.29</b>	<b>9.64</b>	<b>10.28</b>	<b>8.15</b>

## Análisis De Varianza De Un Factor

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Control negativo	5	264.11	52.822	91.72772
Inducidos S/tratamiento	5	1513.14	302.628	43.29067
Control positivo	5	388.77	77.754	86.33683
250 mg/Kg de rata	5	891.73	178.346	92.89048
500 mg/Kg de rata	5	754.95	150.99	105.63365
1000 mg/Kg de rata	5	504.82	100.964	66.45103

1. Analisis de Varianza						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F <sub>exp</sub>	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	204726.8335	5	40945.36669	505.15	0.00	2.62
Dentro de los grupos	1945.32152	24	81.05506333			
Total	206672.155	29				

### Prueba de Hipótesis:

$H_0$  = Todos los grupos presenta igual promedio de colesterol

$H_a$  = Al menos un grupo presenta diferente promedio de colesterol

**Conclusión:** Como F mayor que  $F_{\text{critico}}$ , y con un nivel de confianza de 95, rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna.

## 2. Comparaciones Múltiples: Tukey (comparaciones de pares)

Si aceptáramos  $H_0$ , el procedimiento quedaría hasta aquí, como aceptamos la  $H_a$ , hacemos la prueba de tukey, donde los valores mayores que el HSD son los que hacen la diferencia.

Diferencia honestamente significativa		<b>HSD</b>	<b>16.79</b>
Multiplicador (Valor Q alfa de tukey)		Mul	4.17
Cuadrado de error medio (suma de cuadrados y grados de libertad dentro de los grupos)		Mse	81.06
Tamaño de cada uno de los grupos (número de elementos en cada grupo-cuenta)		n	5.00

**HSD 16.79**

	<b>Inducidos S/tratamiento</b>	<b>Control positivo</b>	<b>250 mg/Kg de rata</b>	<b>500 mg/Kg de rata</b>	<b>1000 mg/Kg de rata</b>
<b>Inducidos S/tratamiento</b>		224.87	124.28	151.64	201.664
<b>Control positivo</b>					
<b>250 mg/Kg de rata</b>					
<b>500 mg/Kg de rata</b>					
<b>1000 mg/Kg de rata</b>					

**CONCLUSION:** Con un nivel de confianza del 95%, Todas las dosis tienen actividad.



## CAPITULO III. RESULTADOS:

### 3.1.- PRESENTACION DE RESULTADOS

#### 3.1.1.-Screnning Fitoquímico (Tamizaje Fitoquímico)

Los resultados del Screnning fitoquímico se observan en la tabla 5:

Tabla N. ° 5: Screnning Fitoquímico

N°	Metabolitos	Reactivo de identificación	Reacción Positiva	Resultado
1.	Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco	(-)
		Wagner	Precipitado marrón	(+++)
		Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	(+++)
		Reineckato	Color floculante color rosa	(+++)
2.	Flavonoides	Shinoda	Color rojo tenue	(+)
3.	Compuestos Fenólicos	Cloruro férrico	Color verde	(+)
4.	Taninos	Gelatina al 1%	Precipitado blanco	(+)
5.	Naftoquinonas Antraquinonas	Reacción de Bortranger	Color rojo	(-)
6.	Saponinas	Formación de espuma	Estable por 15 minutos	(-)
7.	Aminoácidos	Ninhidrina	Color violáceo	(+++)
8.	Carbohidratos	Fehling A, Fehling B	Precipitado rojo ladrillo	(+++)
9.	Almidón	Lugol	Azul - violeta	(-)
10.	Aldehídos y cetonas	2,4 DNPH	Anaranjado rojizo	(++)

Fuente: elaboración propia

Donde:

- (-) La coloración o precipitado no se evidencia
- (+) La coloración o precipitado se evidencia poco
- (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente
- (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente

### 3.1.2.- Toxicidad aguda Oral

Durante la duración de la prueba, los parámetros ambientales registrados en el área donde se desarrolló la prueba corresponden a los siguientes:

Temperatura (°C): 20,5

Humedad (%): 68

Luz, Oscuridad: 12L: 12O

El extracto hidroalcohólico de (*Allium ampeloprasum*) (“Poro”) y el control no produjeron mortalidad en la dosis administrada con una repetición durante los 14 días de evaluación de este estudio. La DL50 por vía oral del extracto hidroalcohólico es mayor a 5000 mg de producto/Kg de peso corporal (> 5,0 g/ Kg).

**Resultados de la toxicidad aguda oral se observan en la tabla 7**

**Tabla N. ° 7:**

<b>Dosis (mg/Kg rata)</b>	<b>Mortalidad Muertos/Total</b>
2000	0/3
2000 (repetición)	0/3
Control	0/3

Fuente: elaboración propia

➤ **No hay toxicidad aguda.**

### 3.1.3.- Actividad Hipocolesterolemica:

De acuerdo con los resultados obtenidos la muestra analizada del extracto hidroalcoholico de *Allium ampeloprasum* “Poro” presenta Actividad Hipocolesterolemica en el modelo estudiado, a las dosis de 250, 500 y 1000 mg de muestra/Kg de peso corporal. Estos resultados son significativos en comparación con el control a las dosis ensayadas.

Los niveles de colesterol de los animales de todos los grupos fueron registrados semanalmente y la variación (expresado en porcentaje) fue reportado, como se observa en la siguiente tabla

**Tabla N. ° 8**

- **Colesterol (mg/dl)**

Grupo/Dosis	Basal	Día 7	Día 14	Día 21	Nivel de significancia
	Control negativo	51.13 ± 11.71	52.50 ± 10.22	54.96 ± 11.54	52.82 ± 9.58
Hipercolesterolemicas s/t	52.05 ± 6.38	245.50 ± 7.96	269.58 ± 8.39	302.63 ± 6.58	p > 0.005
Atorvastatina 10 mg/kg	48.87 ± 6.96	241.30± 14.91	145.69 ± 9.04	77.75 ± 9.29	* p < 0.005
250 mg/kg	59.53 ± 3.51	253.07 ± 8.79	224.92 ± 5.15	178.35 ± 9.64	* p < 0.005
500 mg/kg	54.51 ± 7.16	244.50 ± 7.53	207.45 ± 7.21	150.99 ± 10.28	* p < 0.005
1000 mg/kg	48.96± 6.31	253.33± 6.09	187.40± 7.27	100.96± 8.15	* p < 0.005

\* p < 0.005= Existen diferencias significativas con respecto al control (ratas hipercolesterolemicas)

Fuente: elaboración propia

De acuerdo con el porcentaje de Actividad Hipocolesterolemica, se encontró los siguientes valores:

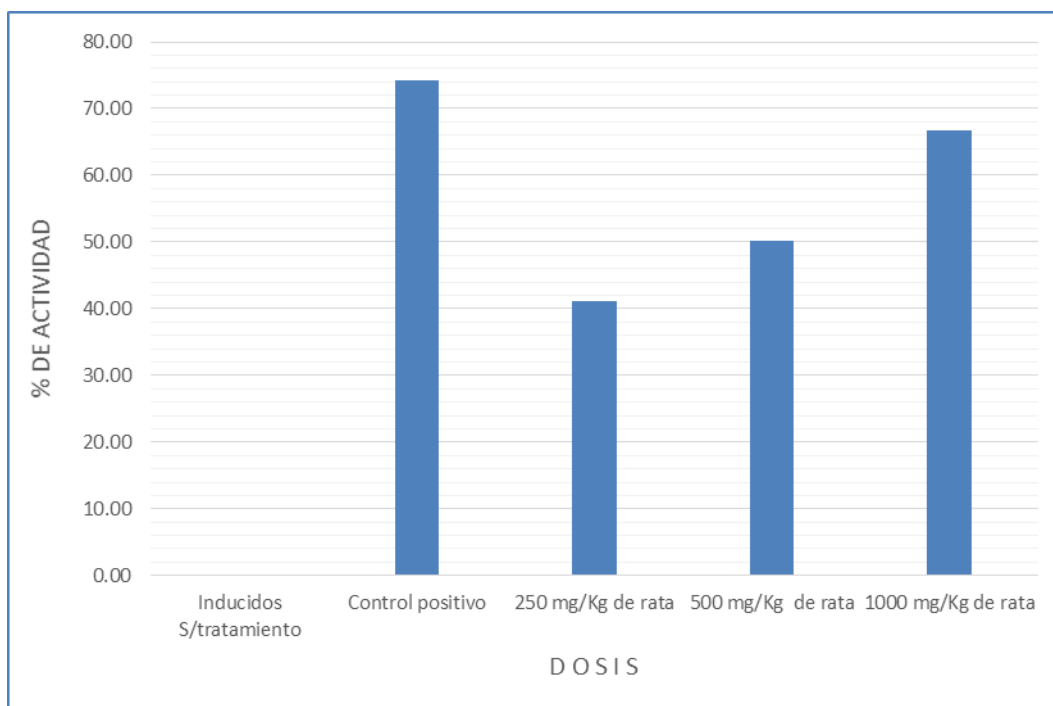
Observamos que existe Actividad Hipocolesterolemica en las tres dosis, con valores significativos con respecto al control.

**Tabla N° 9: % de Actividad Hipocolesterolemica**

DOSIS	% ACTIVIDAD
Inducidos S/tratamiento	0.00
Control positivo	74.31
250 mg/kg de rata	41.07
500 mg/kg de rata	50.11
1000 mg/kg de rata	66.64

Fuente: elaboración propia

**Figura N. ° 10: % de Actividad Hipocolesterolemica de Allium ampeloprasum “Poró” en ratas inducidas y tratadas**



Fuente: elaboración propia

La dosis de 1000 mg/kg de peso de la rata, es cercana a la acción hipocolesterolemica de la atorvastatina.

## CAPITULO IV. DISCUSIÓN.

En la actualidad, la medicina natural ha despertado el interés de la población y de los profesionales de la salud. La aparición de recientes investigaciones señala que los alimentos funcionales poseen Fito nutrientes, sustancias fisiológicamente activas, que reducirían la incidencia de enfermedades crónicas. El empleo de estos alimentos postula entre sus numerosos beneficios el precio y permitirá sustituir en el largo plazo los medicamentos aunque podrían ser utilizadas conjuntamente con los productos farmacéuticos para potenciar su acción o disminuir sus efectos colaterales<sup>24</sup>

Según los resultados obtenidos **en la tabla 8** del presente estudio se evidencia la reducción en los niveles de colesterol en el grupo control positivo Atorvastatina, grupo experimental 250 mg de extracto de poro, en el grupo de 500 mg y en la concentración de 1000mg, siendo esta última concentración la de mayor actividad en la hipercolesterolemia. **En la tabla 9** del presente estudio se evidencia que los niveles de reducción del colesterol luego del tratamiento aplicado en los grupos de ratas de muestra se puede observar que el grupo experimental de 1000mg. (grupo 6) fue el que más reducción de colesterol mostro durante el proceso experimental con un porcentaje de 66.64 % frente al control positivo con atorvastatina con 74.31%. El segundo grupo que mejor reducción mostró en el tratamiento del colesterol fue el de 500mg con un porcentaje de 50.11% y el tercer grupo de 250mg con un porcentaje 41.07 % menor que todos los demás grupos pero todos con una diferencia significativa en comparación al grupo control con 74.31%.

**Tocto Y, Vega (2017)** investigaron el Efecto del fruto de *solanumsessiliflorum* Dunal cocona en hiperlipidemia inducida en *Mus musculusvarswiss*, Luego de 24 h de administrar los tratamientos, se realizaron las mediciones de las concentraciones de colesterol y triglicéridos en el suero. Los niveles promedio de colesterol (mg/d) fueron: 100.47 blanco, 160.9 control ,102.83 problema I y 133.83 problema II.. Se encontró reducciones significativas ( $p < 0.05$ ) en las concentraciones de colesterol del grupo problema I en relación a las obtenidas en el grupo tratado solo con tritón también se evidencio una disminución de los niveles de triglicéridos pero estadísticamente no significativas.

Por otro lado **M. Ghasemiyanpour, H. Rasekh, F. Mojab (2017)**<sup>9</sup> Estudiaron el Efecto antihiperlipidémico del extracto de etanol de *Allium ampeloprasum* en ratas, teniendo en resumen el siguiente resultado: El régimen que contenía 50 mg / kg de extracto resultó en una reducción significativa en los niveles de CHO ( $57,00 \pm 2,25$  mg / dl vs  $107,80 \pm 3,54$  mg / dl),

LDL ( $22,00 \pm 2,07$  mg / dl vs  $35,80 \pm 1,98$  mg / dl) y CHO / HDL ( $1,44 \pm 0,07$  mg / dl frente a  $2,55 \pm 0,06$  mg / dl) en comparación con el grupo control ( $p < 0,05$ ); mientras que no hubo cambios significativos en el nivel de TG y HDL en comparación con el grupo de control ( $p > 0,05$ ). Conclusión: Los resultados mostraron que el extracto etanólico de *A. ampeloprasum* podría mejorar el perfil lipídico comparable con lovastatina en ratas. También se concluyó que la dosis de 50 mg / kg del extracto mostró la mayor eficacia,

Así mismo **Purnima D, Kazi L, (2013)**<sup>8</sup> en su investigación “Una revisión extensa sobre *Allium ampeloprasum*, Una hierba mágica”; teniendo como Resumen: El vegetal *Allium* se ha utilizado como medicina popular desde la antigüedad. El género *Allium* tiene más de 600 miembros que difieren en maduración, color y sabor; sin embargo, son similares en contenido bioquímico. *Allium ampeloprasum*, es una planta monocotiledónea del lirio familia (Liliaceae) y pertenece al género *Allium*. Tiene un sabor característico y rasgos morfológicos, por lo que debe considerarse como una de las hierbas medicinales populares. Un escrutinio de la literatura reveló algunas actividades farmacológicas notables de la planta, como papel antidiabético, hipolipidémico, antimicrobiano, eliminador de radicales libres y antiinflamatorio. Esta revisión intenta abarcar el literatura disponible sobre *Allium ampeloprasum* con respecto a sus caracteres farmacognósticos, usos etano botánicos y tradicionales, componentes químicos y resumen de sus diversas actividades farmacológicas y efectos clínicos.

## CAPITULO V.- CONCLUSIONES.

1. Se identificó que el extracto hidroalcoholico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro), presenta un efecto dislipidemico, ya que se identificaron principales metabolitos secundarios como: alcaloides, compuestos fenólicos y los flavonoides los cuales se le atribuye este efecto sobre la hipercolesterolemia, en los resultados se evidenciaron una disminución de los niveles de colesterol total, así mismo la disminución del peso corporal en las ratas siendo este significativo comparado con el grupo control ( $p < 0.05$ )
2. La administración del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) en 3 dosis diferentes en ratas inducidas a hipercolesterolemia, presentaron un efecto significativo en el tratamiento con dicho extracto, disminuyendo significativamente los valores del colesterol total en relación al grupo control positivo con atorvastatina.
3. La dosis dislipidemica efectiva del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Allium ampeloprasum* (Poro) es de 1000mg/kg con un porcentaje mayor a 66.6% comparado con la atorvastatina 10mg/kg (control positivo). Así mismo se evidencio un mayor efecto dislipidemico reduciendo los niveles de colesterol comparado con la dosis de 250 mg.

## CAPITULO VI. RECOMENDACIONES

- Promover la importancia del consumo del *Allium ampeloprasum* “Poro” ya sea como extracto a un dosis de 1000mg para tratamientos de reducción de peso y niveles de colesterol ya que se evidencio en el experimento esta concentración demostró mayor efecto dislipidemico.
- Se recomienda a los investigadores desarrollar otras técnicas experimentales para determinar y comprobar los resultados encontrados sobre el Poro en diferentes modelos experimentales para dar mayor sustento del efecto dislipidemico hallado en el presente estudio Comparar los procesos de extracción de los metabolitos activos del *Allium ampeloprasum* “Poro” para la obtención de una mejor calidad del extracto.
- Se debe evaluar la capacidad antioxidante y antibacteriana del *Allium ampeloprasum* “Poro” para darle más valor científico a esta planta.



## REFERENCIAS.

1. OMS. Enfermedades No Transmisibles y Enfermedades Cardiovasculares. [Hoja informativa]. Organización Mundial de la Salud. Ginebra [Citado 24/04/2021]
2. INEI. Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (ENDES) 2019. [Nota de prensa N°075], Lima 04 de junio 2020. Lima [Citado 24/04/2021]
3. Tocto Y. Vega F. Huamán K. Efecto del fruto de *solanum sessiliflorum* Dunal cocona en hiperlipidemia inducida en *Mus musculus* var. swiss [tesis] Perú 2017.
4. Carlos S. Huaman J. Efecto Dislipidémico Del Extracto Hidroalcohólico Del Fruto De La Caigua (*Cyclanthera Pedata*) En Conejos Inducidos A Hipercolesterolemia. [tesis] Perú 2018.
5. Cárdenas, A. Efecto hipolipidémico de la ingesta de *Allium sativum* (ajo) sometido a pardeamiento sobre la hiperlipidemia inducida por glutamato monosódico en ratas [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Nutrición; 2019.
6. Rojas Dávila A. Efectos del *Allium sativum*, ajo, en pacientes con dislipidemia en la ciudad de Huancayo. estudio preliminar. Revista Peruana de Medicina Integrativa. 2016; 1(4):11-5.
7. Arroyo J, Raez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga J, De la Cruz W, et al. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*zeamays l*) en ratas hipercolesterolémicas. RevPeruMedExp Salud Pública. 2007; 24(2): 157-162
8. Purnima D, Kazi L, An Extensive Review on *Allium ampeloprasum*, A Magical Herb (2013) Revista internacional de ciencia e investigación (IJSR) ISSN (en línea): 2319-7064. Department of Home Science, Calcutta University, 20B, Judges Court Road, Kolkata-27, India
9. M. Ghasemiyanpour, H. Rasekh, F. Mojab Estudiaron el Efecto antihiperlipidémico del extracto de etanol de *Allium ampeloprasum* en ratas, Research Journal of Pharmacognosy (RJP) 4 (Suplemento), 2017: 26, Primer Congreso de Farmacognosia iraní; 29-30 de noviembre de 2017. Facultad de Farmacia, Universidad de Ciencias Médicas Shahid Beheshti, Teherán, Irán. Disponible en : Available at: <http://rjpharmacognosy.ir>
10. Alpizar, V. Estudio Comparativo In Vitro De La Inhibición Bacteriana Del Ajo Elefante (*Allium ampeloprasum complex*) Y Ajo Negro (*Allium sativum*) SOBRE

Escherichia coli ATCC® 25922”.[Tesis] México: Universidad Autónoma Del Estado De México, Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia; 2020

11. Setah N, Ghedeir M, Falah H, Abdulrahman S & Mohammed A. Efectos Antihiperlipidémicos Y Antioxidantes Hepáticos Del Extracto De Metanol De Hoja De Puerro En Ratas Alimentadas Con Una Dieta Alta En Grasas, in vivo. (2020)13: 1 , 373-385, <https://doi.org/10.1080/26895293.2020.1792355>

12. Web consultas [Internet]. Allium ampeloprasum [consultado el 10 de abril 2021]. Disponible en: <https://www.tuberculos.org/bulbos/puerro/>.

13. consultas [Internet]. Allium ampeloprasum [consultado el 10 de abril 2021]. Disponible en <https://www.avogel.es/blog/beneficios-del-puerro-salud/>

14. consultas [Internet]. <https://www.extra.com.pe/medicina-natural/poro-protege-el-higado/>

15. Canalizo-Miranda E, Eddie Favela-Pérez A, Salas-Anaya J, Gómez-Díaz R, Jara-Espino R, Torres-Arreola L, Viniegra-Osorio A. Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2013; 51(6):700-9.

16. Magallanes M, Gallegos E, Carrillo A, Sifuentes D, Olvera M. Sobrepeso, obesidad y dislipidemias en población universitaria del noreste de México. Rev Inv. Educ en Enfermería. 2010; 28(1): 101-

17. Tarqui-Mamani C, Sánchez-Abanto J, Álvarez-Dongo D, Gómez-Guizado G, Valdivia-Zapana S. Tendencia del sobrepeso, obesidad y exceso de peso en el Perú. Rev Perú Epidemiol. 2013; 17(3):1-7.

18. Instituto Nacional de Salud. Encuesta Nacional de Indicadores Nutricionales, Bioquímicos, Socioeconómicos y Culturales Relacionados con las Enfermedades Crónicas Degenerativas. Lima: INS; 2006

19. Ministerio de Salud de Chile. Informe Final Estudio de Carga de Enfermedad y Carga Atribuible, Chile; 2007.

20. Finkelstein EA, DiBonaventura M, Burgess SM, eta al. The costs of obesity in the workplace. J Occup Environ Med 2010; 52 (10): 971-6

21. Michael H. Davidson, Trastornos Endocrinológicos y Metabólicos. Dislipidemias. MD, FACC, FNLA, University of Chicago Medicine Última modificación del contenido Dic. 2019 Manuales Merck. <https://www.msmanuals.com/es-pe/professional>

22. Vademécum Académico de Medicamentos. Atorvastatina: Hipolipemiantes-Propiedades Farmacológicas. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/>

23. Vidal Vademécum Spain, Indicaciones terapéuticas- Atorvastatina | Cochabamba, 24. 28016 Madrid, España. Disponible en: <https://www.vademecum.es/principios-activos-atorvastatina>

24 Mezarina G. Luigi, Efecto hipolipidémico de la cascara pulverizada de vitis vinífera variedad pinot noir (uva borgoña) en ratas con hiperlipemia inducida Universidad Nacional Mayor de San Marcos [tesis] 2015 Perú

# **ANEXOS**

**ANEXO 1: Matriz de Consistencia**

**“EFECTO DISLIPIDEMICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Allium ampeloprasum* “PORO” EN RATAS INDUCIDOS A HIPERCOLESTEROLEMIA”**

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
<p><b>GENERAL:</b></p> <p>¿El extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> “Poro” presentara efecto dislipidemico en ratas inducidos a hipercolesterolemia?</p> <p><b>ESPECIFICOS:</b></p> <p>¿El extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> “Poro” presentara efecto dislipidemico en ratas inducidos a hipercolesterolemia comparado con la atorvastatina?</p> <p>¿Cuál es la concentración del extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> “Poro” para disminuir la hipercolesterolemia?</p> <p>¿Cómo se determina la presencia de metabolitos secundarios que probablemente producen efecto dislipidemico en hipercolesterolemia en ratas inducidos?</p>	<p><b>GENERAL:</b></p> <p>Demostrar el efecto dislipidemico del extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> “Poro” en ratas inducidos a hipercolesterolemia</p> <p><b>ESPECIFICOS:</b></p> <p>Evaluar efecto dislipidemico del extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> “Poro” en ratas inducidos a hipercolesterolemia comparado con la atorvastatina</p> <p>Determinar la concentración del extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> “Poro” para disminuir la hipercolesterolemia</p> <p>Determinar la presencia de metabolitos secundarios probablemente responsables del efecto dislipidemico en hipercolesterolemia en ratas inducidos</p>	<p><b>GENERAL:</b></p> <p>Existe efecto dislipidemico del extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> “Poro” en ratas inducidos a hipercolesterolemia</p> <p><b>ESPECIFICOS:</b></p> <p>El extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> “Poro” tienen efecto dislipidemico superior a la atorvastatina en ratas inducidos a hipercolesterolemia</p> <p>Existe una concentración del extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> “Poro” que posee efecto dislipidemico sobre hipercolesterolemia</p> <p>Existen metabolitos secundarios probablemente responsables del efecto dislipidemico en hipercolesterolemia en ratas inducidos.</p>	<p><b>VI:</b></p> <p>Extracto hidroalcoholico de las hojas de <i>Allium ampeloprasum</i> “Poro”</p> <p><b>TOXICIDAD AGUDA</b></p> <p><b>VD:</b></p> <p>Efecto dislipidemico sobre hipercolesterolemia.</p>	<p>Análisis fitoquimico</p> <p>Efecto dislipidemico</p>	<p>Identificación de metabolitos secundarios</p> <p>Concentraciones al:</p> <p>100%</p> <p>50%</p> <p>25%</p> <p>Análisis Farmacológico</p> <p>Niveles de hipertrigliceridemia:</p> <p>triglicéridos y colesterol</p> <p>Rangos: Colesterol rata: 10-100 mg/dl</p> <p>Triglicéridos rata: 50-200 mg/dl</p> <p>Gramos de peso de la rata</p>	<p><b>*Diseño:</b></p> <p>Experimental</p> <p>Longitudinal</p> <p>Prospectivo</p> <p><b>*Tipo:</b></p> <p>aplicativo</p> <p><b>*Nivel:</b></p> <p>Descriptivo</p> <p>observacional</p> <p><b>*Población de muestra:</b></p> <p>30 ratas Holtzman</p> <p><b>*Instrumentos de recolección de datos</b></p> <p>Ficha de observación de datos.</p> <p>Se empleó el análisis de varianza ANNOVA y TURKEY.</p>

## ANEXO 2. Ficha Técnica del Reactivo



### COLESTEROL TOTAL (CHOD –PAP)

Reactivo líquido para la determinación fotométrica de Colesterol total en suero o plasma.

Para uso en el diagnóstico *In Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

#### SIGNIFICANCIA CLINICA

El colesterol se encuentra presente en la sangre, bilis y tejido cerebral. Es precursor de los ácidos biliares, esteroides, y vitamina D. Su determinación contribuye al diagnóstico y clasificación de las dislipidemias.

#### FUNDAMENTOS DEL METODO

El colesterol se determina por acción de las enzimas Colesterol ester hidrolasa y Colesterol oxidasa. La primera libera el colesterol de los ésteres de colesterol, y la segunda oxida el colesterol libre produciéndose peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de la enzima peroxidasa reacciona con el sistema cromogénico dando origen a un compuesto coloreado que absorbe a 505 nm.



#### REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C. y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Composición del Reactivo Enzimático:

Buffer Pipes pH 7.3	50 mM
Colesterol ester hidrolasa	>150 U/l
Colesterol oxidasa (recombinante)	>100 U/l
Peroxidasas	>1000 U/l
4-Aminoantipirina	0.4 mM
Ácido p-hidroxibenzoico	10 mM
Azida sódica	0.1 g/dL
Estabilizantes y preservantes no reactivos	c.s.

Preparación del Reactivo de Trabajo: El reactivo se provee listo para su uso. El reactivo con el tiempo puede tomar un leve color rosado que no afecta los resultados. Descartar el reactivo si su absorbancia contra blanco de agua es superior a 0.4 D.O. a 505 nm.

#### MUESTRA

Utilizar de preferencia suero o plasma (Heparina o EDTA) libre de hemólisis. La muestra debe tomarse con el paciente en ayunas. Los tubos y material de vidrio deben estar limpios y libres de residuos de detergentes. El colesterol es estable 7 días a temperatura ambiente y 6 meses en congelador.

#### MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Espectrofotómetro manual o automático o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 505 nm (rango 500 a 530 nm), baño termoregulado, cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

#### TECNICA

Llevar el reactivo a la temperatura que se realizará el ensayo. Las pipetas a utilizar deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

	Blanco	Calibrador	Muestra
Muestra (mL)	--	--	0.01
Calibrador (mL)	--	0.01	--
Reactivo (mL)	1.00	1.00	1.00

Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. ó 10 minutos a temperatura ambiente (>20°C.). Leer las absorbancias llevando a cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. El color resultante es estable por a lo menos treinta minutos.

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación.

#### CALIBRACION

- En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTROL-C (código 210-130), proceder de igual forma que con las muestras.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
  - El lote de reactivo cambia
  - Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
  - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

#### CALCULOS

Factor = $\frac{\text{Concentración Calibrador}}{\text{Abs. Calibrador}}$
Colesterol Total (mg/dL) = Factor x Abs. Muestra

#### CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para Colesterol total por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 210-100) y VALTROL-P (código 210-110).
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

#### ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION:

- Los volúmenes indicados pueden ser alterados proporcionalmente sin alterar los resultados.
- En el caso de sueros hiperlipémicos, deberá hacerse un blanco muestra con suero fisiológico para eliminar la posible interferencia por la turbidez del suero.

Valtek S.A. Av. Marathon 1943, Ñuñoa, Santiago de Chile / Tel. + (562) 654 1100  
Fax + (562) 654 1199 / www.valtekdiagnostics.com / info@valtek.cl

- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- Contiene Azida de Sodio 0.05% (Nº CAS 26628-22-8) No peligroso a esta concentración. No ingerir. En contacto con metales pesados, como tuberías de cobre o plomo, podría formar azida metal que es explosiva, elimine los residuos con grandes volúmenes de agua y/o de conformidad con las regulaciones locales.
- En autoanalizadores debe utilizarse contenedores de reactivos nuevos.

#### ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

-Linealidad: hasta 600 mg/dL.

Para valores superiores a 600 mg/dL, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

-Límite de detección: 1,0 mg/dL.

-Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0.0018 A

-Interferencias: Hemoglobina sobre 0,5 gr/dL, bilirrubina sobre 10 mg/dL y la lipemia (triglicéridos sobre 1000 mg/dL) podrían interferir en la técnica. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir (4).

-Exactitud: Los reactivos VALTEK no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

-Repetibilidad intraserie: n=20

Nivel	Media (mg/dL)	C.V.
Normal	95,1	1,21%
Patológico	155	1,1%

-Reproducibilidad interserie: n=20

Nivel	Media (mg/dL)	C.V.
Normal	97,8	1,89%
Patológico	172,85	1,87%

Estos datos han sido obtenidos utilizando un autoanalizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

- Certificado de Conformidad y Trazabilidad disponible a solicitud

#### RANGO DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

Suero: 140 a 200 mg/dL

#### PRESENTACIONES DISPONIBLES

CODIGO	CONTENIDO	
060-070	Reactivo Enzimático	2 x 50 mL
060-150	Reactivo Enzimático	4 x 50 mL
060-160	Reactivo Enzimático	1 x 250 mL
060-170	Reactivo Enzimático	2 x 250 mL
300070	Reactivo Enzimático	5 x 40 mL
200070	Reactivo Enzimático	5 x 40 mL

#### BIBLIOGRAFIA

1. Tietz N. (ed), Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1976.
2. Watson, D., Clin. Chem. Acta 5 (637), 1960.
3. Trinder, P., Ann Clin. Biochem. 6 (24), 1969.
4. Young D.S., effects of drugs on clinical laboratory tests, 4<sup>th</sup> ed. AACC Press, 1995.

REV Nº 2

## ANEXO 3: Certificado Sanitario



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

## CERTIFICADO

Lima, 05 de febrero del 2019

Mediante la presente se certifica que las 42 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Holtzman, machos con un promedio de peso de 230 g, adquiridos el 05 de febrero del 2019 por el bioterio de la UPCH, se encuentran en optimo estado sanitario y fisiológico para ser utilizado en cualquier protocolo biomédico.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,



Dr. CHRISTIAN PITOT ALVAREZ  
Jefe de Bioterio  
LEB - UPCH  
C.M.V. 8888



## ANEXO 4: Constancia de control de calidad



Servicio de Control de Calidad

Lima, 10 de abril del 2019

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

S.D

Mediante la presente se pone en conocimiento lo siguiente:

La Bachiller Srta. **Mendoza Chahuin Jessica Liz, Galarza Palacios Danitza Marilú**, egresada de la facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la prestigiosa Universidad Inca Garcilaso de la Vega; está haciendo su tesis de Investigación de "Efecto Dislipidémico del Extracto Hidroalcohólico de las Hojas de *Allium Ampeloprasum* (Poro) en Ratas Inducidas a Hipercolesterolemia" en los Laboratorios del Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,

Universidad Peruana Cayetano Heredia  
Servicio de Control de Calidad  
  
Q.S. Erick Olivares Gallegos  
COF P: 20522

Coordinador de Aseguramiento de la Calidad

---

UNIVERSIDAD ACREDITADA INTERNACIONALMENTE CON MENCIÓN ESPECIAL EN  
INVESTIGACION

---

Av. Honorio Delgado N° 430, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres / P.O. Box 4314, Lima 100

Central: (511) 319 - 0000 anexos: 2424 o 2427

e-mail: control\_calidad@oficinas.upch.pe

Página Web: www.upch.pe

## ANEXO 5: Resultado de Análisis Screening Fitoquímico



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Servicio de Control de Calidad

### INFORME DE ENSAYO

Producto : Extracto de Producto Natural Poro (*Allium ampeloprasum*)

Análisis Solicitado: Screening Fitoquímico

Fecha de Análisis: 2018-12-20

### Resultado de Análisis del Screening Fitoquímico

Identificación de Metabolitos Secundarios		
Metabolitos	Reactivo de Identificación	Forma de Reconocimiento
Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco
	Wagner	Precipitado marron
	Dregendorff	Precipitado rojo o naranja
	Reineckato	Color focalente color rosa
Flavonoides	Shinoda	Color rojo tenue
Compuestos Fenolicos	Cloruro ferrico	Color verde
Taninos	Gelatina al 1%	Precipitado blanco
Neftoquinones Antroquinones	Reaccion de Bortenger	Color rojo
Saponinas	Formacion de espuma	Estable por 15 minutos
Aminoacidos	Ninhidrina	Color violaceo
Carbohidratos	Fehling A, Fehling B	Precipitado rojo ladrillo
Almidon	Lugol	Azul - violeta
Aldehidus y cetonas	2,4 DNPB	Anaranjado rojizo

Universidad Peruana Cayetano Heredia  
Servicio de Control de Calidad

.....  
C.I. Erik Oñativu Gallegos  
COFP. 20522

Coordinador de Aseguramiento de la Calidad

UNIVERSIDAD ACREDITADA INTERNACIONALMENTE CON MENCIÓN ESPECIAL EN

INVESTIGACION

Av. Honorio Delgado N° 430, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres / P.O. Box 4314, Lima 100

Central: (511) 319 - 0000 anexos: 2424 o 2427

e-mail: control\_calidad @oficinas.upch.pe

Página Web: www.upch.pe

## ANEXO 6: Certificación Botánica



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

### CONSTANCIA N°392-USM-2018

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

La muestra vegetal (bulbo y hojas), recibida de **Jessica Liz Mendoza Chahuin y Danitza Marilu Galarza Palacios**; estudiantes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Allium ampeloprasum var. porrum*** ( L ) J. Gay.; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: LILIOPSIDA**

**SUB CLASE: LILIIDAE**

**ORDEN: LILIALES**

**FAMILIA: LILIACEAE**

**GENERO: *Allium***

**ESPECIE: *Allium ampeloprasum var. porrum* ( L ) J. Gay.**

Nombre vulgar: "Poro"

Determinado por : Blgo. Mario Benavente Palacios

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

Lima, 24 de octubre de 2018



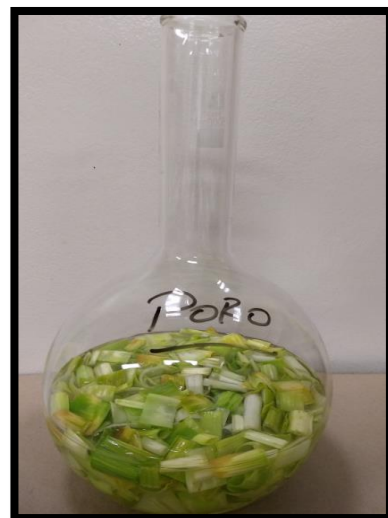
*Jasmin Opisso*  
**Blga. Jasmin Opisso Mejía**  
JEFA (E) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ddb

## ANEXO 7: Testimonios Fotográficos



**Fotografía 1: Planta de *Allium ampeloprasum* “poro”**  
*Fuente: Elaboración propia*



**Fotografía 2 y 3: pesado y macerado de las hojas de “poro”**  
*Fuente: Elaboración propia*



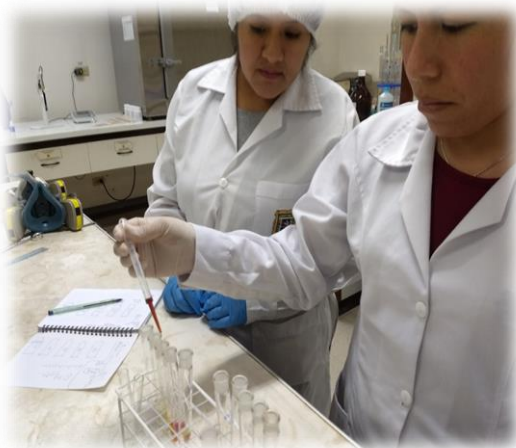
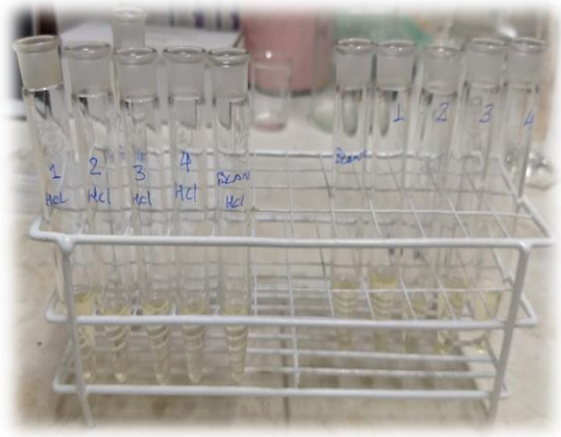
**Fotografía 4: La muestra macerada de las hojas de “poro”  
filtrada en el Rotavapor.**  
*Fuente: Elaboración propia*



**Fotografía 5: La muestra filtrada de las hojas de “poro” en la estufa.**  
*Fuente: Elaboración propia*

**Fotografía 6, 7, 8, 9 y 10: Screening Fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de “poro”**

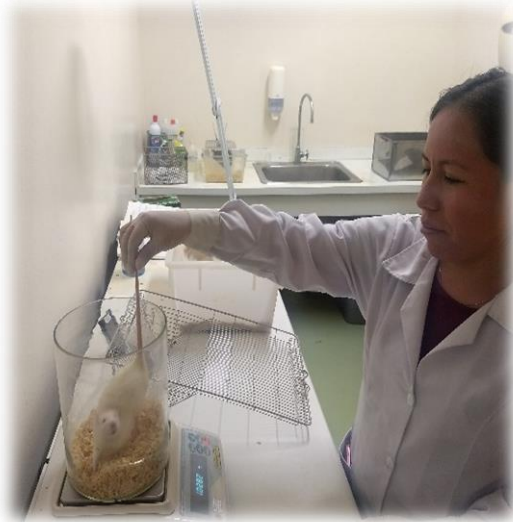
*Fuente: Elaboración propia*



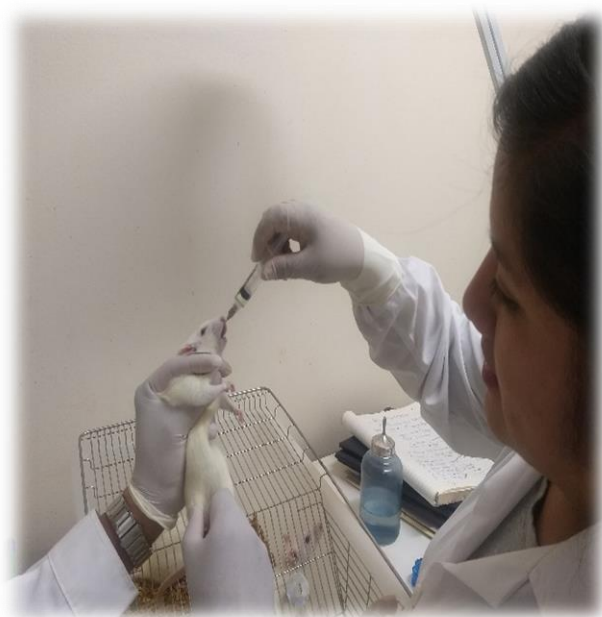
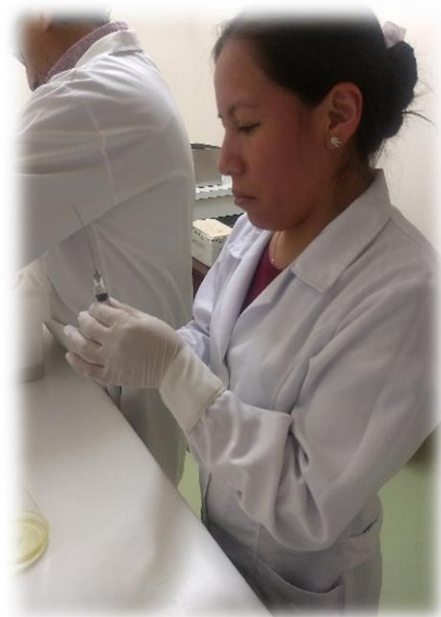
**Fotografía 11, 12, 13, 14, 15 y 16: Cromatografía en capa fina de las hojas de *Allium ampeloprasum* "poro" (Flavonoides y Alcaloides)**

*Fuente: Elaboración propia*





**Fotografía 17 y 18: Pesado de las ratas albinas cepa Holtzman**  
*Fuente: Elaboración propia*



**Fotografía 19 y 20: Inoculación del extracto de “poro”**  
*Fuente: Elaboración propia*





**Fotografía 21, 22, 23, 24 y 25: Proceso de sedación y extracción de sangre del corazón de las ratas**  
*Fuente: Elaboración propia*



**Fotografía 26, 27, 28 Y 29: Muestra sanguíneas extraídas evaluadas en el Espectrofotómetro UV-VIS**  
*Fuente: Elaboración propia*