Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0

UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Estudio de la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels "Nogal Peruano" realizado mediante ensayo preclínico

Presentado por:

SANCHEZ GAMBOA, MAYLY MARILU

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA.** El resultado obtenido es **1%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 11 de Junio de 2024

.....
Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

POJB/osad

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Título:

Estudio de la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “Nogal Peruano” realizado mediante ensayo preclínico

Línea de investigación

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

Autor:

BACH. Mayly Marilú Sánchez Gamboa

Ica - Perú

2024

DEDICATORIA

A Dios por brindarme la fuerza espiritual y física que necesitaba para progresar en esta conclusión de mi tesis.

Agradezco inmensamente a mis padres por ser el soporte esencial que me ayudó a superar los momentos difíciles. Mi capacidad para superar cada obstáculo se debe a que conté con el apoyo constante de mi familia. El éxito que he alcanzado hasta ahora, es un reflejo de su inestimable contribución.

AGRADECIMIENTOS

A Quisiera expresar mi profundo agradecimiento a la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, no solo por haberme abierto sus puertas, sino también por haber jugado un papel fundamental en mi formación profesional. La oportunidad que me brindó esta institución ha sido invaluable, y los conocimientos adquiridos allí han marcado un hito en mi desarrollo académico y personal.

De manera especial, quiero extender mi gratitud a mi asesora, Luz Chacaltana Ramos. Su orientación, apoyo intelectual y sabiduría han sido pilares esenciales en mi proceso de investigación. Sus enseñanzas, paciencia y consideración han sido un regalo invaluable en mi camino. Gracias por su incansable esfuerzo y por creer en mi potencial, guiándome con maestría y dedicación hacia el éxito de la tesis.

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADA		i
DEDICATORIA		ii
AGRADECIMIENTO		iii
ÍNDICE DE CONTENIDO		iv
INDICE DE TABLAS		v
INDICE DE FIGURAS		vi
RESUMEN		vii
ABSTRACT		viii
I.	INTRODUCCIÓN	9
II.	ESTRATEGIA METODOLÓGICA	14
III.	RESULTADOS	18
IV.	DISCUSIÓN	34
V.	CONCLUSIONES	35
VI.	RECOMENDACIONES	36
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
VIII.	ANEXOS	40

INDICE DE TABLAS

Tabla 01	Distribución de grupos para evaluación de la actividad gastroprotectora.	17
Tabla 02	Escala de Alada et al (2008) modificada Puntaje	18
Tabla 03	Marcha Fitoquímica preliminar.	19
Tabla 04	Actividad gastroprotectora de la especie *Juglans neotropica* Diels.	21

INDICE DE FIGURAS

Figura 01	Actividad gastroprotectora de la especie Juglans neotropica Diels	22

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels "Nogal Peruano".

Metodología. El estudio se realizó mediante un enfoque aplicado, experimental, en el que se estudió la especie vegetal *Juglans neotropica* Diels, que fue recolectada en el anexo de Santa Rosa de Acora distrito de Sangayaico, Provincia de Huancavelica, departamento de Huancavelica en el mes de enero 2023, luego del proceso esta fue seleccionada para separar las hojas que pusieran presentar insectos o indicios de enfermedades. Se procedió a lavarlas con agua destilada y luego se dejó secar bajo la sombra, tras lo cual se realizó el proceso de secado y molienda. La investigación se realizó en mediante un estudio en animales de experimentación, en el cual se indujo ulceras gástricas por etanol, el cual se trató con el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels, comparando su eficacia con el medicamento sucralfato.

Resultados. Se identificó varios metabolitos secundarios en la especie estudiada. Los resultados confirmaron la efectividad terapéutica de la especie en cuestión, demostrando su capacidad gastroprotectora. Se descubrió que el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels en una dosis de 30 mg/kg es significativamente eficaz, incluso en comparación con el sucralfato, un medicamento de referencia en el tratamiento.

Conclusión. El extracto de *Juglans neotropica* Diels posee actividad gastroprotectora.

Palabras clave: Gastroprotectora, *Juglans neotropica* Diels., terapéutica

ABSTRACT

Objective: Determine the gastroprotective activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of Juglans neotropica Diels “Peruvian Walnut”.

Methodology. The study was carried out through an applied, experimental approach, in which the plant species Juglans neotropica Diels was studied, which was collected in the annex of Santa Rosa de Acora district of Sangayaico, Province of Huancavelica, department of Huancavelica in the month of January 2023, after the process this was selected to separate the leaves that showed insects or signs of diseases. They were washed with distilled water and then left to dry in the shade, after which the drying and grinding process was carried out. The research was carried out through a study in experimental animals, in which gastric ulcers were induced by ethanol, which was treated with the hydroalcoholic extract of Juglans neotropica Diels, comparing its effectiveness with the medication sucralfate.

Results. Several secondary metabolites were identified in the studied species. The results confirmed the therapeutic effectiveness of the species in question, demonstrating its gastroprotective capacity. The hydroalcoholic extract of Juglans neo-tropica Diels at a dose of 30 mg/kg was found to be significantly effective, even in comparison with sucralfate, a reference drug in the treatment.

Conclusion. Juglans neotropica Diels extract has gastroprotective activity.

Keywords: Gastroprotective, Juglans neotropica Diels., therapeutic.

I. INTRODUCCIÓN

En años recientes, las plantas medicinales han adquirido un rol fundamental en la medicina, siendo un recurso clave para preservar la salud humana. A lo largo de la historia, las generaciones en distintas culturas han utilizado las plantas no solo para nutrición, sino también con fines terapéuticos. Esto se evidencia en la gran cantidad de medicamentos importantes que se han desarrollado a partir de principios activos extraídos de recursos naturales, lo que ha sido el fundamento para la creación de fármacos innovadores. Ejemplos notables incluyen la ipecacuana, la digital, la quinina, la pilocarpina, la atropina, la vincristina y la vinblastina, entre otros.

Las dispepsias, a lo largo de la historia han sido una de las principales causas de descompensaciones en la salud, solo en el año 2020, a causa de los tratamientos agresivos para tratar la COVID-19, empezó a hacerse notar con mayor fuerza, presentando los estragos típicos, ardor estomacal, espasmos postprandial, encontrando entre las principales causas de la patología, el desorden alimenticio, malos hábitos alimenticios, exceso de estrés, acciones que incrementan la secreción de los factores agresores estomacales como el ácido clorhídrico y la pepsina.

La motivación del desarrollo de este estudio está ligada a un impacto social post pandemia y una coyuntura nacional que suprime los ya escasos puestos laborales, extremando así un correcto habito alimenticio asociado a una carga de estrés que eleva la síntesis de factores agresivos en el aparato digestivo. Frente a ello nace la necesidad de evaluar tratamientos alternativos que se encuentren al alcance de la población, pero que demuestren eficacia terapéutica. Los ensayos preclínicos de laboratorio son una fuente veraz de resultados, que proporciona al investigador, los datos que constituyen el preámbulo de una nueva forma de tratamiento, conocido como medicina tradicional, la cual, durante la coyuntura del estado de emergencia sanitaria ha cobrado mucha fuerza en la comunidad científica, y aún continúa siendo el punto de partida de muchos estudios con fines de aplicación clínica.

Ante el desafío de esta problemática de salud pública y considerando la frágil cultura de la salud en esta región, se adopta una estrategia que, si bien aborda el tratamiento, no enfatiza adecuadamente la educación en la prevención, en gran parte debido a las particularidades culturales de la zona. Los habitantes recurren a la automedicación con diversos fármacos como antihistamínicos H2, inhibidores de la bomba de protones (IBP), antiácidos, entre otros, así como al uso de hierbas medicinales (1) para aliviar los síntomas de estas dispepsias, comúnmente denominadas gastritis. Por consiguiente, es crucial llevar a cabo investigaciones sobre la eficacia terapéutica de las especies vegetales autóctonas, en las cuales los peruanos depositan su confianza para recuperar la salud (2,3).

San Lucas (4) refiere que la dosis efectiva de citoprotección gástrica de extractos acuosos de malva en ulceras inducidas por alcohol en animales de experimentación" luego de realizar el estudio de evaluación de citoprotección gástrica frente al medicamento sucralfato como control positivo se llegó a la siguiente conclusión, el grupo control presento una eficacia de 97% de eficacia, mientras que el grupo tratado con Malva sylvestris y Pseudolavatera a dosis de 500mg/kg alcanzó una eficacia del 68%.

Rodríguez T. (5) sostiene en su investigación que la actividad gastroprotectora de la fracción butanólica obtenida de hojas de Capraria biflora L. es rica en compuestos fenólicos, poseedores de propiedades antiinflamatorias demostró actividad gastroprotectora, en el proceso inducido por indometacina, y comparado frente al fármaco Ranitidina logrando a una dosis de 200mg/kg, resultados positivos en comparación a la dosis empleada con los controles positivos.

Pizarro A. et al (6), refiere en su estudio referente a la evaluación de la actividad gastroprotectora de Matricaria recutita en ratas sprague Dawley, donde se evaluó la actividad gastroprotectora inducido por indometacina, del extracto de la especie Matricaria recutita, presenta una eficacia gastroprotectora a una concentración de 500 mg/kg concluyendo que la especie e estudio posee actividad gastroprotectora similar al fármaco control, ranitidina.

Hurtado P. (7), en el trabajo cuyo objetivo fue evaluar la acción gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de hojas de nogal, realizado con especie vegetal recolectada en la región de Áncash, llegó a la conclusión que la especie estudiada posee esta actividad.

Huachaca R. (8) en su estudio realizado en Ayacucho, cuyo objetivo fue verificar la eficacia gastroprotectora y antisecretora de los compuestos de los compuestos fenólicos del nogal, presento actividad gastroprotectora igual al 96.8% (8).

Alfaro A. (9) en la investigación cuyo propósito fue evaluar el efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de hojas de Nogal, llegó a la conclusión que el extracto empleado en dosis de 750 mg/kg logro un efecto de gastro protector del 85% superando al de la ranitidina (83.33%).

La justificación teórica de este estudio desde el punto de vista teórico, radica en que contribuye a nuevos conocimientos relacionados con la actividad gastroprotectora del Nogal Peruano, dado que existe escasa información teórica al respecto; desde el punto de vista práctico.

La motivación del desarrollo de este estudio está ligada a un impacto social post pandemia y una coyuntura nacional que suprime los ya escasos puestos laborales, extremando así un correcto habito alimenticio asociado a una carga de estrés que eleva la síntesis de factores agresivos en el aparato digestivo. Frente a ello nace la necesidad de evaluar tratamientos alternativos que se encuentren al alcance de la población, pero que demuestren eficacia mediado por estudios que lo demuestren.

Los ensayos preclínicos de laboratorio son una fuente veraz de resultados, que proporciona al investigador, los datos que constituyen el preámbulo de una nueva forma de tratamiento, conocido como medicina tradicional, la cual en el presente siglo y durante la coyuntura del estado de emergencia sanitaria ha cobrado mucha fuerza en la comunidad científica, y aún continúa siendo el punto de partida de muchos estudios con fines de aplicación clínica.

En este trabajo de investigación se plantearon las siguientes preguntas:

Problema General

¿Tendrá actividad gastroprotectora el extracto hidroalcohólico de las hojas de la especie de *Junglans neotropica* Diels "Nogal Peruano" realizado mediante ensayo PRE CLINICO?

Problema específico 1

¿Es factible realizar la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de la especie de *Junglans neotropica* Diels?

Problema específico 2

¿Presentará actividad gastroprotectora el extracto hidroalcohólico de la especie en estudio?

Problema específico 3

¿Es posible determinar el grado de efectividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de la especie de *Junglans neotropica* Diels frente a un medicamento comercial?

Asimismo, se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General

Determinar la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Junglans neotropica* Diels "Nogal Peruano"

Objetivo específico 1

Realizar la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico.

Objetivo específico 2

Evaluar el grado de eficacia de la actividad gastroprotectora

Objetivo específico 3

Realizar la comparación de la eficacia del extracto hidroalcohólico frente al medicamento sucralfato.

Se sometieron a prueba las siguientes hipótesis de investigación:

Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de las hojas de la especie *Junglans neotropica* Diels "Nogal Peruano" poseerá actividad gastroprotectora.

Hipótesis específica 1

El extracto hidroalcohólico no poseerá de metabolitos que pudiesen generar irritación gástrica.

Hipótesis específica 2

La actividad gastroprotectora será aceptable luego de ser evaluada en un ensayo preclínico.

Variables de investigación

Variable independiente

Extracto hidroalcohólico de las hojas de las hojas de *Junglans neotropica* Diels "Nogal Peruano".

Variable dependiente

Actividad gastroprotectora.

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

Tipo y diseño de investigación

Tipo de investigación.

La naturaleza de esta investigación es aplicada y experimental. Esto implica que el enfoque se centra en la aplicación práctica de los hallazgos y en la experimentación activa para obtener resultados concretos.

Nivel de investigación

El nivel adoptado es exploratorio. En este nivel, la investigación busca indagar y explorar fenómenos aún no muy estudiados o comprendidos, abriendo camino para futuras investigaciones más profundas.

Diseño de estudio.

Se ha empleado un diseño experimental este diseño permite manipular y controlar variables para observar sus efectos en condiciones controladas, facilitando así la identificación de relaciones causales entre las variables estudiadas.

Población y muestra

Población de estudio

La población de estudio estuvo conformada por individuos de la especie vegetal *Juglans neotropica* Diels, que fue recolectada en el anexo de Santa Rosa de Acora distrito de Sangayaico, Provincia de Huancavelica, departamento de Huancavelica.

Muestra de estudio

La muestra estuvo conformada por extractos a partir de las hojas de la especie vegetal *Juglans neotropica* Diels, que fue recolectada en el anexo de Santa Rosa de Acora distrito de Sangayaico, Provincia de Huancavelica, departamento de Huancavelica.

Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica de recolección de datos

La especie vegetal fue recolectada en el anexo de Santa Rosa de Acora distrito de Sangayaico, Provincia de Huancavelica, departamento de Huancavelica en los meses de enero 2023.

Luego del proceso esta fue seleccionada para separar las hojas que pusieran presentar insectos o indicios de enfermedades. A continuación, se procedió a lavarlas con agua destilada y dejarla a secar bajo la sombra, tras lo cual se realizó el proceso de secado y molienda.

- Preparación y tratamiento de la muestra

  Selección: Se inició seleccionando material vegetal en óptimas condiciones. Este fue la-

vado primero con agua potable y luego con abundante agua destilada, para eliminar cualquier resto de tierra y otras impurezas.

Desecación: Las hojas y tallos seleccionados se extendieron sobre papel Kraft, dispuestas de manera ordenada para facilitar un secado uniforme. El proceso de secado se llevó a cabo a temperatura ambiente durante una semana. Una vez secas al aire libre y a la sombra, las muestras se trasladaron al laboratorio donde se sometieron a un proceso de secado adicional en una estufa a una temperatura controlada de 35°C, utilizando calor seco.

Pulverización: Para obtener una muestra de granulometría uniforme, se empleó un molino mecánico. La muestra resultante, finamente triturada, se almacenó en frascos de boca ancha de color ámbar para protegerla de la luz y garantizar su conservación.

Marcha Fitoquímica:

Durante esta etapa de la investigación, se desarrolló la marcha fitoquímica preliminar, en la cual se procedió a evaluar la presencia de metabolitos presentes en diferentes solventes. Se desarrolló la separación en 5 fases, tras lo cual se procedió a la identificación de metabolitos que pudieran estar relacionados con la actividad terapéutica objeto del estudio.

Obtención de las fracciones

Maceración con Etanol: Se comenzó con 20 g de muestra seca y molida, la cual fue macerada con etanol durante 2 días. Luego, se sometió a reflujo durante 8 horas, se filtró y se obtuvo un volumen final de 50 ml de extracto. De este extracto, se separaron 10 ml para formar la Fracción A.

Se secaron 40 ml del extracto en un matraz Erlenmeyer que se había pesado previamente, bajo presión reducida. Posteriormente, se pesó de nuevo el matraz para calcular el peso del extracto seco mediante la diferencia de masa.

El extracto seco se trató luego con 10 ml de HCl 2% (v/v) a una temperatura de 50 ºC, asegurándose de que el volumen total no excediera los 15 ml. Después del tratamiento, se filtró el extracto resultando en dos fracciones:

a) Fracción Insoluble: Esta se lavó con agua destilada y se disolvió en diclorometano caliente. Luego de un filtrado adicional, el volumen se ajustó a 10 ml.

b) Fracción Soluble: Esta se neutralizó con NaOH o KOH al 10%, y se ajustó el pH con papel tornasol. Se realizó una extracción con diclorometano en dos porciones de 15 ml cada una, obteniendo dos fases:

- Fase Diclorometánica (Fracción C): Las fases orgánicas se unieron, se filtraron usando sulfato de sodio anhidro y se redujeron a un volumen de 10 ml.
- Fase Acuosa: Se añadieron 2 g de NaCl y se extrajo con una mezcla de diclorometano y etanol (3:2), lo que resultó en:
- Fase Orgánica (Fracción D): Las porciones de la mezcla de diclorometano y etanol se unieron, se filtraron usando sulfato de sodio anhidro y se redujeron a 10 ml.

Solución Acuosa (Fracción E): El volumen se ajustó finalmente a 10 ml.

Extracción con Agua Destilada (Fracción F): Se extrajo 1 g de muestra seca y molida con agua destilada en ebullición durante 10 minutos, se filtró y el volumen se ajustó a 10 ml.

Reacciones de Identificación de metabolitos secundarios 11

Fracción A

Para la identificación de los metabolitos secundarios en la Fracción A, se realizó un conjunto de reacciones específicas. Inicialmente, se tomó una muestra de 2 ml de esta fracción, la cual fue llevada a sequedad. El residuo obtenido se disolvió en 2 ml de agua destilada y tras filtrar la solución resultante, se procedió a realizar los ensayos correspondientes para detectar taninos y grupos fenólicos libres.

Para la detección de taninos, se implementó la reacción con gelatina. Se extrajo un volumen de 0.5 ml de la Fracción A y se le añadió una cantidad igual, 0.5 ml, de una solución acuosa de gelatina al 0.5%. La presencia de taninos se confirmaría si, al realizar esta mezcla, se observa la aparición de turbidez o un precipitado, indicando una reacción positiva.

En cuanto a la identificación de grupos fenólicos libres, se utilizó cloruro férrico como reactivo. Este proceso consiste en la interacción de la

solución con el reactivo, donde la aparición de cambios visibles en la solución puede indicar la presencia de estos compuestos fenólicos en la muestra analizada.

Para detectar la presencia de compuestos fenólicos en la fracción A de la muestra, se llevó a cabo un procedimiento delicado y revelador. Se inició con una pequeña cantidad, apenas 0.5 ml, de la fracción A. a esta muestra cuidadosamente medida, se le añadió una mínima cantidad, entre 1 y 2 gotas, de una solución acuosa de cloruro férrico al 0.5%. Este paso era crucial, pues el cloruro férrico actúa como un agente revelador en presencia de compuestos fenólicos.

Fracción B:

Para la Fracción B, se realizaron dos ensayos específicos con el objetivo de detectar la presencia de triterpenos, esteroides y antraquinonas.

Detección de Triterpenos y Esteroides:

Reacción de Liebermann-Burchard: Se tomó una muestra de 0.5 ml de la Fracción B. a esta se le añadieron 0.5 ml de anhídrido acético y una gota de ácido sulfúrico concentrado. La observación clave en este ensayo es el cambio de color, la aparición de tonalidades azules, verdes o naranjas indica una reacción positiva, sugiriendo la presencia de triterpenos y esteroides en la muestra.

Detección de Antraquinonas:

Reacción de Borntrager: Este ensayo comenzó con la extracción de 0.5 ml de la Fracción B. La muestra se mezcló suavemente con 5 ml de NaOH al 5%. Un resultado positivo se manifiesta por el desarrollo de un color rojo en la solución, lo cual señala la presencia de

antraquinonas.

Fracción C

Para la Fracción C. se realizaron pruebas específicas para detectar la presencia de triterpenos, esteroides y alcaloides.

Detección de Triterpenos y Esteroides:

Reacción de Liebermann-Burchard: Al igual que con la Fracción B, se aplicó la reacción de Liebermann-Burchard para la detección de triterpenos y esteroides. Se procedió de la misma manera que en los casos anteriores, observando cambios de color como indicadores de una reacción positiva.

Detección de Alcaloides:

Reacciones de Mayer, Hager y Dragendorff:

"Se inició el procedimiento tomando 2 ml de la Fracción C, la cual fue llevada a sequedad. Posteriormente, el residuo obtenido se reconstituyó en 5 ml de ácido clorhídrico al 1%, calentando la mezcla ligeramente hasta alcanzar 50 ºC. Esta solución fue utilizada para realizar las pruebas de Mayer, Hager y Dragendorff destinadas a detectar la presencia de alcaloides".

"En cada uno de los ensayos (Mayer, Hager y Dragendorff), se tomaron 0.5 ml de la solución y se añadieron gotas del reactivo correspondiente. La detección de alcaloides se considera positiva si, tras 10 minutos, se presenta turbidez o precipitación en cualquiera de los tres tubos de ensayo".

"En cuanto a la Fracción D, se realizaron ensayos específicos para identificar compuestos como triterpenos, esteroides, alcaloides y flavonoides.

Detección de Triterpenos y Esteroides:

Reacción de Liebermann-Burchard:

Se utilizó una muestra de 0.5 ml de la Fracción D, que se llevó a sequedad. El residuo se disolvió en 1 ml de diclorometano.

El procedimiento siguió los mismos pasos que se aplicaron en las fracciones anteriores, observando cambios de color como indicador de una reacción positiva. Detección de Alcaloides:

Reacciones de Mayer, Hager y Dragendorff:

Se procedió de manera similar a lo realizado en la Fracción C.

Se tomó una muestra de 2 ml de la Fracción D, se llevó a sequedad y luego se disolvió en 5 ml de etanol, calentando la mezcla a 50 °C.

Sobre estas soluciones se realizaron los ensayos para detectar alcaloides, utilizando 0.5 ml de la solución y añadiendo los reactivos correspondientes.

La presencia de alcaloides se confirma si se observa turbidez o precipitado en los ensayos.

Detección de Flavonoides Reacción de Shinoda:

Se extrajo 0.5 ml de la solución preparada y se le añadió 0.2 ml de ácido clorhídrico concentrado, junto con limaduras de magnesio.

Tras dejar reposar la mezcla durante 5 minutos, la aparición de un color rojo o rosado indica una reacción positiva, sugiriendo la presencia de flavonoides en la muestra.

Fracción E

Detección de Flavonoides:

Reacción de Shinoda:

Se extrajo una muestra de 0.5 ml de la Fracción E.

A esta muestra, se le añadió 0.2 ml de ácido clorhídrico concentrado, seguido de la adición de limaduras de magnesio.

La mezcla se dejó reposar durante 5 minutos.

La aparición de un color rojo o rosado en la solución indica una

reacción positiva, lo cual sugiere la presencia de flavonoides en la muestra.

Fracción F:

Detección: saponinas

Reacción: prueba de espuma

Se tomó 1 ml de la Fracción F y se colocó en un tubo de ensayo.

Se tapó el tubo y se agitó fuertemente durante 15 segundos.

Posteriormente, se midió la altura de la espuma formada en el tubo.

La reacción se considera negativa si la altura de la espuma es menor de 5 ml.

Obtención del extracto hidroalcohólico por el método de percolación10

Se seleccionó la técnica de la percolación, ya que es una técnica de extracción continua, hasta agotamiento, la misma que no concibe el uso de temperatura, evitando así la degradación de sustancias termolábiles que pudieran estar presentes es la especie vegetal.

Para ello se procedió a tomar la droga seca y molida almacenada, posteriormente se humecto la droga con etanol de 70° para elevar el tamaño celular, debido a la hidratación.

Luego de 2 horas se colocó la muestra en el percolador ya implementado, acto seguido se dejó macerar por 24 horas, verificando que no exista fuga de líquidos.

Se procedió a abrir la llave del percolador, y se regulo el flujo a una velocidad de 20 gotas por minuto, se procedió de la misma forma con el recipiente administrador de solvente, iniciando así la extracción continúa.

El proceso tomo 5 días obteniéndose 4.750 litros, los mismos que fueron colectados en frascos debidamente aislados de la luz. El siguiente paso consistió en la concentración del extracto para determinar su rendimiento, y posterior administración en las pruebas correspondientes en los biomodelos experimentales escogidos para este estudio. Estas fases fueron desarrolladas siguiendo el protocolo de trabajo y desarrollo de la presente investigación, la cual se ejecutará según el cronograma de trabajo.

Ensayo Preclínico

Determinación de la actividad gastroprotectora 12

En el ámbito de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNICA, se llevó a cabo la determinación de la actividad gastroprotectora como parte del ensayo preclínico. Este proceso comenzó con la preparación minuciosa de los animales de experimentación. Una semana antes

del inicio del experimento, se instaló a los animales en jaulas metálicas diseñadas para su aclimatación. Durante este período, se les proporcionó acceso constante a agua y alimento, garantizando así su bienestar. Además, se mantuvieron en un ambiente controlado con ciclos regulares de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, replicando el ciclo natural día/noche. Este enfoque buscaba preservar el ritmo biológico normal de los animales y asegurar la validez y consistencia de los resultados experimentales. La preparación y aclimatación de los animales en estas condiciones óptimas fue un paso fundamental para la realización de experimentos precisos y éticos en la investigación biomédica.

Modelo de inducción de úlceras gástricas por etanol de 96°

En el estudio, se empleó un modelo de inducción de úlceras gástricas utilizando etanol al 96%, aplicado a un grupo de 42 ratas albinas. Estas ratas, que pesaban entre 150 y 290 gramos, fueron cuidadosamente seleccionadas del bioterio del Instituto Nacional de Salud. Antes de comenzar el experimento, se alojaron en jaulas metálicas y se le sometió a un período de ayuno de 24 horas, aunque se les permitió acceso constante al agua.

El procedimiento para inducir las úlceras gástricas consistió en administrar a cada rata una dosis específica de etanol al 96%, calculada en base a su peso, siendo la dosis de 1 mL de etanol por cada 250 gramos de peso corporal. Esta administración se realizó en una sola ocasión.

Además, se preparó un tratamiento con sucralfato, un medicamento conocido por su eficacia en el tratamiento de úlceras gástricas, para ser utilizado como referencia. La dosis de sucralfato fue de 3 mL por kg de peso del animal, equivalente a 600 mg en 3 mL, y se administró en una única dosis.

La administración de los tratamientos se realizó por vía oral, utilizando una cánula orogástrica de metal o una sonda intragástrica número 10. Esta administración se llevó a cabo una hora antes de exponer a los animales al agente ulcerogénico, el etanol al 96%.

La metodología se detalla a continuación:

Distribución de grupos para evaluación de la actividad gastroprotectora Grupo	Animales	Tratamientos	Agente Ulcerogénico
A	14	Suero fisiológico 1 mL/250 g	Etanol 96° 1mL/250 g
B	14	Sucralfato 3 mL/kg	Etanol 96° 1mL/250 g
E	14	*Juglans neotropica* Diels 30 mg/kg	Etanol 96° 1mL/250 g

En la fase final del estudio sobre la inducción de úlceras gástricas con etanol al 96%, se procedió a la eutanasia de los animales de experimentación. Cuatro horas después de la administración del etanol, las ratas fueron sacrificadas utilizando una sobredosis de pentobarbital sódico (Halatal), un anestésico de uso veterinario, administrado por vía intraperitoneal. Este método se eligió para asegurar una terminación humanitaria y eficiente del experimento.

Tras el sacrificio, se llevó a cabo una laparotomía abdominal en cada animal para extraer cuidadosamente los estómagos. El objetivo principal de esta extracción fue evaluar el grado de daño sufrido por la mucosa gástrica debido a la exposición al etanol. Las principales variables consideradas para esta evaluación fueron la presencia de edema y hemorragia en la mucosa. La magnitud de las lesiones observadas se calificó utilizando una escala de puntaje observacional: 0 para lesiones ausentes, 1 para lesiones leves, 2 para lesiones moderadas y 3 para lesiones severas. Para una comprensión más detallada y cuantitativa del daño, se calculó el índice promedio de lesiones, así como el porcentaje de inhibición de las lesiones gástricas. Estos cálculos se basaron en las Escalas de Alada et al. (2008), modificadas para este estudio en particular, tal como se muestra a continuación:

Escala de Alada et al. (2008) modificada	Características
0	Normal
1	"Leve (úlceras puntiformes < 1 mm o microhemorragias)"
2	"Moderada (2 o más úlceras hemorrágicas pequeñas)"
3	"Severa (úlceras grandes > 2 mm de diámetro)"

III. RESULTADOS

3.1. Marcha fitoquímica preliminar

Tabla 1. Resultados de la Fracción A

Metabolito	Reacción	Resultado	Observación
Taninos	Sol. de Gelatina	+	Turbidez
Grupos fenólicos libres	Sol. De FeCl3	+	Coloración verde oscuro

Leyenda:

(+) Reacción Positiva (-) Reacción Negativa

Tabla 2. Resultados de la Fracción B

Triterpenos y Esteroides	Lierbermann y Burchard	+	Coloración Azul
Antraquinonas	Borntrager	+	C olor rojo

Leyenda:

(+) Reacción Positiva (-) Reacción Negativa

Tabla 3. Resultados de la Fracción C

Alcaloides	Dragendorff	+	Precipitado Rojo
	Mayer	+	Precipitado blanco
	Wagner	+	Precipitado marrón
	Hager	+	Precipitado amari-llo
Triterpenos y	Lierbermann y Burchard	+	Coloración Azul
Esteroides			

Leyenda:

(+) Reacción Positiva (-) Reacción Negativa

Tabla 4. Resultados de la Fracción D

Flavonoides	Shinoda	+	Coloración rojiza
Alcaloides	Dragendorff	+	Precipitado Rojo
	Mayer	+	Precipitado blanco
	Wagner	+	Precipitado marrón
	Hager	+	Precipitado amarillo
Triterpenos y	Lierbermann y Burchard	+	Coloración Azul
Esteroides			

Leyenda:

(+) Reacción Positiva (-) Reacción Negativa

Tabla 5. Resultados de la Fracción E

Flavonoides	Shinoda	+	Coloración rojiza
FRACCION F			
Saponinas	Prueba de Espuma	-	----------

Leyenda:

(+) Reacción Positiva (-) Reacción Negativa

Tabla 6. Actividad gastroprotectora de la especie *Juglans neotropica* Diels

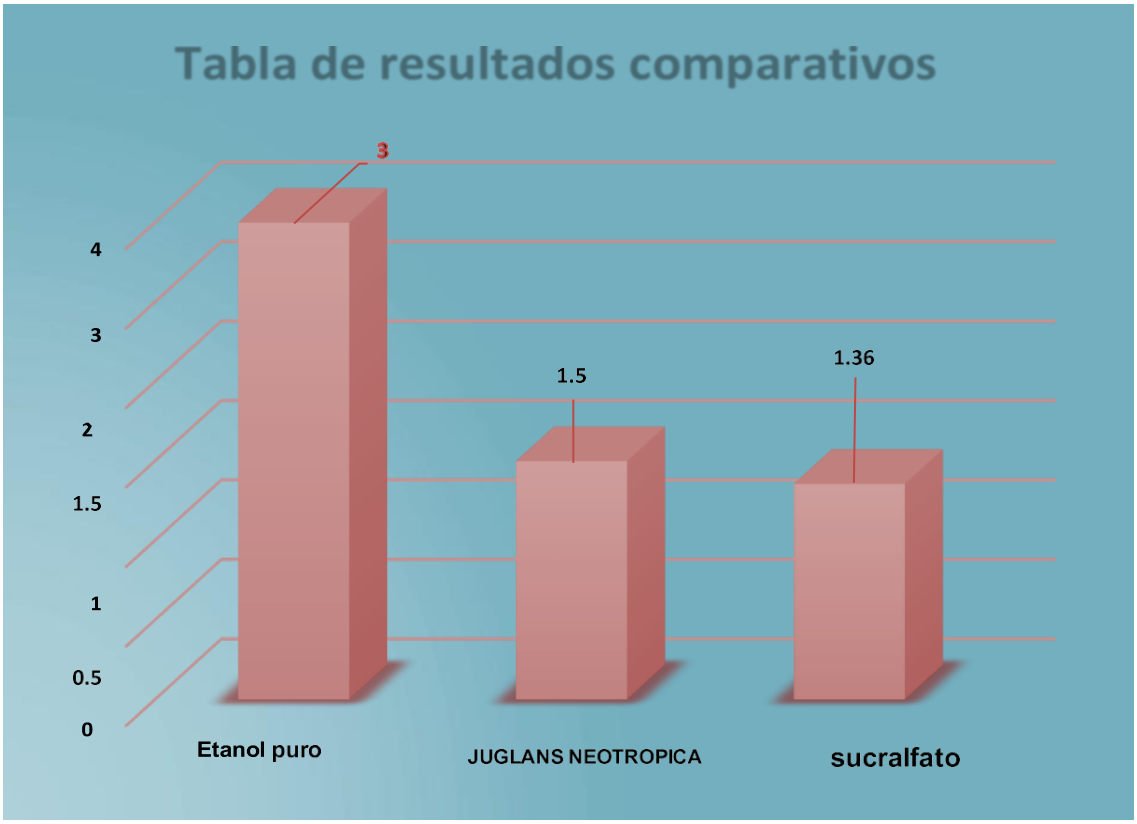
	Etanol puro	*Juglans neotropica* Diels	Sucralfato
Animal 1	3	1	1
Animal 2	3	2	1
Animal 3	3	1	1
Animal 4	3	2	1
Animal 5	3	2	1
Animal 6	3	1	2
Animal 7	3	1	1
Animal 8	3	1	2
Animal 9	3	2	1
Animal 10	3	2	1
Animal 11	3	1	2
Animal 12	3	2	2
Animal 13	3	1	1
Animal 14	3	2	2
Valor obtenido	3	1.5	1.36

Fuente: El Autor

Resultado

El grupo tratado solo con el agente irritante presento un nivel de agresividad severa. El grupo tratado solo con el extracto de *Juglans neotropica* Diels presento un nivel intermedio entre leve y moderada. El grupo tratado solo con el fármaco sucralfato presento un nivel de agresividad ligeramente más elevada que el nivel leve.

Figura 01. Actividad gastroprotectora de la especie *Juglans neotropica* Diels



IV. DISCUSIÓN

Después de completar el proceso experimental y llevar a cabo el análisis fitoquímico de la especie *Juglans neotropica* Diels, se logró identificar una gama de metabolitos secundarios presentes en la planta. Los resultados del screening fitoquímico revelaron la presencia de diversos compuestos bioactivos, incluyendo triterpenos y esteroides, alcaloides, flavonoides, grupos fenólicos libres y taninos. Además, se confirmó positivamente la presencia de compuestos tipo terpenos y saponinas. Esta identificación de principios activos no solo corrobora la riqueza fitoquímica de *Juglans neotropica* Diels, sino que también se alinea con los hallazgos de investigaciones anteriores. Los compuestos detectados en este estudio son consistentes con los identificados en trabajos previos, lo que refuerza la relevancia de esta especie en estudios farmacológicos y su potencial para el desarrollo de tratamientos basados en principios activos naturales. Estos descubrimientos abren nuevas vías para explorar las aplicaciones terapéuticas de *Juglans neotropica* Diels en el campo de la medicina natural y complementaria.

La actividad gastroprotectora de la especie *Juglans neotropica* Diels, presenta una eficacia terapéutica demostrada en ensayos con animales de experimentación, paralelamente comparados con un fármaco de uso comercial prescrito por médicos (Sucralfato) para el tratamiento de ulceras y gastritis. Un efecto con un alto grado de semejanza al encontrado en la investigación de Dawley Pizarro A. et al (2012) Evaluación de la actividad gastroprotectora de Matricaria recutita en ratas sprague donde concluyó que la especie y estudio posee actividad gastroprotectora similar al fármaco control, ranitidina. (Tabla N° 3)

El estudio presento un porcentaje de eficacia similar al fármaco empleado como control, frente al que se evaluaría la eficacia del extracto hidroalcohólico de la *Juglans neotropica* Diels. Resultados que se asemejan a los encontrados en la investigación de San Lucas D. (2019) denominada, Dosis efectiva de cito protección gástrica de extractos acuosos de malva en ulceras inducidas por alcohol en animales de experimentación. donde concluyó, el grupo control presento una eficacia de 97% (Figura 1) de eficacia, mientras que el grupo tratado con Malva sylvestris y Pseudolavatera a dosis de 500mg/kg alcanzó una eficacia del 68%.

V. CONCLUSIONES

- Se determinó que el extracto hidroalcohólico de la especie *Juglans neotropica* Diels "Nogal Peruano" posee actividad gastroprotectora.

- En la fase de análisis del extracto hidroalcohólico, se llevó a cabo la determinación de los metabolitos secundarios presentes en la muestra. Mediante técnicas de análisis fitoquímico, se logró identificar una variedad de compuestos bioactivos en el extracto. Los metabolitos secundarios identificados incluyeron taninos, flavonoides, alcaloides, triterpenos y esteroides.

- Se determinó que el grado de eficacia gastroprotectora extracto hidroalcohólico de la especie *Juglans neotropica* Diels es similar al producido por el fármaco sucralfato, habiendo presentado niveles de irritación intermedio, entre leve y moderado.

- Se determinó que el grado de eficacia de protección gástrica del extracto hidroalcohólico de la especie *Juglans neotropica* Diels frente al fármaco Sucralfato es inferior, presentando una eficacia cercana al medicamento.

VI. RECOMENDACIONES

- Es fundamental continuar con investigaciones en medicina natural, enfocándose en estudios de control de calidad que incluyan aspectos fisicoquímicos, microbiológicos y evaluación de la estabilidad de los productos derivados de las plantas.

- Se recomienda realizar estudios en distintas partes de la planta, tales como inflorescencias y raíces, para evaluar la actividad farmacológica de cada uno de estos componentes y ampliar el conocimiento sobre sus posibles aplicaciones terapéuticas.

- Sería beneficioso llevar a cabo investigaciones fitoquímicas y biológicas con diferentes variantes de *Juglans neotropica* Diels recolectadas en distintas ubicaciones, climas y en diferentes épocas del año, para fortalecer el respaldo científico y entender mejor la diversidad de compuestos presentes.

- Se sugiere motivar a los estudiantes a continuar con investigaciones fitoquímicas en el ámbito de la medicina alternativa, especialmente considerando que los resultados obtenidos en este estudio han sido prometedores. Se destaca la importancia de explorar la riqueza de flora en el territorio peruano, aprovechando la biodiversidad para el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos y el avance científico en el sector de la salud.

VII. **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Palacios J. Plantas Medicinales Nativas Del Perú. Lima-Perú. Concytec,2006. 1era Edición. Vol. 1 2006: 57-65
2. Chávez Hernández Abel. Farmacología General. McGraw-Hill 2014. 1°Edicion.Fito farmacología vol. 3: 89-113
3. García J, Gaomez A. Fisiopatología de la ciclooxigenasa-1 y ciclooxigenasa-2. El sevier. Páginas 33-35. Disponible en: https://www.elsevier.es/es-revista- revista-espanola- reumatologia-29-articulo-fisiopatologia-ciclooxigenasa-1- ciclooxigenasa-2-8546.
4. San Lucas D. Dosis efectiva de citoprotección gástrica de extractos acuosos de malva en ulceras inducidas por alcohol en animales de experimentación. Repositorio Universidad de Guayaquil, facultad de ciencias químicas. Ecuador. 2019 disponible en: https://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/43782
5. Mastrapa T. Actividad gastroprotectora de la fracción butanólica obtenida de hojas de Capraria biflora L. AG. Tesis de Diploma [Internet]. Edu.cu. [citado el 15 de enero de 2024]. Disponible en: https://dspace.uclv.edu.cu/server/api/core/bitstreams/8beda2eb-65d4-4026- 9cca-6d64e53d3f50/content
6. Pizarro A. Evaluación de la actividad gastroprotectora de Matricaria recutita en ratas sprague Dawley). Revista electrónica de veterinaria, REDVET. ISSN1695-7504. Vomumen 13 N° 8.2012. Disponible en:https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja &uact=8&ved=2ahUKEwjs4pGroP37AhWuHLkGHXV8CtwQFnoECAwQAQ&url =https%3A%2F%2Fwww.redalyc.org%2Fpdf%2F636%2F636244290005.pdf&us g=AOvVaw2Fu5DTaQCq8hSYiam0foqv
7. Hurtado P. Evaluación de la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de Juglans neotropica diels “Nogal peruano” Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima- Perú. 2014. Disponible en: [citado el 15 de enero de 2024]. cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3748
8. Huachaca R. Actividad Gastroprotectora y antisecretora de los compuestos de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de Juglans neotropica Diels “nogal”. Universidad nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho 2017. [citado el 15 de enero de 2024]. Disponible en: https://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4149
9. Alfaro A. Efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de Juglans neotropica Diels (Nogal) en Rattus rattus var. Albinus con úlceras gástricas inducidas por indometacina [Internet]. Bibliotecavirtualoducal.uc.cl. [citado el 15 de enero de 2024]. Disponible en: http://bibliotecavirtualoducal.uc.cl/vufind/Record/oai:localhost:123456789-1548951
10. Miranda, M. Métodos De Análisis De Drogas Y Extractos. 1era. Edición. Universidad De La Habana Cuba. Instituto De Farmacia Y Alimentos, 2002: 25-49
11. Canahualpa L. León L. Elaboración de un gel con actividad antiinflamatoria a partir del extracto etanólico de la especie cydonia oblonga mill (membrillo) en la facultad de farmacia y bioquímica

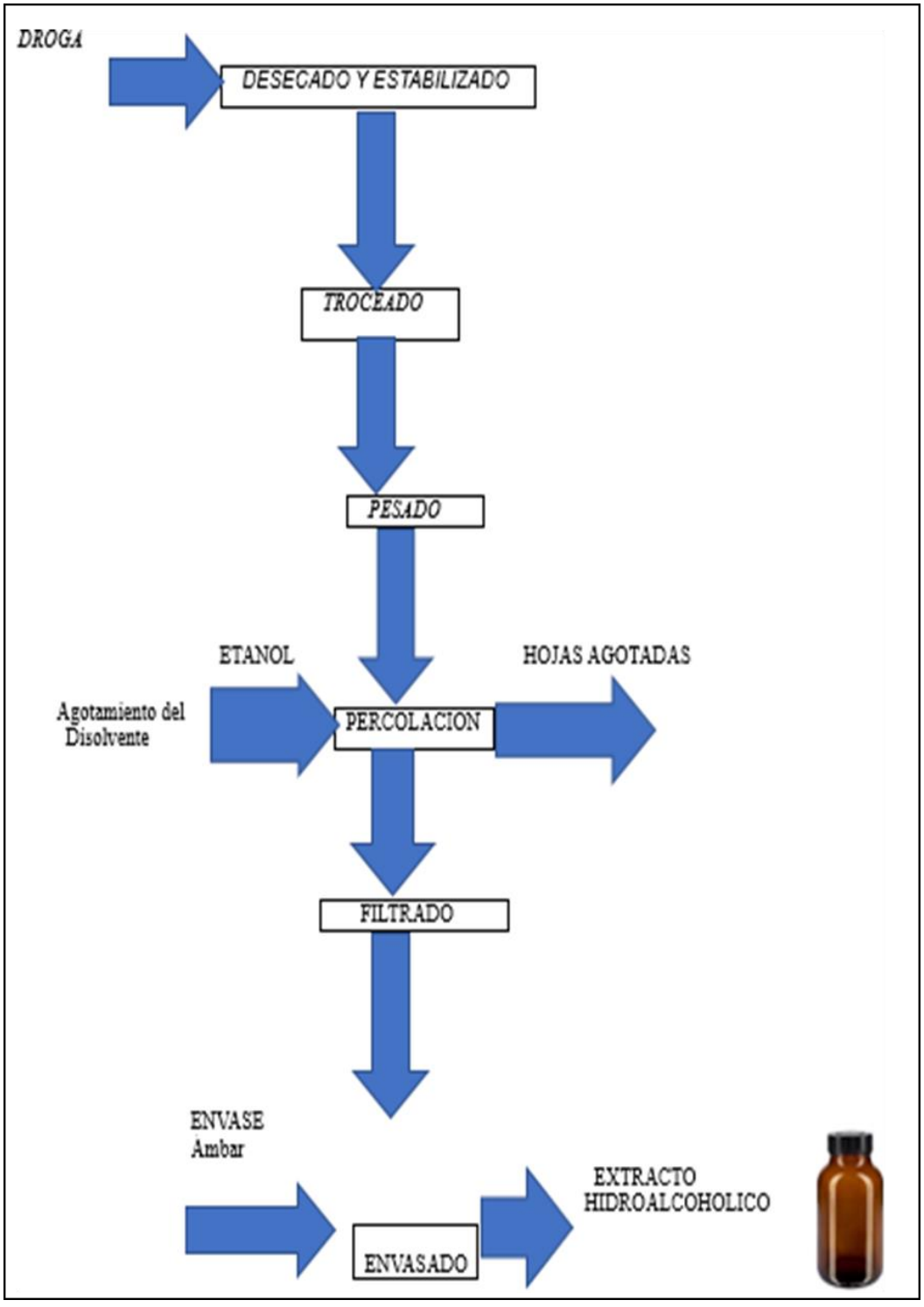
de la UNICA [Tesis en Internet]Universidad San Luis Gonzaga, Ica, 2014[consultado el 18 de enero del 2024] Disponible en: http://repositorio.unica.edu.pe/handle/20.500.13028/2278

12. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de técnicas de investigación. Proyecto X-1 Búsqueda de principios activos de plantas medicinales.1995:81-3

VIII. ANEXOS

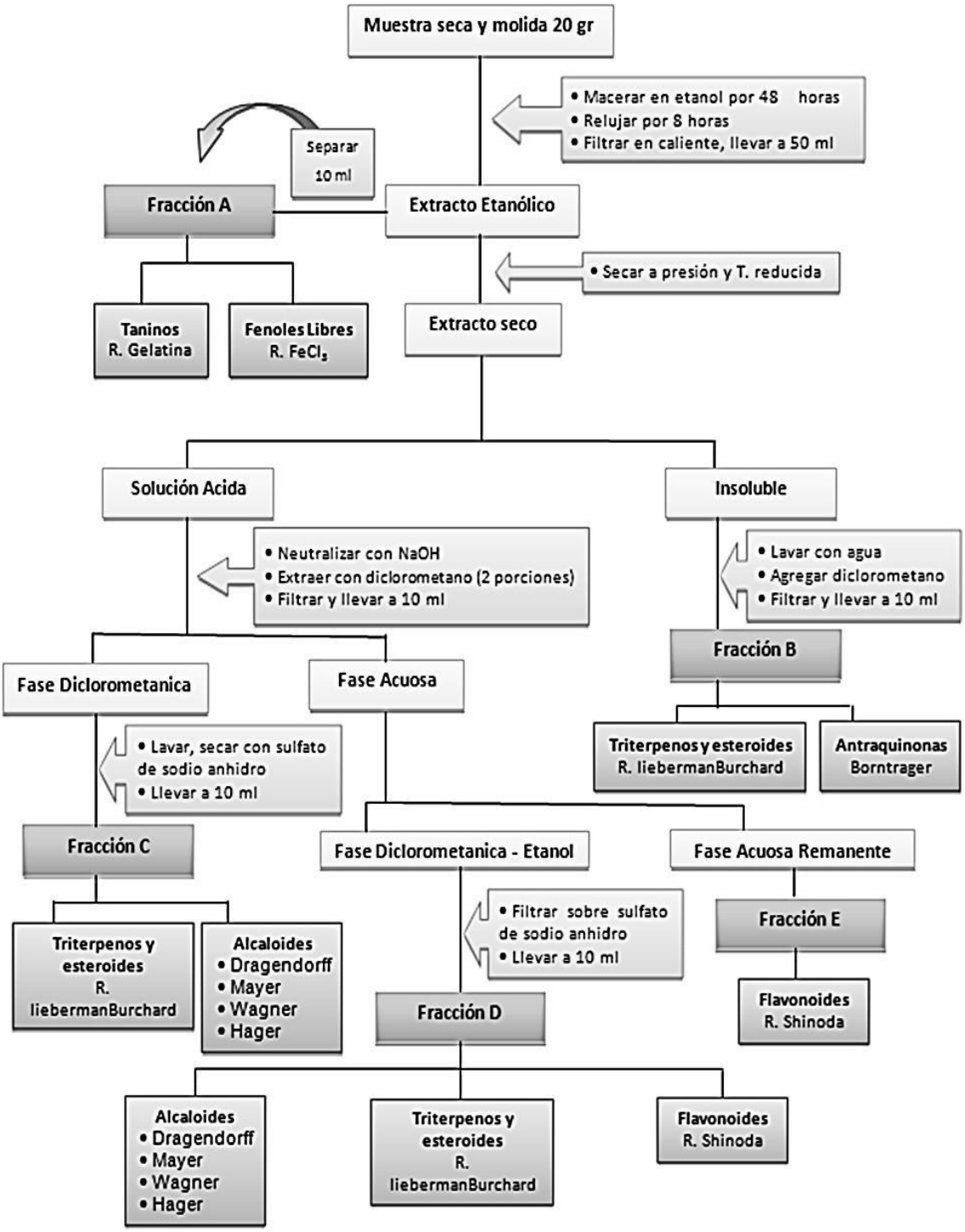
ANEXO 1

Flujograma de percolación



ANEXO 02

Identificación de metabolitos



ANEXO 03

Imágenes del proceso investigativo

Imagen 1. Anexo de Acora.

Imagen 2. Proceso de recolección de hojas.

Imagen 3. Selección de hojas de la especie *Juglans neotropica* Diels.

Imagen 4. Lavado de hojas de la especie *Juglans neotropica* Diels.

Imagen 5. Secado de las hojas a la sombra.

Imagen 5. Acondicionamiento de la muestra

.

Imagen 6. Humectación de la muestra seca y molida.

Elaboración del extracto hidroalcohólico

Imagen 1. Colocación de la muestra en el percolador

Imagen 2. Instalación del percolador

Imagen 3. Proceso de percolación

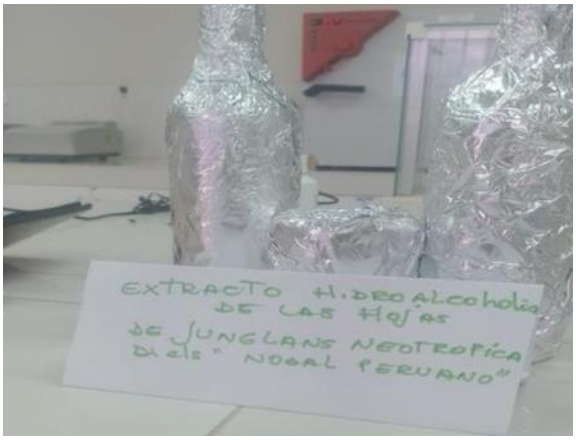


Imagen 4. Acondicionado del extracto fluido

Imagen 5. Inicio de marcha fotoquímica

Imagen 6. Preparación para la reacción de identificación

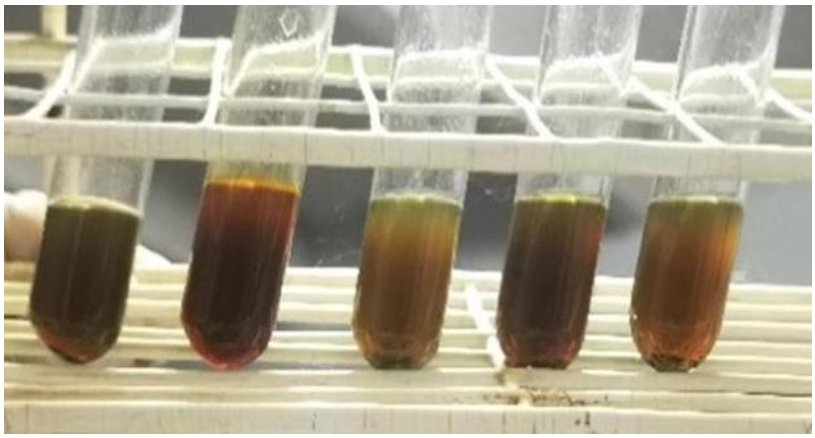


Imagen 7. Reacción

A. REACCION DE CLORURO FERRICO
B. REACCION DE DRAGENDORD
C. REACCION WAGNER
D. REACCION DE MAYER
E. REACCION D

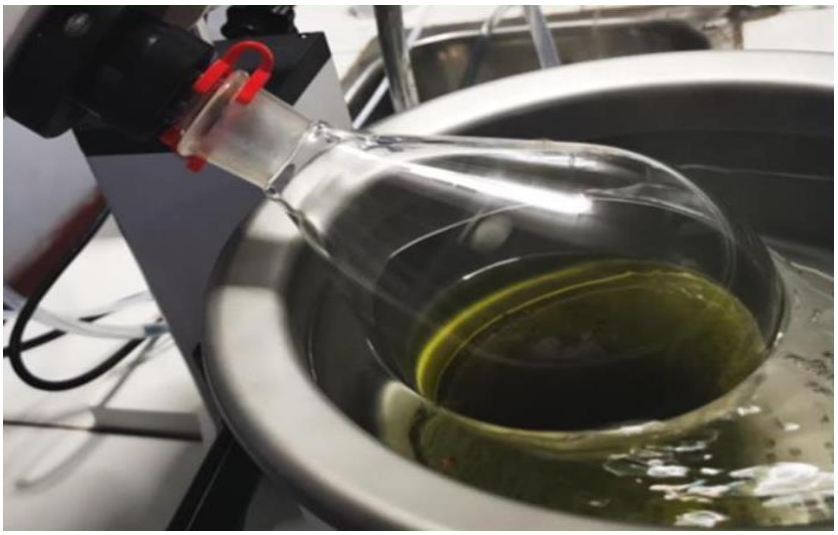


Imagen 8. Concentración del extracto hidroalcohólico en el rotavapor.

Imagen 9. Pesaje de los animales de experimentación

Imagen 10. Administración del sucralfato

Imagen 11. Administración de glicerina

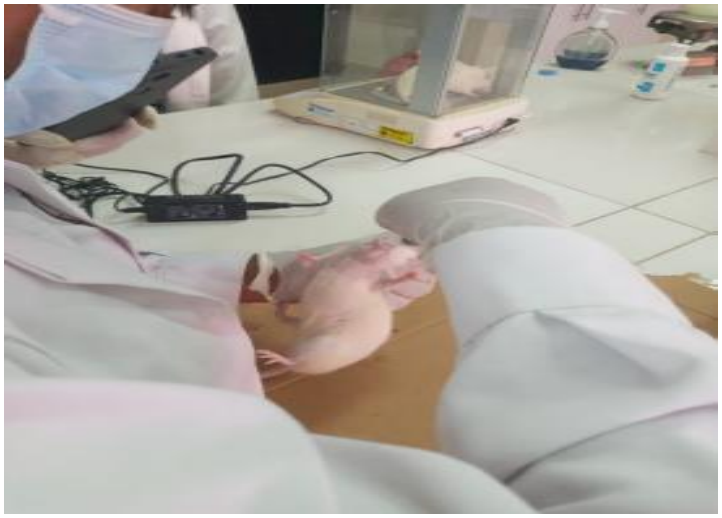


Imagen 12. Administración del extracto

Imagen 13. Ubicación del animal

Imagen 14. Laparotomía exploratoria

Imagen 15. Laparotomía exploratoria

Imagen 16. Observación del tejido gástrico, y los niveles de agresividad resultante luego del tratamiento en cada grupo del trabajo.

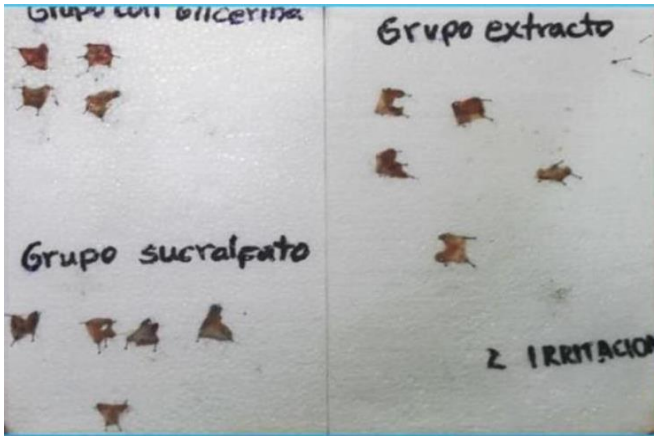
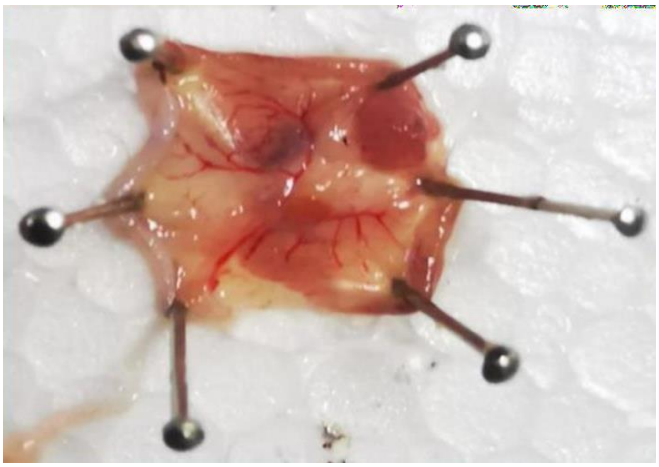


Imagen 17. Observación del tejido gástrico, y los niveles de agresividad resultante luego del tratamiento en cada grupo de trabajo



ANEXO 07

MATRIZ DE CONSISTENCIA

"Estudio de la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels "Nogal Peruano" en animales de experimentación".

Problemas	**Objetivos**	**Hipótesis**	**Operación de variables**		**Medodologia**
General	**General**	**General**	**Variable independiente**	**Indicadores**	**Tipo**
¿Tendrá actividad gastroprotectora el extracto hidroalcohólico de las hojas de la especie de Junglans neotropica Diels "Nogal Peruano"?	Determinar la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de Junglans neotropica Diels "Nogal Peruano"	El extracto hidroalcohólic o de las hojas de la especie Juglans neotropica Diels "Nogal Peruano" poseerá actividad gastroprotectora	Extracto hidroalcohólico de las hojas deJuglans neotropica Diels "Nogal Peruano"	Identificación de metabolitos Secundarios Flavonoides taninos alcaloides Triterpenos yesteroides Grupos fenolicos	Experimental
Especificos	**Especificos**	**Especificos**	**Variable Dependiente**	**Indicadores**	Especificos
¿Es factible realizar la marcha fitoquímica delextracto hidroalcohólic o de las hojas de la especie de Junglans neotropica Diels?	Realizar la marcha fitoquímica delextracto hidroalcohólic o.	El extracto hidroalcohólico no poseerá de metabolitosque pudiesen generar irritación gástrica.	Actividad gastroprotectora	**Efectividad gastroprotectora Aparicion de ulceraciones**	
¿Presentara actividad gastroprotectora el extracto hidroalcoholic o de la especie en estudio?	Evaluar el grado de eficacia de la actividad gastroprotectora	La actividad gastroprotectora será aceptable luego de ser evaluada en un ensayo preclínico.			
¿Es posible determinar el grado de efectividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólic o de las hojas de la especie de Juglans neotropica Diels frente a un medicamento comercial?	Realizar la comparación de la eficacia del extracto hidroalcohólico frente al medicamento	La eficacia gastroprotectora poseerá actividad similar y tolerable frenteal fármaco sucralfato		**Efectividad del tratamiento**	

ANEXO 8

Clasificación taxonómica

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

CONSTANCIA N° 024-USM-MHN-2023

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 recibida de **Mayly Marilu Sanchez Gamboa,** estudiante de pregrado de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica ha sido estudiada y clasificada como: *Juglans neotropica* Diels y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Fagales

FAMILIA : JUGLANDACEAE

GÉNERO : *Juglans*

ESPECIE : *Juglans neotropica* Diels

Nombre vulgar: "nogal"

Procedencia: Huaytara - Huancavelica

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago.

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

Lima, 20 de febrero de 2023

Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

CONSTANCIA

LA DIRECTORA ACADÉMICA DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA.

HACEN CONSTAR QUE EL ESTUDIANTE:

SANCHEZ GAMBOA, MAYLY MARILU

Codigo N° 20140878

En vias de regularización, se le autoriza el uso de las instalaciones del laboratorio de Bioquimica, para el desarrollo de su proyecto de tesis, el cual lleva como titulo " **Estudio de la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de Juglans neotropica Diels "Nogal Peruano" realizado mediante ensayo preclinico"**, y que aprobado el proyecto debera presentar un documento con su asesor, indicando los dias y horas que hará uso del laboratorio.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Ica, 13 de Marzo 2023

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
Dra. Francisca M. García Wong
DIRECTORA DE ESCUELA PROFESIONAL