UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA" DE ICA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Efecto gastroprotector del extracto etanólico de Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze "sayqa muña" sobre lesiones ulcerosas inducidas en ratones albinos Balb-C.

TESIS:

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

bach. Rivera Oyola Astrid Cinthia
Bach. Ventura Gutiérrez Fanny Iris

ASESORES:

Dra. Q.F. Francisca Martha Garcia Wong
Mg. Q.F. Oscar Herrera Calderon

ICA - PERÚ

2014

Dedicado a Dios:

Gracias dios mío por la vida, por la salud, por la familia y por acompañarnos siempre en cada paso que damos, gracias nuevamente por tus bendiciones.

A mis padres:

Dedicado a las personas que más amo en esta vida. Gracias a mis padres que día a día me han brindado su apoyo y con mucho esfuerzo han logrado que me desarrolle en el ámbito profesional, este merito se los dedico a ustedes con todo mi amor, gracias por confiar en mí, todo lo que obtendré a partir de ahora será de ustedes porque se merecen esto y más.

A mis hermanos que siempre me han apoyado en todo momento, agradecerles por el simple hecho de que siempre serán parte de mi vida, y me siento muy orgullosa de que lo sean.

A mi familia en general, que siempre están conmigo en las buenas y en las malas.

Fanny

A mis padres:

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño.

A dios que me dio la oportunidad de vivir y de regalarme una familia maravillosa.

Con mucho cariño principalmente a mis padres que me dieron la vida y que han estado conmigo en todo momento. Gracias a mi padre Sixto Rivera Pichihua y a mi madre Eusebia Oyola Cancho por darme una carrera para mi futuro y por creer en mí, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado apoyándome y brindándome todo su amor, por todo esto les agradezco de todo corazón que estén conmigo a mi lado.

A mi hermano Jhelsin Rivera Oyola, a mis tíos Vicente Villaroel Serrato, Otilia Oyola Cancho, Fausta Rivera Pichihua por apoyarme mucho. Y a mis abuelitos por consentirme mucho. Los quiero mucho.

Astrid

AGRADECIMIENTOS

Está tesis no se hubiera realizado sin la ayuda desinteresada y el trabajo de muchas personas, a las que quiero agradecer sinceramente por su colaboración en cada momento y al mismo tiempo dedicar este trabajo.

Deseo destacar especialmente el trabajo realizado por mis asesores de tesis, la Dra. **Francisca Martha García Wong** y el Mg. **Oscar Herrera Calderón**, a quienes agradecemos que nos hayan brindado la oportunidad de compartir sus conocimientos, enseñanzas, orientación, para la ejecución de la presente investigación.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

A nuestro asesor de tesis el Mg. Oscar Herrera Calderón por la orientación y ayuda que nos brindó para la realización de esta tesis, por su apoyo y amistad que nos permitieron aprender mucho más que lo estudiado en el proyecto.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa de ubicación del distrito de Paico.

Figura 2: Imagen de la planta entera *Clinopodium bolivianum.*

Figura 3: Estructura básica del flavonoide.

Figura 4: Esquema de los derivados de los flavonoides.

Figura 5: Estructura de la quercetina y canferol.

Figura 6. Curva de calibración del ácido gálico

Figura 7: Evaluación de la actividad antioxidante in vitro del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum.*

Figura 8: Banda media de inflamación en el experimento de inducción de úlcera Gástrica.

Figura 9: Bandas hemorrágicas en el experimento de inducción de úlcera Gástrica.

Figura 10: Úlceras hemorrágicas en el experimento de inducción de úlcera Gástrica.

Figura 11: Corte histológico del estómago de ratones del grupo control.

Figura 12: Corte histológico del estómago de ratones del grupo positivo: Indometacina y etanol.

Figura 13: Corte histológico del estómago de ratones del grupo estándar: Ranitidina.

Figura 14: Corte histológico del estómago de ratones tratados con extracto: sayqa muña 50 mg/kg.

Figura 15: Corte histológico del estómago de ratones tratados con extracto: sayqa muña 150 mg/kg.

Figura 16: Corte histológico del estómago de ratones tratados conextracto: sayqa muña 300 mg/kg.

Figura 17: Ensayo de toxicidad a dosis única durante 14 días de evaluación del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum.*

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Diseño experimental para toxicidad oral aguda en ratones.

Tabla 2: Análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanólico.

Tabla 3: Cuantificación de polifenoles totales del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum.*

Tabla 4: Evaluación de la inflamación en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

Tabla 5: Evaluación de bandas hemorrágicas en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

Tabla 6: Evaluación de úlcera gástrica en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

INDICE

Pág.

I. SUMMARY 12

II. RESUMEN 14

III. INTRODUCCIÓN 16

IV. MARCO TEORICO 20

4.1. ANTECEDENTES 21

4.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA 25

4.3. PRINCIPALES METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN LA ESPECIE *Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze* "sayqa muña". 26

4.4. DESCRIPCIÓN DE LA MUCOSA GÁSTRICA 32

4.5. SECRECIÓN ÁCIDA GÁSTRICA 33

4.6. MECANISMO DE DEFENSA DE LA MUCOSA GÁSTRICA 36

4.6.1. Mucus gástrico 37

4.6.2. Secreción de bicarbonato gástrico 39

4.6.3. Flujo sanguíneo en la mucosa gástrica 40

4.7. ÚLCERA PÉPTICA 41

4.8. TERAPÉUTICA DE LA ÚLCERA GÁSTRICA 42

4.8.1. Antiácidos 42

4.8.2. Antagonistas muscarínicos 43

4.8.3. Antagonistas de los receptores H2 44

4.8.4. Citoprotectores 45

4.8.5. Inhibidores de la H+-K+-ATPasa 46

4.8.6. Tratamiento antisecretor 46

V. MATERIALES Y METODOS 48

5.1. MATERIALES 49

5.1.1. Material biológico 49

5.1.2. Materiales de vidrio 49

5.1.3. Reactivos 49

5.1.4. Medicamentos 50

5.1.5. Equipos 50

5.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA 51

5.2.1. Estudio fitoquímico. 51

5.2.1.1. Recolección, Selección, secado de la muestra en estudio 51

5.2.1.2. Clasificación Taxonómica de la especie vegetal 51

5.2.1.3. Obtención del extracto etanólico 52

5.2.1.4. Screening Fitoquímico 52

5.2.2. Determinación de compuestos fenólicos 55

5.2.2.1. Método Folin-Ciocalteu (IFC) 55

5.2.3. Evaluación de la actividad antioxidante 56

5.2.3.1. Método de inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH) 56

5.2.4. Evaluación del efecto gastroprotector 58

5.2.4.1. Método experimental 58

5.2.5. Determinación de la dosis letal 50 (DL50) 60

5.2.6. Análisis estadístico 61

VI. RESULTADOS. 62

6.1. ESTUDIO FITOQUÍMICO 63

6.1.1 clasificación taxonómica 63

6.1.2 Porcentaje de rendimiento del extracto etanólico seco de la obtención del extracto etanólico. 63

6.2. ANALISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ETANÓLICO 64

6.3. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES 65

6.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO 66

6.5. EVALUACIÓN DEL EFECTO GASTROPROTECTOR 67

6.6. EVALUACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DEL ESTÓMAGO DE RATONES INDUCIDAS CON ÚLCERA GÁSTRICA 70

6.7. ENSAYO DE TOXICIDAD ORAL AGUDA A DOSIS ÚNICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Clinopodium bolivianum* EN RATONES ALBINOS BALB/C EN 14 Días 73

VII. DISCUSIÓN 74

VIII. CONCLUSIONES 79

IX. RECOMENDACIONES 82

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 84

XI. ANEXOS 101

I. SUMMARY

Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze, known as "sayqa muña ", is a plant species used in traditional medicine as a treatment for digestive intestinal spasms, antiemetic and gastritis.

In the present investigation the total ethanol extract of polyphenols *Clinopodium bolivianum* was determined using the spectrophotometric method developed by Folin-Ciocalteu, the result is 92,12 mgEAG / g expressed as gallic acid equivalent.

The antioxidant activity of the ethanol extract was evaluated by testing uptake of DPPH radical according to Brand and Williams. The percentage inhibition of the extract by the DPPH method was 6.49%; 16.19% 18.57% ,compared to Trolox 21.57%; 40.72%; 66.93% and vitamin C 7.54%; 13.45% ;27.53% at concentrations of 0.1; 0.5; 1ug / mL respectively, having similar extract% inhibition of free radical compared to vitamin C.

The gastroprotective effect was tested at different doses (50,150,300 mg / kg) of the ethanol extract, inducing gastric damage by indomethacin, the effect of addition *Clinopodium bolivianum* ethanol extract was compared with a gastroprotective drug, ranitidine. Being the most active extract 300 mg/kg similar to the effect of 50 mg/kg ranitidine, taken together these results suggest that the ethanol extract clinopodium *bolivianum* possesses high gastroprotective activity, probably due to the presence of flavonoids, also the presence of secondary metabolites found as: phenol compounds, tannins, alkaloids, flavonoids, quinones, triterpenes, saponins, free amines,

Keywords: medicinal plant, *clinopodium bolivianum*, gastroprotective, gastric lesions, indomethacin, ethanol.

II. RESUMEN

Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze, conocida como "sayqa muña", es una especie vegetal usada en la medicina tradicional para los tratamientos digestivos como espasmos intestinales, antiemético y gastritis.

En la presente investigación se determinó los polifenoles totales del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum*, utilizando el método espectrofotométrico desarrollado por Folin-Ciocalteu, el resultado obtenido es de 92,12 mgEAG/g expresado como equivalente de ácido gálico.

La actividad antioxidante del extracto etanólico fue evaluada mediante el ensayo de captación del radical DPPH según Brand y Williams. El porcentaje de inhibición del extracto por el método DPPH fué de 6.49%;16.19%;18.57%, en Comparación al Trolox 21.57%; 40.72%; 66.93% y la vitamina C 7.54%; 13.45%;27.53% a concentraciones de 0,1; 0,5; 1ug/mL respectivamente, Teniendo el extracto similar % de inhibición de radicales libres en comparación con la vitamina C.

El efecto gastroprotector fue probado a diferentes dosis (50,150,300 mg/kg) del extracto etanólico, induciendo las lesiones gástrica con indometacina, además se comparó con un fármaco gastroprotector, la ranitidina. Siendo el extracto de mayor actividad el de 300 mg/kg semejante al efecto de 50 mg/kg de ranitidina, tomados en conjunto estos resultados sugieren que el extracto etanólico *Clinopodium bolivianum*, posee elevada actividad gastroprotectora, probablemente por la presencia de flavonoides, así mismo se encontró la presencia de metabolitos secundarios como: compuestos fenólicos, taninos, alcaloides, flavonoides, quinonas, triterpenos, saponinas, aminas libres, según el screening fitoquímico.

Palabras claves: planta medicinal, *Clinopodium bolivianum*, gastroprotector, lesiones gástricas, indometacina, etanol.

III. INTRODUCCIÓN

Actualmente se está empleando las plantas medicinales para el tratamiento de una serie de enfermedades como: diabetes mellitus, cirrosis, VHI-sida, gastritis, úlceras gastrointestinales, síndrome de intestino irritable, colitis ulcerosa, cólicos abdominales, hipertensión y otros [1].

El Perú presenta una riqueza y mega diversidad de plantas medicinales nativas que es uno de los pilares de la medicina tradicional. Siendo estas utilizadas en forma empírica por sus bondades terapéuticas en el cuidado y restauración de la salud [2].

Las enfermedades del aparato digestivo son alteraciones gástricas que constituyen un problema clínico-social de repercusión económica a nivel mundial ellas son: las gastritis, úlceras pépticas y duodenales y en general los diversos trastornos del tubo digestivo alto (estómago) teniendo una elevada incidencia y morbilidad también con amplia distribución geográfica e incrementada morbilidad [3,4].

La Gastritis es una inflamación de la mucosa del estómago que puede ser de tipo agudo, de aparición rápida y resolución en pocos días, o de tipo crónico, en cuyo caso puede persistir durante años y producir úlcera péptica [5].

Sin embargo la úlcera péptica es considerada como el resultado de un desequilibrio entre los factores agresivos y defensivos de la mucosa gastroduodenal. La importancia de la secreción ácida y de la actividad péptica del jugo gástrico en la patogenia de la úlcera péptica es evidente porque en ausencia de ácido, no existe úlcera. Asimismo, se observa una buena

correlación entre la eficacia del tratamiento antisecretor en la cicatrización de la úlcera y la supresión de la acidez gástrica [6]. Estas las úlceras pépticas sólo se desarrollan cuando se produce una alteración de los mecanismos defensivos de la barrera mucosa por factores agresivos exógenos tales como alcohol, tabaco, café, comidas irregulares, falta de sueño y estrés, tratamiento con AINES y la infección por H. pylori [7].

De acuerdo con Richardson (1993) los factores que pueden inducir o facilitar la aparición de úlceras pépticas gástricas o duodenales son:

1- Predisposición genética,

2- Anormalidades en la secreción de ácido y pepsina,

3- Reflujo de bilis y jugo pancreático,

4- Anormalidades de la defensa de la mucosa,

5- Estrés emocional,

6- Retardo del vaciamiento gástrico y

7- Factores exógenos como: tabaquismo, uso de antiinflamatorios no esferoidales (AINES), terapia con adrenocorticosteroides, presencia de agentes infecciosos (Citomegalovirus, *Candida albicans* y *Helicobacter pylori*) y uso de bebidas que contienen alcohol y/o cafeína.

El presente trabajo de tesis busca demostrar el efecto gastroprotector del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* en ratones albinos con daño gástrico por acción de la indometacina.

HIPÓTESIS

La administración del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* "sayqa muña" tiene efecto gastroprotector sobre lesiones ulcerosas inducidas en ratones albinos Balb-C.

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto gastroprotector del extracto etanólico del *Clinopodium bolivianum (Benth.)Kuntze* sobre lesiones ulcerosas inducidas en ratones albino Balb-C.

Objetivos Específicos:

1. Determinar los metabolitos secundarios del *Clinopodium bolivianum* "sayqa muña" mediante el screening fitoquímico preliminar.

2. Cuantificar el contenido de polifenoles totales presentes en el extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* "sayqa muña".

3. Determinar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* mediante la captación del radical 1,2 difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).

4. Determinar la toxicidad oral aguda en dosis única durante 15 días del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* en ratones albinos Balb-C.

5. Evaluar el efecto gastroprotector del extracto etanólico del *Clinopodium bolivianum* en tres niveles de dosis sobre lesiones ulcerosas inducidas con indometacina en ratones albinos Balb-C.

6. Evaluar mediante estudios anatomopatológicos el estómago de los ratones del grupo normal y las inducidas con lesiones ulcerosas.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1. ANTECEDENTES

No hay evidencias científicas de estudios realizados con las especies del género Clenopodium, pero si numerosos estudios con plantas medicinales que han sido probadas científicamente encontrándose que contenían principios activos (como fenoles, flavonoides, aceite esencial, alcaloides, etc.) con propiedades curativas contra una variedad de enfermedades .Una serie de plantas medicinales están siendo evaluadas por su posible efecto gastroprotector, probados en animales de experimentación, como las que se citan a continuación:

- **Hiruma P, et al. (2009)** [8]. En Brasil investigadores publicaron el estudio del efecto gastroprotector del aceite esencial de *Croton cajucara* Benth. Se evaluó en tres modelos diferentes de la úlcera gástrica inducida experimentalmente en ratones. En dosis oral de 100 mg / kg se demostró reducción de las lesiones gástricas inducidos por el estrés, moderación hipotermia y HCl / etanol significativamente.

- **Montero A, et al. (2008)** [9].En Bolivia investigaron la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (*Plantago major*) se observó que a una dosis de 500 mg/Kg, los extractos acuosos y etanólico de Plantago major, protegen significativamente la mucosa gástrica de ratas contra el daño inducido por etanol, frente al omeprazol como medicamento control. Otros estudios sugieren que la actividad gastroprotectora y antiulcerosa de los extractos, contra el

daño inducido por etanol pueden estar relacionados con su efecto antisecretor.

- **Huamán O, et al. (2009)** [10]. Estudio realizado en el Perú titulado efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* en ratas, donde concluyen que a las diferentes dosis ensayadas (200 y 400 mg/kg) ejerce un efecto inhibitorio en la formación de lesiones gástricas.

- **Delgado R. (2009)** [11]. En el Perú se realizó el estudio titulado evaluación del efecto gastroprotector del extracto liofilizado de *Capsicum annum L* en ratas, donde se observó que a dosis de los extractos de 10 mg/Kg, 100 mg/Kg fueron efectivas para inhibir las lesiones gástricas provocadas por indometacina.

- **Castañeda C, et al. (2009)** [12]. En el Perú investigadores demostraron el efecto antiulceroso del extracto acuoso y metanólico de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (chocho) en ratas, donde concluyen que los extractos acuoso a la dosis de 2,000mg/kg y metanólico a la dosis de 400mg/kg, de *Lupinus mutabilis sweet*, administrados por vía oral, presentaron efecto protector de la mucosa gástrica frente a la Indometacina, siendo mayor el del extracto acuoso, equiparable al de la Ranitidina.

➢ UBICACIÓN GEOGRAFICA

Sayqa muña es también conocida como "quita muña", esta planta abunda en la sierra del Perú, natural del departamento de Ayacucho, provincia Sucre, en el distrito de Paico [13].

La provincia de Sucre se encuentra a una altitud de 3117 msnm con una coordenada 14° 41′ 38.21″ S, 74° 7′ 26.88″ W, escala ± 1:100000, su clima es frío - templado, y las estaciones climáticas se enmarcan dentro de la zona quechua o sierra del territorio peruano[14,15].

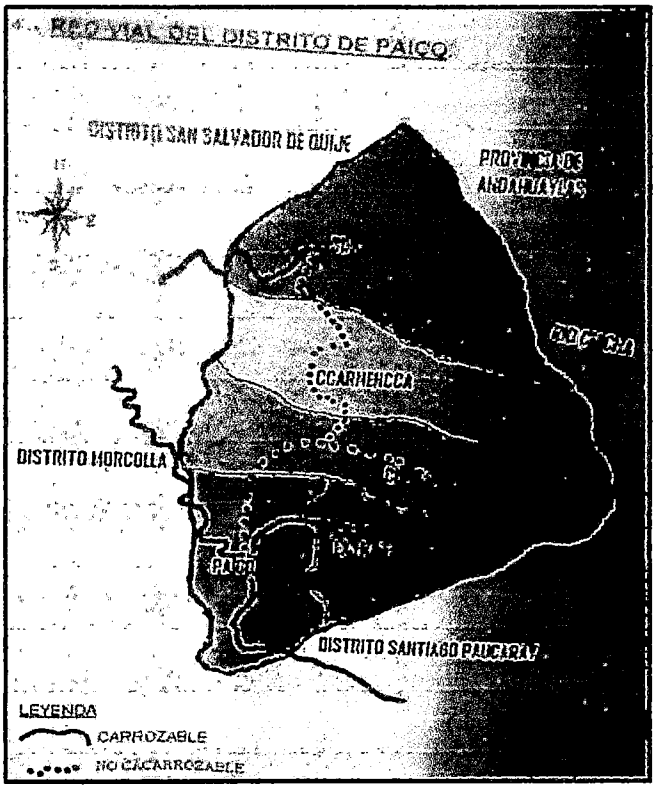


Figura 1

Mapa de ubicación: distrito de Paico-a una altitud de 3117 msnm. Departamento de Ayacucho [13].

- **USOS EN LA MEDICINA POPULAR**

La sayqa muña ha sido empleada milenariamente por nuestros antepasados, siendo múltiples los usos que se le atribuye (Teodoro, 2003 y Zirena, 1945).

Los pobladores de la localidad utilizan la planta entera de *Clinopodium bolivianum* conocida como "sayqa muña", en forma de infusión para tratar problemas gastrointestinales como dolores, espasmos intestinales, cólicos, males estomacales y gastritis [16,17].

- **REFERENCIAS DEL GENERO *Clinopodium***

El género fue descrito por Carlos Linneo. Comprende 271 especies descritas y de estas, solo 142 aceptadas que viven sobre todo en Asia, África y Europa [18].

Clinopodium es un género de plantas con flores en la familia Lamiaceae. Es en la tribu Mentheae de la subfamilia Nepetoideae, pero poco más se puede decir con certeza sobre su posición filogenética [19].

El nombre del género Clinopodium se deriva del griego *klinopodion.* El *klino* en griego significa "una cama" y el *podion* significa "un poco el pie", *clinopodium* = pie de cama – nombre que daba Dioscórides a una planta aromática, por la similitud de su inflorescencia con el pomo del pie de una cama [20,21].

Las especies del Clinopodium son utilizadas como hierbas medicinales. Por ejemplo *Clinopodium bolivianum* se utiliza en forma de infusión para tratar afecciones relacionadas a nivel gastrointestinal como cólicos estomacales, flatulencias y gastritis [22].

4.2. DESCRIPCIÓN BOTANICA

- **DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICAS**

La sayqa muña es un arbusto hirsuto de 1 metro de alto. Las hojas opuestas, cortamente pecioladas (1-1.5 mm.); láminas abovadas a elípticas, sub-obtusas, bordes enteros o aserrados, 1-2 cm de largo; flores blanquecinas, subsésiles, solitarias o en fascículos axilares; cáliz tubuloso, lóbulos deltoides, corola tubular, bilabiada, internamente pubescente; estambres didínamos, epipétalos; frutos tetraquenios, de 1 – 5 mm de largo con una espícula pubescente en la parte superior (Macbride, 1960) [23, 24,25].

Figura: 2

Planta entera de *Clinopodium bolivianum*, conocida como sayqa muña.[18].

4.3. PRINCIPALES METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN LA ESPECIE Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze "sayqa muña"

Los metabolitos secundarios identificados mediante reacciones de coloración y precipitación en el extracto etanólico de la planta entera *Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze* "sayqa Muña" fueron: grupos polifenólicos, flavonoides entre otros [26,27].

➢ FLAVONOIDES

Los flavonoides representan una clase altamente diversa de metabolitos secundarios que comprenden alrededor de 9,000 estructuras que han sido identificados hasta la fecha [28]. Constituyen el grupo más grande y más importante de compuestos polifenólicos en las plantas [29]. Estos compuestos se encuentran en todas las plantas vasculares, así como en algunos musgos .El término flavonoide se utiliza para describir pigmentos de las plantas, en su mayoría derivados de benzo-γ-pirona, que es sinónimo de cromona [30].

Están ampliamente distribuidos entre las plantas superiores, principalmente en las partes aéreas: hojas, flores y frutos. Las principales familias que contiene flavonoides son rutáceas, asteráceas y Lamiaceae. Se clasifican en bases a sus variaciones estructurales en flavonas, flavonoles, flavanonas, chalconas e isoflavonoides.

Otros tienen carácter vitamínico y aplicaciones terapéuticas [31].

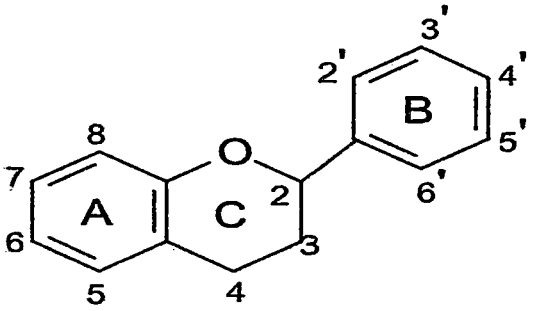


Figura 3

ESTRUCTURA BASICO DEL FLAVONOIDE [32].

- **SINTESIS Y DERIVADOS DE LOS FLAVONOIDES**

Todos los flavonoides derivan sus esqueletos de carbono-15 (C6-C3-C6) a partir de dos metabolitos básicos, malonil-CoA y p-cumaroil-CoA. Su reacción biosintética crucial es la condensación de tres moléculas de malonil-CoA con una molécula de p-coumaroil-CoA para dar una chalcona intermedio [33]. Chalconas actúan como precursores para la amplia gama de derivados de flavonoides que se encuentran en todo el reino vegetal [34]. La mayoría contienen un anillo heterocíclico de seis miembros, formado por tipo Michael ataque nucleófilo de un grupo fenol a la cetona insaturada dando una flavanona [35]. El primer paso comprometido de la ruta de los flavonoides es catalizada por la sintasa de chalcona. Las chalconas pueden ser luego convertidas en auronas, una subclase de flavonoides que se encuentran en ciertas especies de plantas [36]. Más allá de CHS, el siguiente paso compartida por la mayoría de las rutas de biosíntesis de flavonoides es catalizada por la chalcona isomerasa (CHI), que cataliza un anillo de cierre estéreo específica etapa de isomerización para formar las 2S-flavanonas [37]. Las flavanonas

pueden representar el punto de ramificación más importante en el metabolismo de flavonoides, debido a la isomerización de estos compuestos produce la clase de otros flavonoides [38]. Sin embargo, la síntesis química se lleva a cabo principalmente por la ciclación y la condensación de hidroxiacetofenona. Teniendo en cuenta la naturaleza química de la molécula y las posiciones de los sustituyentes en los anillos A, B y C, los flavonoides se dividen en 14 grupos diferentes. Siete de estos grupos - las flavonas, flavonoles, flavanonas, isoflavonas, flavanoles (catequinas), flavanolol y antocianidinas - son particularmente bien conocidos [39,40].

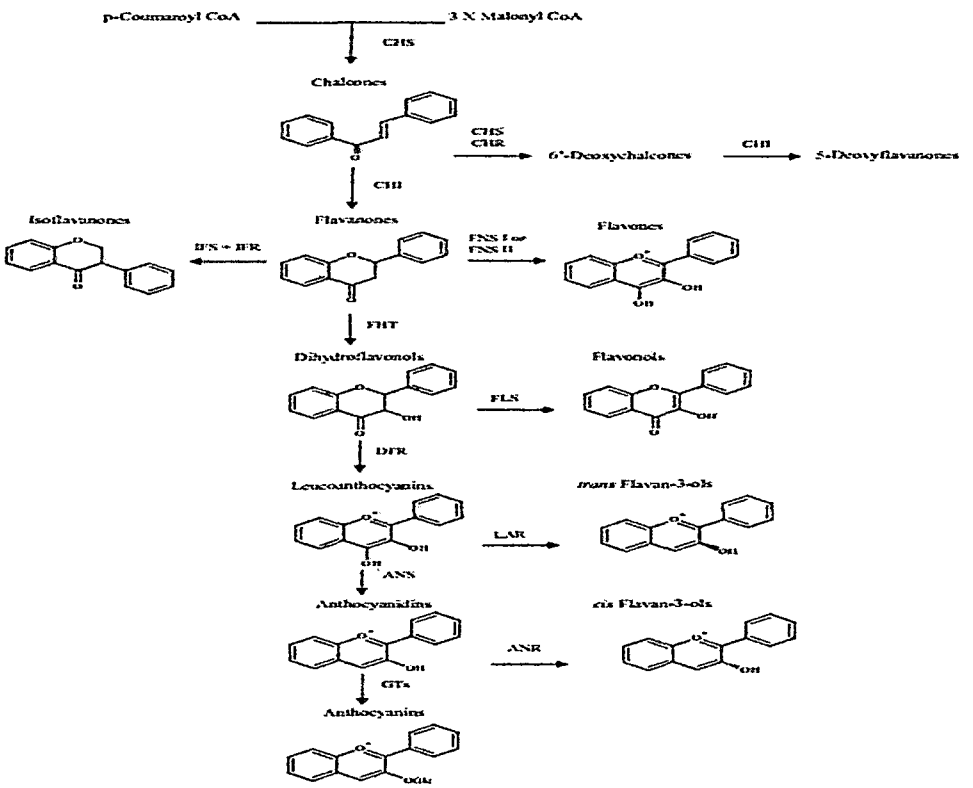


Figura 4:

SÍNTESIS DE LOS FLAVONOIDES [39].

PROPIEDADES BIOLOGICAS DE LOS FLAVONOIDES

Los flavonoides pertenecen a los fitoquímicos recientemente populares, productos químicos derivados del material vegetal con efectos potencialmente beneficiosos para la salud humana [41]. Los efectos terapéuticos de muchos medicamentos tradicionales pueden estar relacionados en muchos casos a la presencia de estos polifenoles [42]. Por ejemplo, una amplia variedad de actividades farmacológicas han sido reportados para estas sustancias, incluyendo antiviral, antialérgica, antiplaquetario, antiestrogénico, anticancerogénico, anti-inflamatorio, antiproliferativo, antiangiogénico y propiedades antioxidantes. Su ingestión produce típicamente ninguna o muy poca toxicidad [43]. También se informó de flavonoides de actuar en el tracto gastrointestinal, que tiene antiespasmódico, anti-secretora, antidiarreico y antiulcerosos propiedades [44]. Teniendo en cuenta el importante papel de los flavonoides en la prevención o reducción de las lesiones gástricas inducidas por diferentes agentes ulcerogénicos, este objetivo de este estudio fue revisar la literatura sobre flavonoides con actividad gastroprotectora [45].

Los flavonoides, parecen ser metabolitos determinantes en la protección de la mucosa gástrica. Numerosos mecanismos han sido propuestos para explicar el efecto gastroprotector de los flavonoides, como por ejemplo el aumento del contenido mucosal de prostaglandinas, disminución de la secreción de histamina, eliminación de radicales libres, aumento de la perfusión vascular y reducción de la adherencia leucocitaria[46,47].Algunos de ellos, reducen la motilidad gastrointestinal prolongado el tiempo de contacto de los extractos

con las paredes del estómago y aumentando de esta manera el efecto gastroprotector[48].

Por tanto previenen lesiones en la mucosa gástrica inducida por diferentes Métodos y la protegen contra distintos agentes necróticos [49].

- **QUERCETINA**

Uno de los flavonoides más estudiadas es la quercetina (3,3 ', 4', 5,7-pentahidroxiflavona). Protege la mucosa digestiva de lesiones agudas inducidas por diversos modelos experimentales y contra diferentes agentes necróticas, incluso coercitivas estrés píloro-ligación, la reserpina, la aspirina, la indometacina, el ácido-etanol y úlceras gástricas inducidas por etanol [50].

La quercetina es un flavonoide que posee efecto antioxidante y actividad miolítica sobre la musculatura lisa gastrointestinal. La motilidad del estómago y su relación con la formación de úlceras gástricas ha sido motivo de estudio desde hace muchos años. Experiencias utilizando estimulación eléctrica vagal y drogas como la pilocarpina, evidenciaron que la contracción de la mucosa producía trastornos circulatorios que desencadenaban desde erosiones de la mucosa de distinta intensidad hasta úlceras y perforaciones en conejos, gatos, perros y cobayos (Ivy et al., 1954) [51,52].

El o los mecanismos de acción de este compuesto estaría influenciado por la estructura de sus moléculas y mediados por receptores α2-adrenérgicos y calcio [53].

Otros autores estudiaron la citoprotección de una droga preparada a partir de tres plantas sobre la relajación de la musculatura gástrica en ratas, encontrando que la motilidad gástrica juega un importante papel en la gastroprotección inducida por indometacina.

Sin embrago diferentes autores describen su mecanismos de acción como gastroprotector PAF endógeno, un aumento en la producción de moco, propiedades antihistamínicas, que disminuyen los niveles de histamina y la reducción del número de mastocitos inducida por etanol. También inhibe el crecimiento de H. pylori, la formación de ácido por las células parietales en respuesta a la estimulación por la histamina y dibutiril AMP cíclico, así como el H gástrica + / K + de la bomba de protones [54].

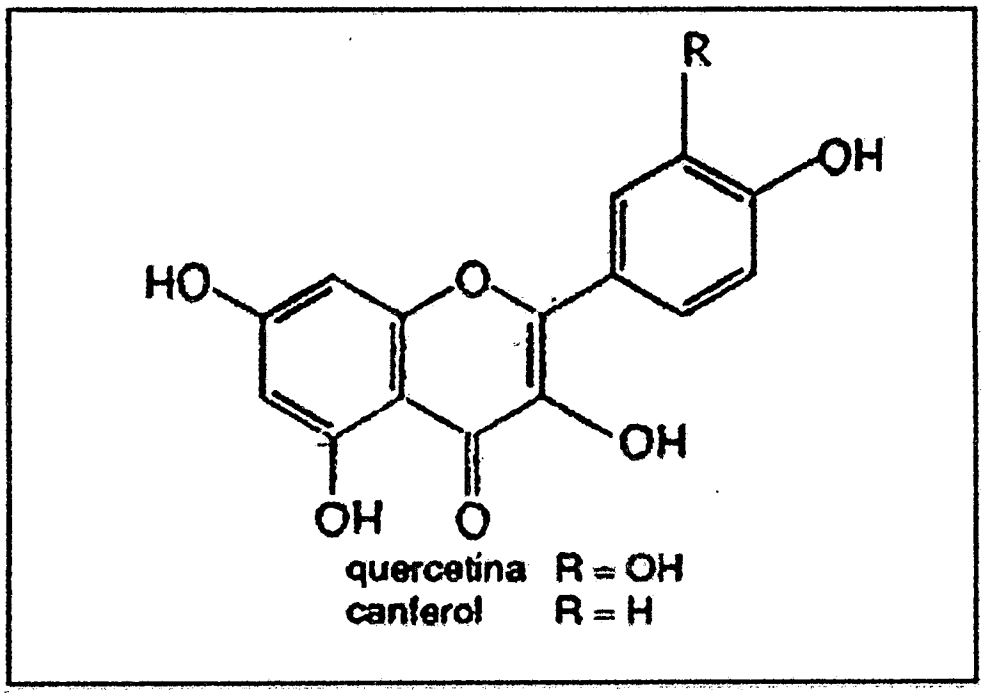


Figura 5:

ESTRUCTURA DE LA QUERCETINA Y CANFEROL [54].

- **CANFEROL**

El canferol posee efecto protector, previniendo la formación de úlceras gástricas. Estudios sobre la liberación de eicosanoides en mucosa gástrica y colónica humana incubada, demuestran que el canferol aumenta la liberación de prostaglandinas por parte de la mucosa gástrica, mientras que en altas dosis inhibe prostanoides y leucotrienos C4 liberados por ambas mucosas, gástrica y colónica. El efecto antiulcerogénico puede explicarse a través del papel de las prostaglandinas en los mecanismos de citoprotección. El posible mecanismo incluye inhibición de la secreción de ácido gástrico, estimulación de la secreción de bicarbonato, reducción de la exfoliación celular e incremento del flujo sanguíneo mucosal (Goel et al., 1996). Todas estas acciones contribuyen a preservar la barrera mucosa gástrica [55,56]

4.4. DESCRIPCIÓN DE LA MUCOSA GASTRICA

La mucosa gástrica humana está constituida de un epitelio glandular compuesto por unidades gástricas (micropliegues de la mucosa). En términos de función gástrica, el estómago se divide en dos regiones, la región exocrina o glandular que se encuentra localizada en el cuerpo y formix gástrico, y la porción endocrina localizada en la región antral [57].

La mucosa de la región exocrina consiste en un epitelio columnar simple que delimita la superficie lineal. Estas células secretan moco y líquido alcalino, necesarios para la protección del estómago contra sus propias secreciones.

Abriéndose a la superficie mucosa se encuentra una zona denominada "PIT", zona donde convergen entre 3 y 7 glándulas oxínticas [58].

La glándula oxíntica se divide en una zona proximal denominada cuello donde se encuentran las células parietales y las células endocrinas. En este sitio se inicia la proliferación y diferenciación celular de las células que migran a la superficie de la glándula para efectuar recambio celular, el cual es permanente. La zona distal de la glándula se denomina fondo y en este lugar se encuentran las células principales y algunas parietales. En la glándula oxíntica, área de la lámina propia, se encuentran las células productoras de histamina. En el área antropilórica o endocrina se encuentran glándulas gástricas semejantes a las glándulas oxínticas, pero aparecen unas células productoras de gastrina que se denominan células G y el número de células parietales y principales en esta zona es mínimo. En esta área se encuentran las células D encargadas de producir somatostatina [59, 60,61].

4.5. LA SECRECIÓN ÁCIDA GÁSTRICA

La secreción ácida gástrica se puede iniciar por una variedad de factores, relacionados con la ingesta de alimento y el estado calórico del individuo. La secreción ácida está regulada por diversos mecanismos nerviosos y humorales, que han permitido distinguir en ella tres fases: cefálica, gástrica e intestinal [62]. En la fase cefálica están involucrados mecanismos regulatorios del sistema nervioso central (hipotálamo y bulbo raquídeo), mientras que en la

fase gástrica e intestinal, están involucrados mecanismos periféricos, que incluyen elementos neuronales, hormonales, paracrinos y autocrinos [63].

En las glándulas oxínticas del fundus y del cuerpo del estómago también se localizan las células parietales, las cuales secretan ácido clorhídrico y factor intrínseco, observaciones éstas realizadas por Golgi desde 1893 [64].

Las células parietales tienen en su membrana basolateral receptores de tres estimulantes: un receptor de la histamina (H-2), un receptor colinérgico tipo muscarínico (M-3) para la acetilcolina liberada por las neuronas preganglionares, y un receptor tipo colecistoquinina (CCK-8) para la gastrina liberada por las células G pilóricas y duodenales. La célula parietal también tiene receptores en su membrana basolateral para los inhibidores de su función: somatostatina y prostaglandinas [65].

Estimulantes, inhibidores y receptores de la célula parietal:

Los receptores Histamínico es el estimulante más importante de la secreción ácida. La histamina es liberada por las células enterocromafín-like (ECL), interactuando con los receptores H-2 de histamina de la célula parietal. Los antagonistas de los receptores H-2 inhiben la secreción ácida gástrica al bloquear a los receptores H-2 de la célula parietal [66].

La acetilcolina es liberada por las terminaciones nerviosas como resultado final de la estimulación del nervio vago, interactuando con los receptores muscarínicos M-3 directamente en la célula parietal, sobre las células ECL

para liberar histamina y sobre las células D para suprimir la liberación de somatostatina a través de un péptido inhibidor. Estos tres mecanismos favorecen la secreción ácida [67].

La hormona digestiva como la gastrina es liberada por las células G del antro gástrico. La gastrina se une directamente a los receptores CCK-B/ gastrina de la célula parietal. Sin embargo, estudios en humanos sugieren que el receptor de gastrina en la célula parietal puede no estar implicado en la secreción ácida. Además, trabajos recientes sugieren que existen receptores CCK-B gastrina en las células ECL. De esta forma, el efecto de la gastrina sobre las células parietales puede estar mediado realmente a través de las células ECL [68,69].

La somatostatina es un inhibidor de la función de la célula parietal. Desempeña un papel importante en la modulación de la liberación de gastrina. La estrecha relación histológica de las células D Con las células G sugiere que la somatostatina actúa de una forma paracrina como un "freno" endógeno de la liberación de gastrina [70]. Los iones de H de la luz gástrica "activan" las células D para ayudar en la inhibición mediante retroalimentación de la liberación de gastrina por el ácido. La acetilcolina, liberada por estimulación vagal "desactiva" las células D, potenciando así la liberación de gastrina y proporcionando otra forma de favorecer la secreción ácida por parte de la acetilcolina [71].

Las prostaglandinas son secretadas prácticamente todas las células epiteliales y no epiteliales del estómago. Se ha demostrado la existencia de un receptor de PGE-2 unido a una proteína G inhibidora de la célula parietal. Los receptores de PGE-2 tienen efectos opuestos a los de los receptores H-2, es decir, reducen la actividad de la adenil-ciclasa, el AMPc intracelular y la proteincinasa A [72]. Los análogos de la prostaglandina E como el misoprostol reducen la secreción ácida aproximadamente en la misma proporción que los antagonistas de los receptores H-2. Los agentes que bloquean la síntesis de prostaglandinas endógenas, como los fármacos antiinflamatorios no esteroideos, aumentan la secreción ácida [73].

4.6. MECANISMO DE DEFENSA DE LA MUCOSA GÁSTRICA.

El concepto de barrera mucosa incluye mecanismos protectores que no permiten la acumulación de ácido (H+) en las células epiteliales gastroduodenales. La barrera mucosa comprende una fina capa adherente formada por bicarbonato (HCO_3^-) disuelto y moco que neutraliza los H+ del jugo gástrico [74].

El estómago mantiene la integridad de su mucosa por diferentes mecanismos, siendo los mismos: la producción de mucus, la secreción de bicarbonato (HCO_3^-), el flujo sanguíneo local, la renovación celular y la producción de determinadas prostaglandinas (por ej. PGE2). El déficit de alguno de estos factores puede facilitar el daño de la mucosa del órgano [75].

Las células epiteliales de la mucosa actúan como barrera de defensa por medio de la secreción mucus y el bicarbonato (HCO_3^-) Dicha secreción protege a las células mucosas, las lubrica, retiene agua y forma una capa que bloquea el pasaje de iones hidrógeno (H+) desde la luz gástrica hacia las células epiteliales de la mucosa. Ese impedimento en la difusión de iones hidrógeno (H+) es un proceso producido gracias a la viscosidad del mucus y a que se mantiene una concentración adecuada de bicarbonato. En la úlcera producida por estrés, se piensa que el principal factor que la determina es el déficit en el flujo sanguíneo local [76,77].

La mucosa gástrica también puede sufrir daño durante los procesos digestivos como resultado del estrés que provoca el roce de los alimentos, la hiperosmolaridad de la comida o después de la ingesta de drogas y químicos como aspirina y alcohol (Allen et al.1993). Ante tales antecedentes, parece evidente que la mucosa gástrica posee eficientes mecanismos fisiológicos de protección [78].

La autoprotección de la mucosa del estómago, resulta de la combinación de factores pre-epiteliales (flujo sanguíneo, secreción de mucus y bicarbonato) con factores epiteliales (rápida regeneración y reparación del epitelio de la mucosa) (Morimoto et al.1991; Allen et al.1993).

4.6.1. Mucus Gástrico.

Una constantemente renovada capa de moco cubre el tracto gastrointestinal y constituye una barrera entre el contenido luminal y la mucosa. El moco es secretado por las células epiteliales y sus

constituyentes principales son grandes glicoproteínas, mucinas y agua. En el estómago se han identificado dos tipos distintos de mucinas, la MUC5AC secretada por las células mucosas superficiales y la MUC6, secretada por las células del cuello, así como las siguientes mucinas transmembrana: MUC1, MUC4, MUC16, cuyo rol parece estar ligado a señalización de transducción y fenómenos de adhesión [79,80].

De igual manera, el moco está dispuesto en dos capas, una externa aguada y otra interna firmemente adherida al epitelio (su remoción lo dañaría). La primera se encarga de la unión con agentes nocivos y nitritos y de la liberación constante de NO; ésta se mezcla con los alimentos y se desprende [81]. La segunda desempeña un papel más importante para la protección de la mucosa del ácido corrosivo, pues mantiene un pH neutral (el del pH yuxtamucosal), retarda la difusión retrograda de iones hidrógeno y mantiene el bicarbonato secretado por el epitelio [82]. La MUC5AC es el componente principal de ambas capas, sin embargo, el estímulo para el engrosamiento de ambas capas es distinto, ambas responden al estímulo de la PGE2, mientras sólo la capa interna responde a la donación luminal de NO; las razones aún no han sido claramente esclarecidas [83].

4.6.2. Secreción de bicarbonato gástrico.

Esta secreción de bicarbonato gástrico contribuye a la protección de la mucosa al mantener un gradiente de pH en la capa de moco que cubre las células epiteliales superficiales [84].

Varios procesos contribuyen a la producción de bicarbonato por parte de las células epiteliales superficiales de la mucosa gastrointestinal. La secreción de bicarbonato requiere energía, posiblemente generada por la hidrolisis de GTP a GMPc [85]. La anhidrasa carbónica y la Na+K+ATPasa parecen desempeñar funciones importantes. El proceso de secreción probablemente involucre un intercambio electroneutro de cloro luminal por bicarbonato celular [86].

El bicarbonato gástrico es estimulado por algunos de los estimulantes de la secreción de ácido gástrico, pero no por todos ellos. La simulación de la alimentación y los agentes colinérgicos ocasionan una secreción aumentada de bicarbonato que se puede inhibir con atropina. Las prostaglandinas E2 también son estimulantes de la secreción de bicarbonato, pero no lo son la gastrina y la histamina [87,88].

Los principales inhibidores de la secreción son los inhibidores de la ciclo-oxigenasa, antagonistas muscarínicos, agonistas α2-adrenérgicos y acetazolamida (Allen et al .1993).

4.6.3. Flujo sanguíneo en la mucosa gástrica.

Este flujo contribuye a satisfacer las necesidades metabólicas requeridas por los diferentes procesos secretores o de reparación de la mucosa y arrastra el ácido que ha difundido a través del epitelio. El aumento de flujo sanguíneo es un mecanismo defensivo frente a agentes lesivos a nivel tópico. La disminución del flujo origina el mecanismo primario de la lesión de la mucosa gástrica por algunos agentes ulcerogénicos [89,90].

El estudio del flujo sanguíneo en la mucosa gástrica, ha mostrado que muchas de las ulceraciones que se producen en ella, no son provocadas por la alteración de sustancias endógenas, como el ácido o la pepsina, sino por la capacidad de la mucosa gástrica de disipar la sobrecarga de H+intramucosal [91]. Es en esta condición, donde se nota la importancia del flujo sanguíneo en la protección de la mucosa, porque actúa retirando el exceso de H+ intramucosal y, probablemente, aumentando la entrega de bicarbonato [92]. El oxígeno y nutrientes para el metabolismo, son muy importantes para prevenir las úlceras gástricas (Allen et al., 1993). También lo son las prostaglandinas del tipo E2, agentes citoprotectores de la mucosa gástrica, que actúan aumentando el flujo en la mucosa gástrica, en respuesta a diversas condiciones ulcerogénicas [93].

4.7. ÚLCERA PÉPTICA.

Desde hace más de un siglo la enfermedad ulcerosa péptica constituye una causa importante de morbilidad y mortalidad a nivel mundial.

La úlcera péptica, o enfermedad ulcerosa péptica, es una lesión en forma de herida más o menos profunda, en la capa más superficial (denominada mucosa) que recubre el tubo digestivo. Cuando esta lesión se localiza en el estómago se denomina úlcera gástrica y cuando lo hace en la primera porción del intestino delgado se llama úlcera duodenal. Es una enfermedad frecuente que en Europa occidental afecta a aproximadamente el 5-10% de la población en algún momento de sus vidas [94.95].

La úlcera solo se produce en los lugares expuestos al ácido y al efecto dañino de las enzimas que digieren las proteínas, especialmente la pepsina desde el descubrimiento de que la infección por Helicobacter pylori causaba la mayoría de estas lesiones, los conceptos de hiperacidez por aumento de la masa parietal, y todas las teorías sobre la etiología de esta enfermedad se han abandonado [96].

Actualmente sabemos que la úlcera gástrica y la duodenal que ocupan más del 95% de todas las úlceras se producen por tres factores:

1. Infección del estómago por Helicobacter Pylori

2. Toma de medicamentos anti-inflamatorios, especialmente los inhibidores de la Ciclo-oxigenasa I.

3. Enfermedad de Zollinger Ellison.

Más del 90% de los enfermos con úlcera duodenal y cerca del 80% de los pacientes con úlcera gástrica están infectados por este germen y se curan si se logra erradicarlo con antimicrobianos, por otro lado los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos o AINEs, al inhibir la enzima cicloxigenasa producen disminución de los factores de defensa de la mucosa y el medicamento en sí produce daño directo, es por ello que son ulcerogénicos, especialmente si además el paciente está infectado por H. pylori, es por ello que más del 99% de los casos pueden explicarse por estos dos factores. El tercer factor involucrado es la hipergastrimenia que se presenta si el paciente tiene una enfermedad de Zollinger Ellisson entidad sumamente rara, en la que un tumor localizado en el páncreas o en el duodeno, produce esta sustancia que estimula de manera muy importante la producción de jugo gástrico ácido lo que a su vez produce úlceras múltiples [97, 98,99].

4.8. TERAPÉUTICA DE LA ÚLCERA GÁSTRICA.

Los recursos farmacológicos para tratar la úlcera gástrica están dirigidos a reducir o inhibir la secreción ácida en el estómago y a favorecer o promover los mecanismos protectores de la mucosa gástrica, por ejemplo, aumentar la secreción de mucus, bicarbonato y flujo sanguíneo [100].

4.8.1. Antiácidos

Los antiácidos gástricos son sustancias alcalinas, que neutralizan o remueven el ácido clorhídrico del contenido gástrico. Han sido de los primeros fármacos utilizados en el tratamiento de la úlcera péptica [101]. Son fármacos útiles sobre todo para conseguir un alivio sintomático

rápido. Su principal inconveniente es su acción corta (debido al rápido vaciado gástrico y a la continua secreción ácida), requiriéndose una dosificación repetida a lo largo del día. Por este motivo no se utilizan como fármaco único para la cicatrización de la úlcera, sino para el alivio rápido de la sintomatología asociado a otra medicación [102].

Dentro de ese grupo los más utilizados son los alcalinos.

El bicarbonato sódico no se prescribe en la actualidad porque se absorbe y puede provocar alcalosis y retención de líquido por el aporte de sodio. Otro de los antiácidos inicialmente utilizado fue el carbonato cálcico [103].

Dentro de los alcalinos, es aconsejable utilizar aquellos que no se reabsorban para evitar así la aparición de efectos indeseables. Éstos son el hidróxido de aluminio y el hidróxido de magnesio. El hidróxido de aluminio puede provocar estreñimiento, y el de magnesio diarrea [104].

4.8.2. Antagonistas muscarínicos

Los agentes anticolinérgicos, como la atropina, fueron usados en el pasado para bloquear el efecto directo de la acetilcolina sobre los receptores muscarínicos de la célula parietal, reduciendo aproximadamente, el 30%de la secreción acida provocada por los alimentos. Sin embargo no fueron tan efectivos como los anti-h2 y presentaban un elevado índice de efectos secundarios, como

sequedad bucal y lacrimal, visión borrosa, arritmias cardiacas y retención urinaria [105,106].

Existen dos tipos de receptores muscarínicos: M1 Y M2.

Los receptores M1 están localizados a nivel de las glándulas secretoras gastrointestinales y en el corpus, mientras que los M2 se localizan en el corazón, tracto gastrointestinal, musculatura lisa del tracto urinario y cerebelo, encontrándose ambos tipos de receptores en las glándulas salivales y lacrimales. La pirenzepina es un antagonista relativamente selectivo en la inhibición de la secreción ácida al actuar sobre los receptores muscarínicos M1. Su efecto selectivo M1 da lugar a que existan mínimos efectos a nivel del flujo salival y musculatura lisa urinaria es eliminado por vía renal [107,108].

4.8.3. Antagonistas de los receptores H2.

La célula parietal presenta un receptor de histamina de tipo H2, que al unirse a histamina o agonistas H2, se activa y estimula a las células parietales para secretar ácido clorhídrico. Este receptor puede ser bloqueado selectivamente por antagonistas H2 (A-RH2). Los A-RH2, pueden inhibir también la secreción de ácido provocada por gastrina y agonistas muscarínicos, aunque el efecto no es siempre completo. Dentro de los A-RH2 están la Cimetidina (inhibe la producción de HCl hasta un 88%) y la Ranitidina (cuatro a seis veces más potente que la cimetidina), nizatidina y rosatidina [109,110].

Actúan bloqueando los receptores H2 de las células parietales, provocando una inhibición de la secreción ácida, con lo cual se reduce el volumen total de secreción y las concentraciones de hidrogeniones, acelerando la cicatrización de las úlceras. A largo plazo, reducen también la incidencia de recaídas y las molestias en caso de reflujo gastroesofágico y disminuyen la incidencia de hemorragias en situaciones de riesgo. Se deben de administrar de noche cuando la secreción de histamina es más elevada [111,112].

La dosis a la que se administran los diferentes anti-H2son: Ranitidina 300 mg/día, famotidina 40mg/día, cimetidina 800 mg/día, nizatidina 300mg /día [113].

4.8.4. Citoprotectores.

La mucosa gástrica cuando está expuesta a la acidez luminar, secreta mucus y bicarbonato (HCO_3^-), acción conocida como citoprotección. Esta respuesta citoprotectora de la mucosa está mediada por la síntesis de prostaglandinas (PGS) de tipo E2 e I2, secretadas por la propia mucosa gástrica [114]. Las PGs estimulan la secreción de (HCO_3^-) y mucus, aumentando también el flujo sanguíneo de la mucosa del estómago, lo que permite la disipación de carga. Está demostrado que las PGS protegen la mucosa gástrica contra varios agentes ulcerogénicos, efecto que ha sido atribuido al fortalecimiento de la barrera mucosa. Considerando esta acción de las PGS, y que la vida media de estas moléculas es extremadamente corta, se han

desarrollado análogos estructurales de metabolización más lenta. La droga de este tipo disponible actualmente es el Misoprostol [115].

4.8.5. Inhibidores de la H+-K+-ATPasa

La fase final de la secreción acida es mediada por la enzima H+K+ATPasa (también conocida como bomba de protones), situada en la membrana secretoria de la célula parietal. La inhibición de la misma produce una potente inhibición de la secreción acida, independientemente del estímulo. En este sentido, en los últimos años han aparecido varias drogas disponibles de esta nueva clase de inhibidores de la secreción acida gástrica: Omeprazol, lanzoprazol, pantoprazol y el rabeprazol [116].

4.8.6. Tratamiento Antisecretor

Los antihistamínicos-H2 (anti-H2) y los IBP son los principales fármacos antisecretores. Los anti-H2 inhiben la secreción gástrica de ácido desencadenada por la histamina, la gastrina, los alimentos y otros factores. Entre los anti-H2 se incluyen la cimetidina, la ranitidina, la famotidina, la nizatidina y la roxatidina. Los IBP causan una inhibición irreversible de la bomba de protones de las células parietales gástricas, reduciendo la secreción gástrica de ácido en más del 95%, más intensamente que los anti-H2 [117]. Al primero de los IBP disponibles, el Omeprazol, se han unido en los últimos años el pantoprazol, lanzoprazol, rabeprazol y el omeprazol. Básicamente todos los IBP tienen la misma eficacia en el tratamiento de la UP.

Como se ha descrito anteriormente, cualquiera de ellos puede utilizarse en las pautas de tratamiento erradicador de HP. El pantoprazol parece dar lugar a menos interacciones farmacológicas que los otros IBP [118].

Tras completar el tratamiento erradicador de HP, el IBP podría suspenderse. No obstante, parece prudente en los pacientes con UD complicada o con UG prolongar 2-4 semanas el tratamiento con el IBP o incluso hasta confirmar la erradicación de HP [119]. En la UP asociada al consumo de AINE, el tratamiento de elección es un IBP durante 6-8 semanas. Sólo en el caso de que el AINE pueda ser suspendido, podría utilizarse también un anti-H2 durante 6-8 semanas. En el tratamiento de mantenimiento para prevenir la recurrencia de la UP cuando es imprescindible mantener el AINE se debería utilizar un IBP (por ejemplo, 20 mg diarios de omeprazol) o como alternativa el misoprostol, una prostaglandina, a dosis de 200 mg cada 6-12 horas [120]. Una reciente revisión de la literatura sólo encontró evidencia de que el uso de un IBP a largo plazo puede causar déficit de vitamina B12, sin que se hayan demostrado otros efectos adversos significativos [121].

Para complementar cualquier tratamiento farmacológico es imprescindible los consejos dietéticos (suspensión de alcohol y el tabaco), supresión de los antiinflamatorios, erradicación del H. pylori, mejorando de esta manera los síntomas de algunos pacientes [122,123].

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. MATERIALES:

5.1.1. Materiales biológicos

-36 ratones albinos machos cepa Balb-C de 25 ± 1 g de peso corporal.

-Planta entera seca de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kuntze "sayqa muña".

5.1.2. Material de vidrio:

-Beaker de 50, 100, 250, 500mL

-Pipetas volumétricas AS de 1, 3, 5 ,10 mL

-Pipetas graduadas de 1, 3, 5, 10 mL

-Matraz volumétrico de 10, 25, 50, 100 mL

-Matraz de Erlenmeyer 100,250, 1000 mL.

-Micropipetas calibradas de 10, 100, 1000 uL

-Tubos de ensayo de 20 mL.

5.1.3. Sales químicas y reactivos:

-Reactivo de Liebermann-Burchard

-Cloruro férrico (Merck®) Reactivo de Shinoda

-Hidróxido de sodio (Merck®)

-Ácido clorhídrico (Merck®)

-Hidróxido de amonio (Merck®)

-Reactivo de Dragendorff

-Reactivo de Mayer

-Colorante hematoxicilina / eosina.

-Metanol (Fisher®)

-Etanol (Fisher®)

-Cloroformo (Merck®)

-Silicagel G60 (Merck®)

-2, 2-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) (Sigma®)

-Ácido tiobarbitúrico (ATB) (Sigma ®)

-Tricloruro Férrico (JT Baker ®)

-Ácido sulfanílico (Merck)

-N-1-Naftiletilendiamina 0,1% (Sigma ®)

-Formol 40% (Diquimsa®)

5.1.4. Medicamentos:

-Indometacina

-Ranitidina

5.1.5. Equipos:

-Rotaevaporador (Büchi ®)

-Estufa (Memmert®)

-Horno de aire circulante (Binder ®)

-Centrífuga (internacional Equipment Co®)

-Lámpara UV

-Balanzas analíticas sensibles a 1 g (Hanna®); 0.1 y 0.00001 g (Bennet®)

-Espectrofotómetro UV-VIS (LaboMed®)

-Cepo para ratas

-Sonda de administración orogástrica

-Microscopio óptico (Nikon®)

-Equipo de disección

5.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA:

5.2.1. Estudio fitoquímico:

5.2.1.1. Recolección, Selección, secado y conservación de la muestra en estudio.

Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze "sayqa muña".La planta entera se recolectó en el distrito de Paico a una altitud de 3117 msnm, provincia Sucre departamento de Ayacucho-Perú, en la temporada de enero-abril en el 2013 a una temperatura de 19 °C. Parte de la muestra fue enviada al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, para su clasificación taxonómica.

Posteriormente la planta entera fueron seleccionadas, separando manualmente las hojas deterioradas, manchadas y con señales de ataque por insectos y/o hongos; luego fueron sometidas a sequedad sin exposición a los rayos solares, extendiendo las planta entera en capas finas, en una superficie limpia por un periodo de 15 días a más días, obteniéndose aproximadamente 1kg de muestra vegetal.

5.2.1.2. Clasificación Taxonómica de la especie vegetal.

La autenticidad de la especie fue confirmada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima- Perú.

5.2.1.3. Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico se obtuvo por el método de maceración, que consistió en extraer los metabolitos de la planta entera de la especie en estudio hasta agotamiento, empleando como solvente etanol al 96% durante 7 días protegido de la luz, una vez obtenido el extracto, se procedió a evaporar el solvente hasta sequedad completa del extracto con ayuda de un rotaevaporador a 40°C.

5.2.1.4. Screening Fitoquímico según Lock de Ugaz, 1994[124].

Se procedió a hacer las reacciones de identificación o coloración para cada tipo de metabolito secundario presente, con los reactivos específicos; en los resultados se indicará la presencia o ausencia del metabolito.

➢ **Detección de grupos funcionales y metabolitos secundarios**

DETECCIÓN DE AMINOÁCIDOS:

- **Reacción de Ninhidrina.-**

  A una solución acuosa de la muestra se le 5 gotas del reactivo (Hidrato de tricetohidrindeno), si se observó que la muestra se tornó de un color violáceo o amarillo confirmará la presencia del metabolito.

DETECCIÓN DE TANINOS:

- **Reacción de Gelatina.-**

  A una solución acuosa de la muestra se le añadió 5 gotas de solución de gelatina (1 %) que contiene además NaCl (10 %).

Si se observa una sustancia en forma de nube en la solución y luego queda en el fondo un precipitado color blanco, confirmaría la presencia de taninos.

DETECCIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS:

- **Reacción de Cloruro Férrico.-**

  A una solución etanólica de la muestra se le añadió 5 gotas del reactivo cloruro férrico (FeCl3), instantáneamente la solución deberá tomar un color verde oscuro, azul o violeta, lo que indicará la presencia de compuestos fenólicos.

DETECCIÓN DE ALCALOIDES:

- **Reacción de Dragendorff.-**

  A una solución etanólica de la muestra se añadió 5 gotas del reactivo de Dragendorff (yoduro de bismuto y potasio), si se observó la aparición de un precipitado que fue del color naranja al rojo confirmaría la presencia de alcaloides.

- **Reacción de Mayer.-**

  A una solución etanólica de la muestra se añadió 5 gotas del reactivo (yoduro de mercurio y potasio), si se observó la aparición de un precipitado blanco, confirmaría la presencia de alcaloides.

- **Reacción de Hager.-**

  A una solución etanólica de la muestra se le añadió 5 gotas del reactivo de Hager (solución de ácido pícrico), si se observó

la formación de un precipitado amarillo, confirmará la presencia de alcaloides.

DETECCIÓN DE FLAVONOIDES:

- **Reacción de Shinoda.-**

  A una solución etanólica de la muestra se le añadió granillos de magnesio y 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. Si se observó un intenso burbujeo y una coloración naranja o rojo, luego de 10 minutos indicara presencia de flavonoides.

DETECCIÓN DE QUINONAS:

- **Reacción de Bornträger.-**

  A una solución etanólica se le adicionó gotas del reactivo de Borntrager (solución de KOH al 5 %). La aparición de una coloración rojiza indica la presencia de este metabolito.

DETECCIÓN DE TRITERPENOIDES Y/O ESTEROIDES:

- **Reacción de Lieberman- Burchard.-**

  A una solución etanólica de la muestra se le adicionó el reactivo de Lieberman-Burchard (1 mL de anhídrido acético, 1 mL de cloroformo o diclorometano y se añade una gota de ácido sulfúrico concentrado.)

  Si se observó la formación de colores azul, verde, rojo, anaranjado, que cambian con el tiempo confirmará la presencia del metabolito.

DETECCIÓN DE SAPONINAS

- **Reacción de la espuma.-**

  A una solución acuosa de la muestra, se le sometió agitación vigorosa durante 30 segundos. La formación de espuma confirmará la presencia de saponinas.

5.2.2. Determinación de compuestos fenólicos

5.2.2.1. Método Folin-Ciocalteu (IFC) descrito por García et al. (2012)[125]:

Los fenoles totales se determinan mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu usando el ácido gálico como material de referencia.

Se preparó una disolución patrón de ácido gálico de 0,1 g/L, para lo cual se pesaron 10 mg de ácido gálico, se colocaron en un matraz aforado de 10 mL y se llevaron a volumen con agua destilada, enseguida se preparó una dilución 1:10 con agua destilada (siempre se utiliza una solución recién preparada).

De la misma manera se preparó una disolución de carbonato de sodio al 20 % pesando 2 g de carbonato de sodio en un matraz aforado de 10 mL.

Por otro lado se preparó una disolución 1N del reactivo de Folin-Ciocalteu, por medio de una dilución 1:2 del reactivo comercial (2N) en agua destilada; el reactivo se protegió de la luz y se colocó en refrigeración hasta su uso.

A partir de la disolución patrón de ácido gálico, en viales protegidos de la luz, se hicieron las diluciones necesarias con agua destilada para obtener concentraciones de 1ug/ml, 3ug/ml, 5ug/ml, 7.5ug/ml para la preparación de la curva de calibración. Esto se realizó tomando respectivamente 100 µL, 300 µl, 500 µl, 750 µl adicionando agua destilada llegando a una concentración de 10, 30, 50 ,75 de la disolución patrón de ácido gálico de 0,1 g/L, posteriormente se coge 100 µl de cada concentración y se vierte a sus respectivos tubos de ensayo y se vierte a sus respectivos a cada tubo de ensayo se le agrega +150 ul del reactivo de Folin-Ciocalteu 1N, se agitó durante 5 min en el ultrasonido, posteriormente se adicionaron 150 µL de la disolución de carbonato de sodio al 20 % a cada tubo de ensayo, se llevó a un volumen final de 1 ml con agua destilada y se dejó reposar por 1 h. de igual manera se preparó para la muestra en problema. Finalmente se leyó la absorbancia a 760 nm en el espectrómetro de ultravioleta-visible (Perkin Elmer Lambda 40).

5.2.3. Evaluación de la actividad antioxidante

5.2.3.1. Método de inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH) según (Brand-Williams et al, 1995) con modificaciones [126].

El método que se empleó en este trabajo es el propuesto por Brand-Williams et al. (1995) con algunas modificaciones. Dicho

radical tiene un electrón desapareado y presenta un color violeta el cual cambia a amarillo pálido en presencia de una sustancia antioxidante, se midió ésta reacción en un espectrofotómetro.

Preparación de las soluciones:

- **Preparación del radical DPPH:** Se preparó una solución a 0,1 mM de DPPH, pesando 3,9 mg de DPPH en un matraz aforado previamente tarado y se disolvió en 100 mL de etanol, la solución se colocó en un sonicador para asegurar la buena disolución y luego comprobar que a una absorbancia a 517 nm esté ente 0,9 y 1,1. El matraz se cubrió con papel de aluminio para la protección frente a la luz.
- **Preparación del Trolox:** Se preparó una solución stock 1 mM disolviendo 2,03 mg de ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2- carboxílico 97% (Trolox), en 10 mL de etanol, luego se prepararon diluciones con rangos de concentración entre 0,1 µg, 0,5 µg y 1µg, con el fin de realizar la curva de calibración. Como blanco de calibración del equipo se empleó etanol.
- **Preparación de la vitamina C:** Se preparó una solución stock 1 Mm disolviendo 2 mg de vitamina C, en 10 ml de etanol, luego se prepararon diluciones con rangos de concentración entre 0,1 µg, 0,5 µg y 1µg, con el fin de realizar la curva de calibración.

Preparación de la curva de calibración:

Preparada la solución madre de la muestra problema, se preparó concentraciones de 0,1 µg /ml, 0,5 µg /ml, 1 µg /ml.

- **Para la preparación de 0,1 µg:** se coge 5ul de la solución madre + 995 ul de etanol, para completar 1ml, posteriormente de esta disolución se coge 100 ul y se completa con la preparación del DPPH hasta 1 ml, dejando reposar por 60 minutos, para después realizar la lectura en un espectrofotómetro UV/VIS a 517 nm.
- **Para la preparación de 0,5 y 1 µg:** se prepara de igual manera hasta completar 1 ml, para después leer la lectura.

Los resultados fueron expresados como la capacidad antioxidante equivalente en mM de Trolox y vitamina C.

5.2.4. Evaluación del efecto gastroprotector. Según O'Brien[127].

Se utilizó 36 ratones albinos machos de la cepa Balb C, que tenían un peso de 25 ± 3 gramos, procedentes del Instituto Nacional de Salud. Los animales fueron aclimatados durante quince días al ambiente de experimentación, a una temperatura de 21 °C, con dieta y agua a libertad.

5.2.4.1. Método experimental.

Se dividió los animales en 6 grupos de seis animales cada uno, según se detalla a continuación.

El grupo 1 o grupo normal (control negativo) recibió el vehículo que redisolvió las sustancias problemas (solución de polisorbato 80 al

3%, a la dosis de 10 mL/kg). El grupo 2 o grupo indometacina 120 mg/kg (control positivo), como agente ulcerogénico, se preparó una suspensión de indometacina con polisorbato 80 al 3%, para la administración se tuvo en cuenta agitar constantemente el volumen que contenían los miligramos necesarios según la dosis determinada, y la aplicación fue inmediata. Los grupos del 3 al 5 recibieron, además de indometacina (IND), las sustancias en investigación, según se detallan a continuación: los grupos del 3 al 5 recibió IND + el extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* (50, 150 y 300 mg/kg, respectivamente. El extracto etanólico se reconstituyó con polisorbato 80 solución al 3%. Para la administración se empleó una sonda metálica de acero inoxidable, se administró por vía oral el solvente y soluciones en las dosis indicadas; luego de 60 minutos se administró la indometacina por vía intraperitoneal, a todos los grupos, excepto al grupo normal; esto se repitió a las doce horas. Luego de seis horas de la última administración los animales fueron sacrificados, administrándoseles por vía intraperitoneal pentobarbital 100 mg/kg. Mediante laparotomía se extrajo el estómago, que fue abierto por la curvatura mayor y se observó la presencia de las lesiones. La actividad gastroprotectora se evaluó considerando estos indicadores: la inflamación, las bandas hemorrágicas, el número de úlceras, la presencia de hiperemia y erosiones. Los estómagos fueron conservados en una solución de formaldehido tamponado:

formaldehido (Merck) 40% (100 mL) + sodio fosfato monobásico monohidratado (4 g) + sodio fosfato dibásico anhidro (6,5 g) + agua destilada cantidad suficiente para un litro.

5.2.5. Determinación de la dosis letal 50 (DL50) [128].

El extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* fue administrado por vía oral según el diseño de la tabla 1, en 12 ratones machos cepa Balb-C adquiridos del Instituto Nacional de Salud, y con peso promedio de 25 ± 1 g al inicio del experimento, los cuales fueron mantenidos en un ambiente a temperatura controlada de 20 ± 2 °C con un ciclo de luz/oscuridad de 12-12 h, en los ambientes de la facultad de Farmacia y Bioquímica. La alimentación consistió en ratonina peletizada y agua *ad libitum*. Los animales fueron observados constantemente durante las primeras 24 h, continuando la misma diariamente durante un período de 15 días, registrando cualquier síntoma tóxico que pueda presentarse.

Tabla 1. Diseño experimental para toxicidad oral aguda en ratones.

Nro.	Tratamiento	Dosis (mg/Kg)	Muestra (n)
1	*Tween 80*	10 mL/Kg	6
1	*Clinopodium bolivianum*	2000	6

5.2.6. Análisis estadístico.

Luego de la ejecución del diseño experimental, los datos fueron ordenados y analizados, aplicando primero la prueba de normalidad, para seleccionar las pruebas de hipótesis estadísticas adecuadas.

Para todas las pruebas estadísticas se fijará el nivel de significancia en 0,05. Se empleará en todos los casos el software estadístico SPSS (Stadistical Package for Socials Sciences), Ver. 19.0

VI. RESULTADOS

6.1. ESTUDIO FITOQUÍMICO

6.1.1. Clasificación taxonómica.

Como resultado de la Clasificación Taxonómica según la Clasificación de Cronquist (1981).

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

GÉNERO: Clenopodium

ESPECIE: *Clinopodium bolivianum (Benth.) kuntze*

Nombre vulgar: "sayqa muña".

6.1.2. Porcentaje de rendimiento del extracto etanólico seco de la obtención del extracto etanólico

El porcentaje de rendimiento del extracto etanólico seco (%EES) fue de 1,4%. Este resultado fue obtenido con la siguiente expresión:

$$\%EES = \frac{\text{Peso final del extracto seco}}{\text{Peso inicial de la muestra seca}} \times 100$$

$$\%EES = \frac{14\ g}{1000\ g} \times 100$$

%EES= 1,4 %

6.2. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ETANÓLICO

Los resultados del análisis fitoquímico cualitativo se observa en la **tabla 2.**

Tabla 2. Prueba preliminar cualitativa de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum.*

Prueba de caracterización	Resultado	Metabolito secundario
Reacción de la NINHIDRINA	(+)	Grupos aminos libres
Reacción de la GELATINA	(+)	Taninos
Reacción con CLORURO FERRICO ($FeCl_3$)	(+)	Compuestos Fenólicos
Reacción de DRAGENDORFF	(+)	Alcaloides
Reacción de HAEGER	(+)	Alcaloides
Reacción MAYER	(+)	Alcaloides
Reacción de SHINODA	(+)	Flavonoides
Reacción de BORNTRAGER	(+)	Quinonas
Reacción de LIEBERMAN-BURCHARD	(+)	Triterpeno y/o esteroides
Prueba de la ESPUMA	(+)	Saponinas

(-) = Ausencia; (+) = Presencia

6.3. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES PRESENTES EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Clinopodium bolivianum.*

FIGURA 6: El extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* "sayqa muña" se expresan en mg equivalentes al ácido gálico (mgEAG/g)

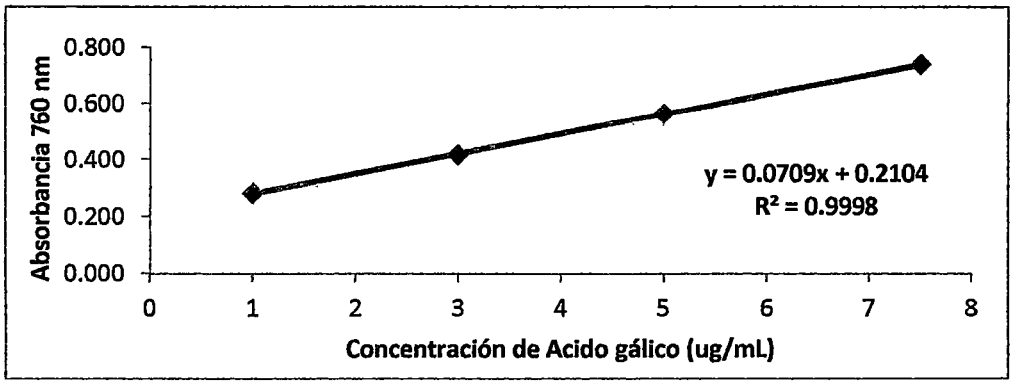


Figura 6. Curva de calibración del ácido gálico

Tabla 3. Cuantificación de polifenoles totales del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum.*

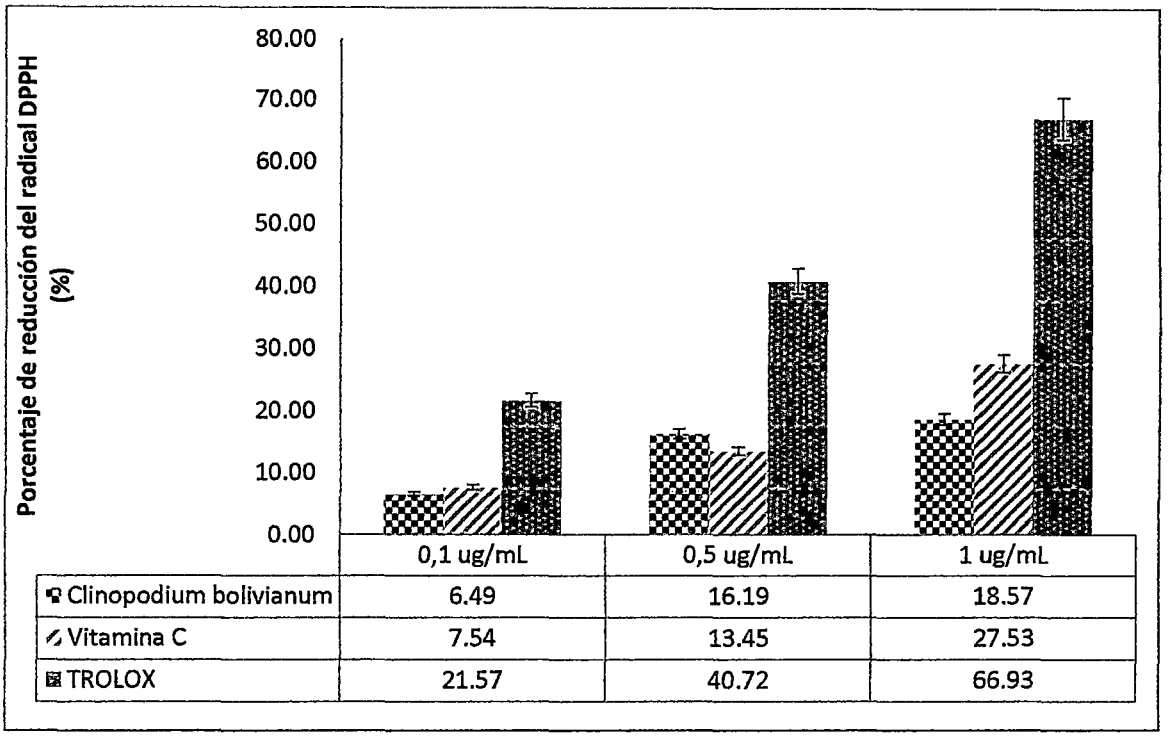
Muestra	mgEAG/g extracto	DE
Extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum*	92,12	0,43

D.E.: desviación estándar, mgEAG/g = miligramos equivalente a Acido gálico por gramo de extracto.

Los polifenoles totales se determinó a 760 nm y los resultados fueron expresado en g de ácido gálico/100g. Muestra seca. Se muestra los resultados de la cuantificación de polifenoles totales, la cual se indica que se alcanzó una alto contenido de polifenoles siendo este de 92,12 EAG/100g de muestra seca de *Clinopodium bolivianum.*

6.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Clinopodium bolivianum* "sayqa muña".

El extracto etanólico de ***Clinopodium bolivianum*** "sayqa muña" se determinó mediante el ensayo de captación del radical DPPH según Brand y Williams.



	0,1 ug/mL	0,5 ug/mL	1 ug/mL
Clinopodium bolivianum	6.49	16.19	18.57
Vitamina C	7.54	13.45	27.53
TROLOX	21.57	40.72	66.93

Figura 7. **Comparación de la actividad antioxidante de *Clinopodium bolivianum* "sayqa muña", Trolox y Vitamina C a diferentes concentraciones.**

En esta figura se compara el porcentaje de reducción del radical DPPH de las diferentes muestras como el *Clinopodium bolivianum* (muestra en problema), vitamina C y el Trolox, a una concentración de 0,1; 0,5; 1 ug/mL. Teniendo el Trolox mayor porcentaje de inhibición, y tanto la vitamina C como el *Clinopodium bolivianum* similar resultado de inhibición del radical.

6.5. EVALUACIÓN DEL EFECTO GASTROPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Clinopodium bolivianum* "sayqa muña" SOBRE LESIONES GÁSTRICAS INDUCIDAS EN RATONES.

Tabla 4. Evaluación de la inflamación en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

Grupo experimental *	Dosis (mg/Kg)	Inflamación			
		x ± DE	Med	p1	p2
Control negativo	-	0,17 ± 0,17	0	0,005	-
Control positivo	-	1,67 ± 0,33	1,5	-	0,005
IND +sayqa muña	50	0,83 ± 0,17	1	0,045	0,027
IND + sayqa muña	150	0,33 ± 0,21	0	0,011	0,523
IND +sayqa muña	300	0,17 ± 0,17	0	0,005	1
IND + ranitidina	50	0,33 ± 0,21	0	0,011	0,523

* Los datos de ninguno de los extractos presentó distribución normal (p<0,05, Kolmogorov-Simirnov) X: media; DE: desviación estándar; M_{ed}: mediana; IND: indometacina, p_1: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y de la indometacina 80 mg/kg, (Prueba de Mann-Whitney); p_2: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y del suero fisiológico, (Prueba de Mann-Whitney)

Tabla 5. Evaluación de bandas hemorrágicas en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

Grupo experimental *	Dosis (mg/Kg)	Bandas hemorrágicas			
		x ± DE	Med	p1	p2
Control negativo	-	0,17 ± 0,17	0	0,003	-
Control positivo	-	2,33 ± 0,42	2	-	0,003
IND +saya muña	50	1,67 ± 0,21	2	0,207	0,004
IND + sayqa muña	150	0,83 ± 0,48	0,5	0,040	0,211
IND +saya muña	300	0,33 ± 0,21	0	0,005	0,523
IND + ranitidina	50	0,33 ± 0,21	0	0,005	0,523

* Los datos de ninguno de los extractos presentó distribución normal (p<0,05, Kolmogorov-Simirnov) X: media; DE: desviación estándar; M_{ed}: mediana; IND: indometacina, p_1: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y de la indometacina 80 mg/kg, (Prueba de Mann-Whitney); p_2: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y del suero fisiológico, (Prueba de Mann-Whitney)

Tabla 6. Evaluación de úlcera gástrica en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

Grupo experimental *	Dosis (mg/Kg)	Ulcera gástrica			
		x ± DE	Med	p1	p2
Control negativo	-	0,17 ± 0,17	0	0,004	-
Control positivo	-	3,50 ± 1,06	2,5	-	0,004
IND + sayqa muñ	50	2,83 ± 0,80	2,5	0,684	0,004
IND + sayqa muñ	150	1,17 ± 0,54	1	0,084	0,152
IND + sayqa muñ	300	0,50 ± 0,34	0	0,011	0,461
IND + ranitidina	50	0,83 ± 0,41	0,5	0,026	0,180

* Los datos de ninguno de los extractos presentó distribución normal (p<0,05, Kolmogorov-Simirnov) X: media; DE: desviación estándar; M_{ed}: mediana; IND: indometacina, p_1: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y de la indometacina 80 mg/kg, (Prueba de Mann-Whitney); p_2: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y del suero fisiológico, (Prueba de Mann-Whitney)

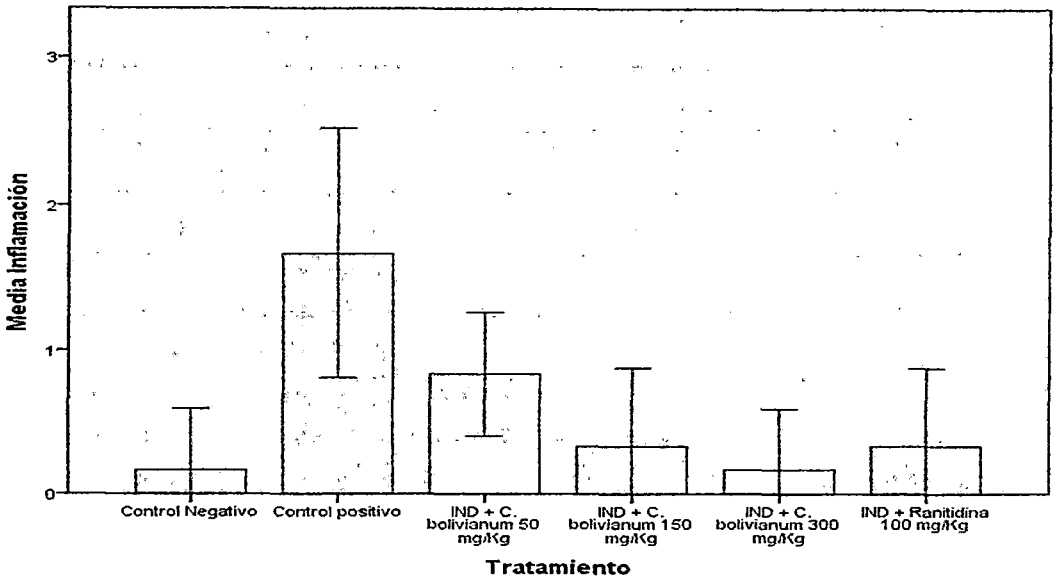


Figura 8: **Valores medios de inflamación en el experimento de inducción de ulcera Gástrica.**

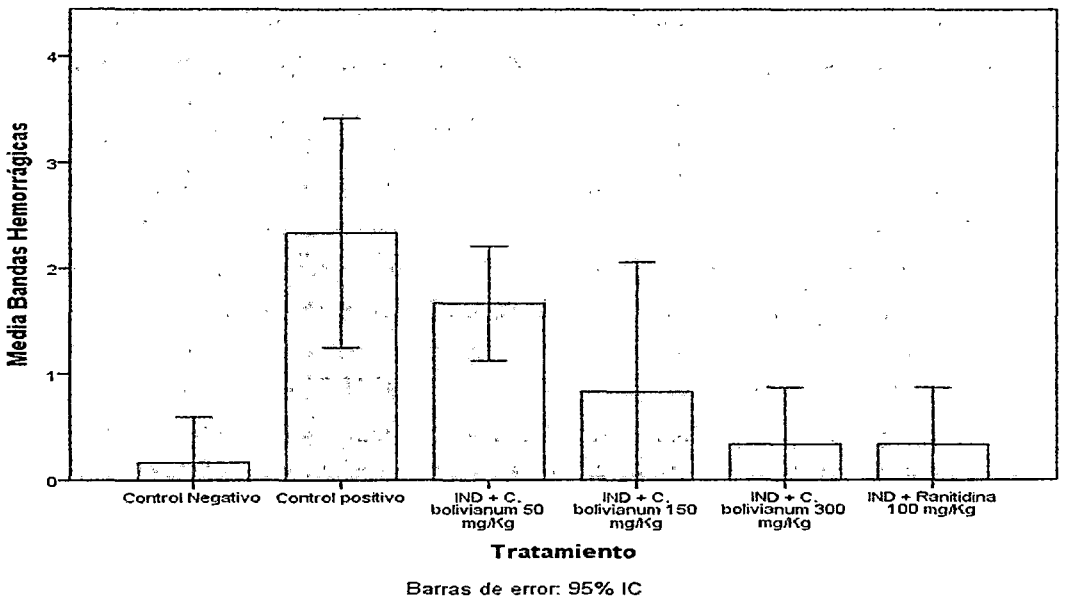


Figura 9: **Valores medio de las Bandas hemorrágicas en el experimento de inducción de úlcera Gástrica.**

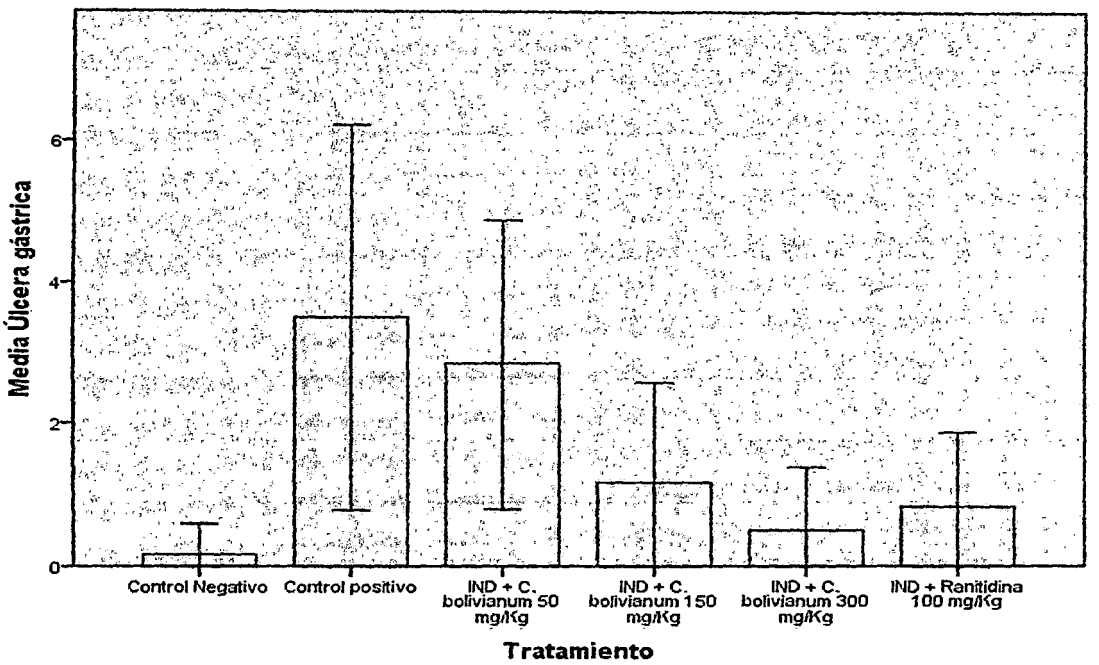
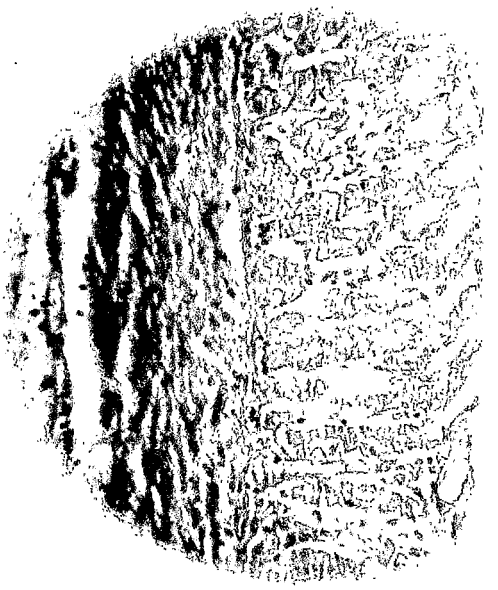


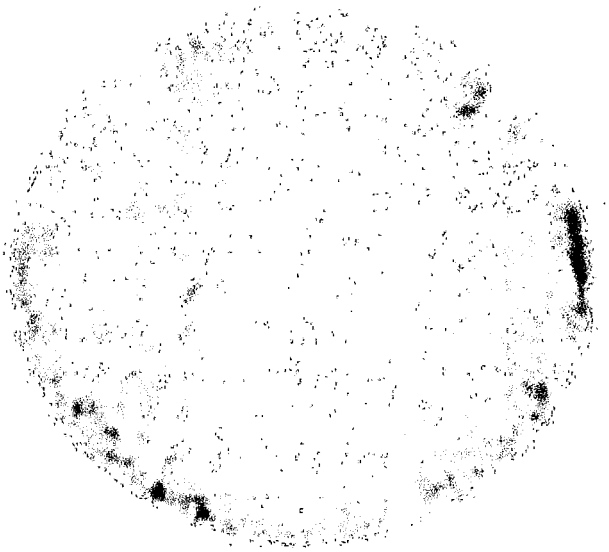
Figura 10: **Valores medios de las úlceras hemorrágicas en el experimento de inducción de úlcera Gástrica.**

6.6. EVALUACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DEL ESTÓMAGO DE RATONES INDUCIDAS CON ÚLCERA GÁSTRICA.



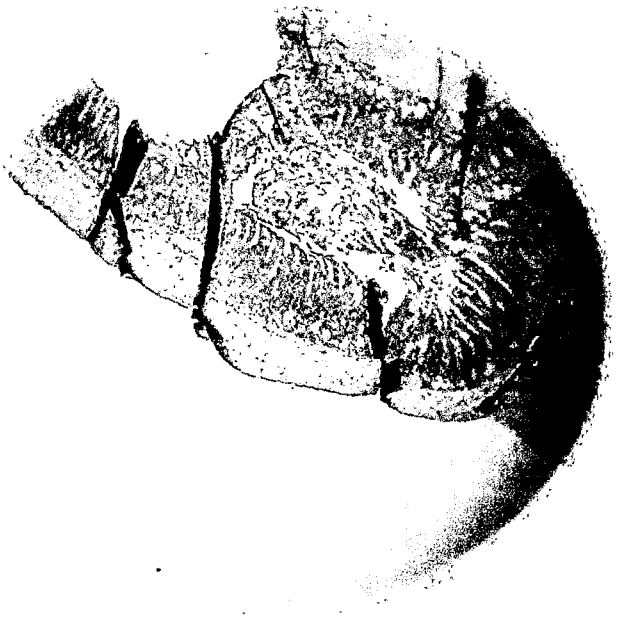
Control SSF + tween 80: Estómago normal. 400X

Figura 11: **Corte histológico del estómago de ratones del grupo control.**



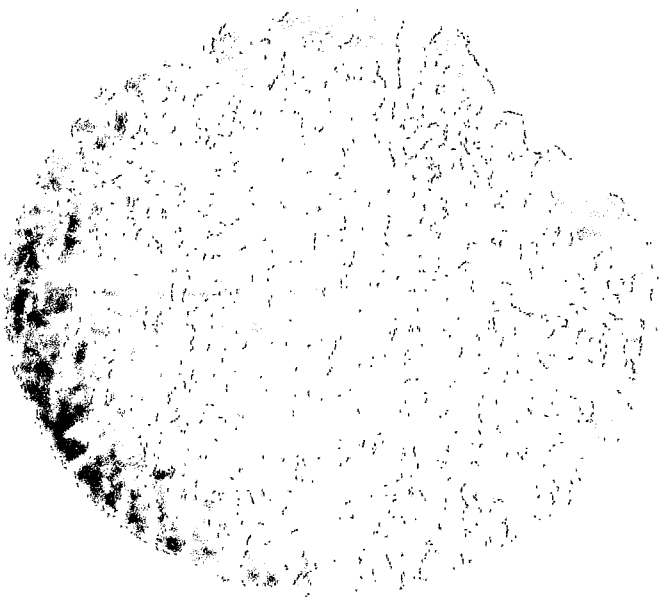
Indometacina: Hipertrofia, luz con detritus, discreta erosión de mucosa, ápices deflecados, infiltración de mononucleares en tercio inferior (gastritis). 400X.

Figura 12: **Corte histológico del estómago de ratones del grupo positivo: Indometacina y etanol.**



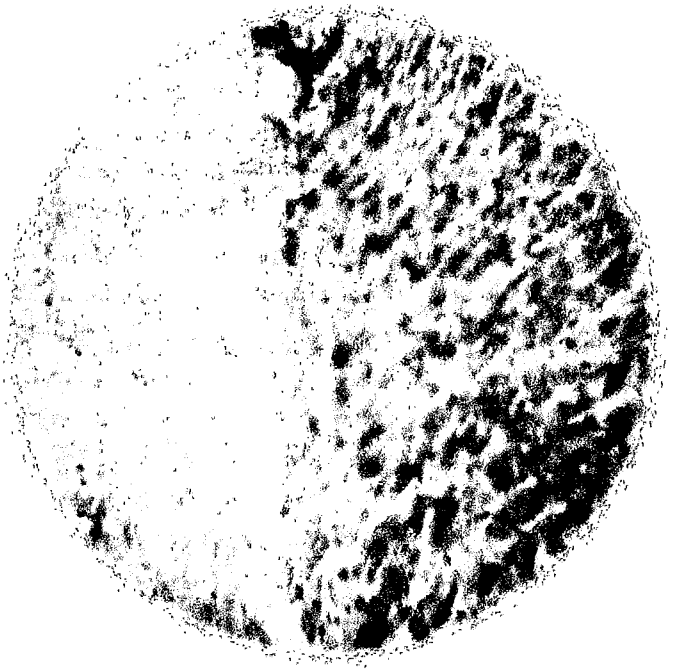
I + Ranitidina: Hipertrofia, luz con detritus, sin gastritis erosiva. 400X.

Figura 13: **Corte histológico del estómago de ratones del grupo estándar: ranitidina.**



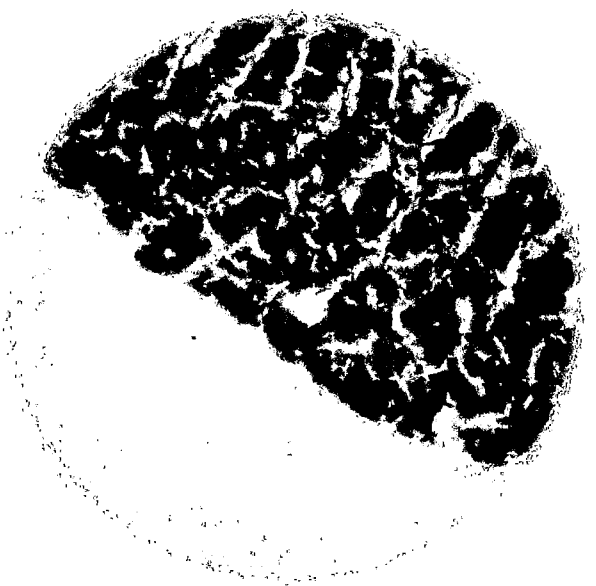
I + sayqa muña 50 mg/kg: Infiltración de células inflamatorias de ápex en la base. 400X.

Figura 14: **Corte histológico del estómago de ratones del extracto: sayqa muña 50 mg/kg.**



I + sayqa muña 150 mg/kg: Discreta descamación superficial, edema de células principales, infiltración de mononucleares en el tercio inferior. 400X

Figura 15: **Corte histológico del estómago de ratones del extracto: sayqa muña 150 mg/kg.**



I + sayqa muña 300 mg/kg: Empastamiento de ápices glandulares, engrosamiento de las células principales de las paredes. 400X.

Figura 16: **Corte histológico del estómago de ratones del extracto: sayqa muña 300 mg/kg.**

6.7. Ensayo de toxicidad oral aguda a dosis única del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* en ratones albinos Balb/C en 15 días.

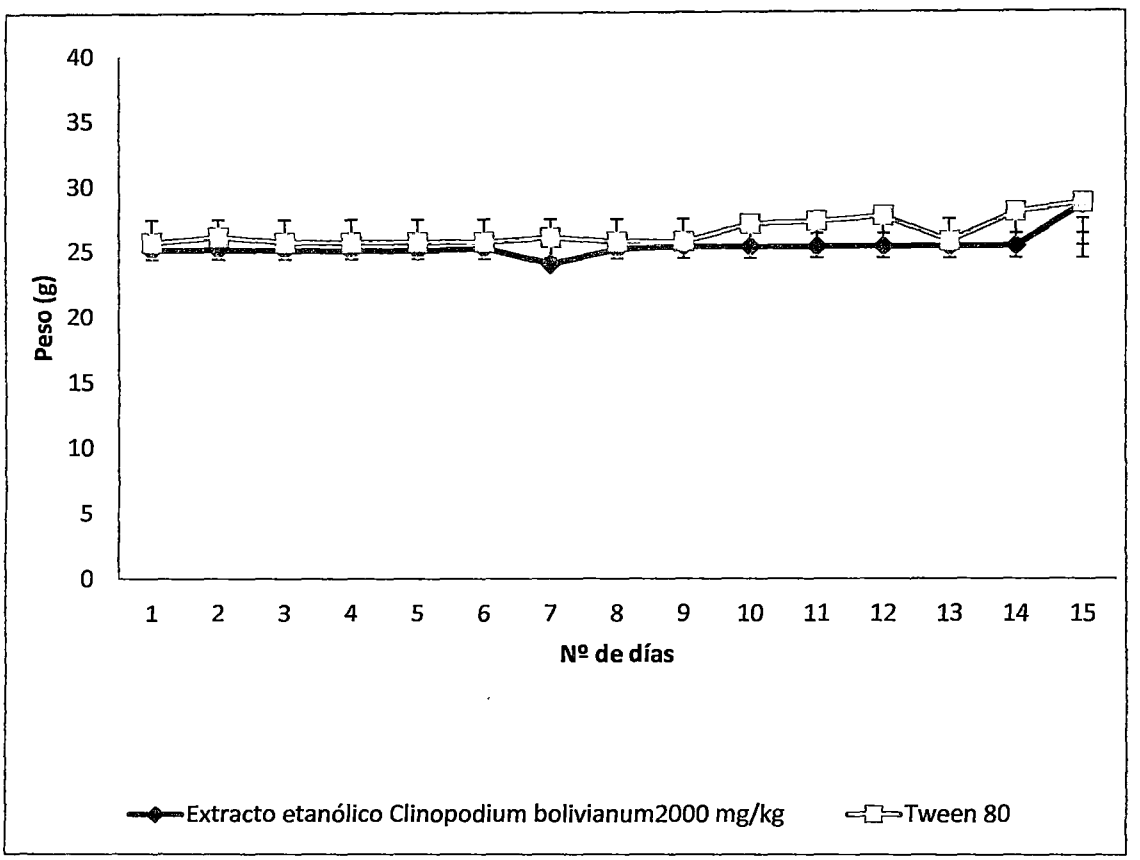


Figura 17. **Ensayo de toxicidad a dosis única durante 14 días de evaluación del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum.***

VII. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivos evaluar el efecto gastroprotector del extracto etanólico *Clinopodium bolivianum (Benth.) Kuntze* "sayqa muña" sobre lesiones ulcerosas. Es necesario mencionar que el aporte científico que se ha obtenido como resultado del presente estudio dará a la población mayor seguridad en el uso de esta especie vegetal como medicina tradicional o folklórica y así mismo queda abierta la posibilidad para la industria de las plantas medicinales de establecer su composición química y elaborar una presentación farmacéutica que garantice su uso terapéutico.

El estudio fitoquímico del extracto etanólico de toda la planta determinó que posee metabolitos como alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos que se muestran en la tabla n°2.

En nuestro trabajo al igual que su uso popular, no se podría precisar si estos principios activos están en mayor porcentaje en alguna parte específica de la planta dado que se utiliza toda la especie [129].

El contenido de polifenoles presentes en el extracto etanólico *Clinopodium bolivianum* fue de 92,12mg de ácido gálico/g para la muestra, en el resultado obtenido se observa una clara relación entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante.

El daño oxidativo es considerado por diferentes modelos experimentales y clínicos como un factor común en la patogénesis de la úlcera dando lugar al cáncer gástrico [130]. Los agentes antioxidantes al atrapar los radicales libres previenen la formación de la lesión ulcerogénica causada por estímulos estresantes, previniendo complicaciones mayores como el cáncer.

Se da una inflamación cuando hay liberación de diversos productos secretores contenidos en los granulocitos, que incluyen diversas proteasas, como las catepsinas, elastasas y colagenasas [131]. A todo ello se sumaría la liberación de numerosos mediadores proinflamatorios (IL-1, la IL-6, prostaglandinas y los leucotrienos), que atraerían a más células proinflamatorias a la zona lesionada, lo que ahondaría más el daño tisular. La producción de especies reactivas de oxígenos (ROS) incrementadas por el proceso inflamatorio debe ser neutralizada para no causar más daño tisular.

La presencia de metabolitos secundarios con propiedad antioxidante en el extracto actuaría como atrapador de radicales libres; entre ellos tenemos a la quercetina y caenferol presentes en *Clinopodium bolivianum*; podemos suponer que dichas sustancias pueden atenuar el efecto nocivo que acarrea todo proceso inflamatorio sobre el tejido [132, 133].

En la investigación realizada en la evaluación de la actividad antioxidante de extracto etanólico de sayqa muña como se indica en la **figura 2,** posee una actividad antioxidante muy buena y esto se atribuye principalmente el contenido de compuestos fenólicos. Al realizar la prueba de la inhibición del radical DPPH de la muestra problema teniendo como parámetro también el Trolox y la vitamina C, mostro tener mayor capacidad de atrapar los radicales libres.

Para evaluar la actividad gastroprotectora del extracto etanólico *Clinopodium bolivianum* en diferentes dosis se utilizó indometacina para producir lesiones ulcerosas gástricas y de esta manera determinar el efecto del extracto.

Según el tratamiento resumido en la tabla 3, para determinar la inflamación se observó que en el En el P_1 se observa diferencia significativa de todas las dosis incluyendo la del control (ranitidina) en comparación con la indometacina. En el P_2 no hay inflamación ($p>0.05$), en la dosis del extracto de 150, 300 y la ranitidina en comparación con el control negativo, pero si hay inflamación en la dosis de 50 mg/kg del extracto.

En la tabla 4, en cuanto a las bandas hemorrágicas en el p_1 se observa diferencia significativa ($p< 0.05$), de todas las dosis administradas en comparación con el control positivo. En el p_2 no hay diferencia significativa en la dosis de 300 mg/kg del extracto y la ranitidina en comparación con el control negativo, pero si hay diferencia significativa en la dosis de 50 y 150 mg/kg.

En la tabla 5, para evaluar las úlceras gástricas se observa que existe una diferencia significativa ($p< 0.05$), en cada uno del grupo tratado en comparación con el control positivo y no hay diferencia significativa de todas las dosis que fueron comparados con el control negativo.

La actividad gastroprotectora del extracto *Clinopodium bolivianum,* es gracias a que en su composición contiene los flavonoides como el canferol y la quercetina , demostrando que el canferol aumenta la liberación de prostaglandinas inhibiendo la secreción de ácido gástrico mediante el receptor PGE-2 unido a una proteína G inhibidora de la célula parietal, estimulando la secreción de bicarbonato, provocando reducción de la exfoliación celular e incremento del flujo sanguíneo mucosal y protegiendo la barrera de la mucosa gástrica [134].

La quercetina es otro flavonoide que posee efecto antioxidante y actividad miolítica que actuarían sobre la musculatura lisa gástrica retrasando el tránsito intestinal y de esta manera reconociendo su actividad citoprotectora [135,136].

Esto acelera la curación de las úlceras gástricas. Anteriormente, nuestro grupo también ha informado la actividad gastroprotectora del extracto etanólico de la planta entera de *Clinopodium bolivianum* contra la ulceración del estómago inducida por indometacina. Estos resultados, tomados juntos con la no toxicidad del extracto indican su potencial como una droga antiulcerogénica para otras investigaciones. La comparación de su eficacia con la ranitidina llevó a confirmar los resultados.

Una limitación fue que por razones económicas no se pudo tener mayor cantidad de animales para probar un mayor número de dosis de los extractos utilizados.

Por todo lo antes mencionado, el presente trabajo de investigación se ha realizado siguiendo un modelo de evaluación farmacológica para plantas de acción antiulcerosa, aportando un mayor conocimiento científico de su efecto gastroprotector.

VIII. CONCLUSIONES

1. Como resultado del Screening Fitoquímico realizado al extracto etanólico *Clinopodium bolivianum (Benth.)Kuntze* "sayqa muña" hemos determinado la presencia de los siguientes grupos de metabolitos secundarios: flavonoides, grupos aminos libres, taninos, alcaloides, quinonas, compuesto fenólicos, triterpenos y saponinas.

2. El contenido de fenoles totales del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* determinado fue de 92,12 mg de ácido gálico/g de extracto.

3. Se logró determinar la actividad antioxidante en el extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* comparándolo con la vitamina c y el Trolox, teniendo una mayor similitud con la vitamina C, semejándose en el porcentaje de reducción del radical tanto en las concentraciones de (0,1ug/ml), (0,5ug/ml), (1ug/ml), teniendo el Trolox mayor poder antioxidante en sus tres concentraciones en comparación con el extracto en problema y la vitamina C.

4. Se determinó la toxicidad oral aguda en dosis repetida durante 14 días del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum* en ratones, administrándole una dosis máxima de hasta 2 000 mg/kg en los ratones tratados, llegando a la conclusión que todos los ratones tratados a estas dosis no presentaron ningún efecto tóxico.

5. En la evaluación del efecto gastroprotector la dosis de mayor efecto fue con la de 300 mg/kg no presentando inflamación, bandas hemorrágicas y úlceras gástricas significativas, teniendo como referencia a la ranitidina.

6. Mediante estudios anatomopatológicos el estómago de los ratones del grupo normal y la inducidas con lesiones ulcerosas, se observan que los tratados con el control positivo (etanol+ indometacina) se evidenció gastritis y no hubo presencia de úlceras en los estómagos de los ratones tratados con suero fisiológicos, al igual a los que fueron tratados con ranitidina no se observa gastritis erosivas, los que fueron tratados con la dosis de 300 mg/Kg del extracto se observa que hay un engrosamiento de las células principales, protegiendo las paredes gástricas y de esta manera evitando que se produzcan ulceraciones.

IX. RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con la investigación en la elaboración de algún tipo de fitomedicamento, considerando la disminución en tiempo de elaboración y la facilidad de administración.
- Aislar y elucidar los compuestos del extracto etanólico *Clinopodium bolivianum* "sayqa muña" para determinar los posibles metabolitos responsables de la actividad antioxidante y gastroprotector.
- Realizar los análisis de espectrometría de masa y resonancia magnética nuclear para la identificación completa de los derivados de los compuestos fenólicos detectados en la presente investigación.
- Evaluar la aplicación de la sayqa muña como agente antioxidante y/o preservante natural en diversos sistemas alimenticios.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. León B. Lamiaceae endémico del Perú. Rev. Perú biol. 2009; 13: 371-379.
2. Brako L, Zarucchi L. Catalogue of the flowering plants and gymnosperms of Peru. Missouri Botanical Garden. 2008; 45(2): 582-586.
3. Schmidt-L A. La bioquímica y la farmacología de Minthostachys (Lamiaceae). Journal of Ethnopharmacology. Rev. Estados Unidos 2010; 118(4): 343–353.
4. Campillo S. Minthostachys spp: Estudio básico de la planta y su cultivo. Trabajo final de carrera (Ing. Técnica Forestal). Lima, Perú. Universidad Politéctica de Valencia (España). Escuela Politécnica Superior de Gandía; Universidad Nacional Agraria La Molina (2007).
5. Fernández J. Incidencia actual de la gastritis. Rev. CENIC ciencias biológicas 2014; 45(1):222-224
6. Bujanda L, Sánchez A, Iriondo C, Santos A, Cosme A y Muñoz C. Estudio comparativo en la erradicación del Helicobacter pylori ranitidina-citrato bismuto frente omeprazol más dos antibióticos durante 7 días. An. Medicina Interna. 2008;18(7):345-348
7. Gonzales E. Evaluación de la Actividad gastroprotectora y ulcerogénica de plantas medicinales bolivianas. Revista Boliviana de Química. 2008; 18(1): 195-198.
8. Hiruma P, Gracioso J, Rodríguez A. Gastroprotective effect of essential oil from *Croton cajucara Benth* (Euphorbiaceae). J. Pharmacol. 2009; 69(4): 229-234.
9. Montero A, Gallegos B. Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (*Plantago major*). 2009; 19(23):239-245.

10. Huamán O, Sandoval M, Arnao I, Béjar E. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote), en ratas. An Fac. med. 2009; 70 (2):97-102.
11. Delgado R. Evaluación del efecto gastroprotector del extracto liofilizado de *Capsicum annun L* en ratas. Universidad Mayor De San Marcos. 2009.
12. Castañeda C, Manrique M, Ibáñez L, Gamarra F, Galán L. Evaluación del efecto antiulceroso del extracto acuoso y metanólico de las semillas de *Lupinus mutabilis* (tarwo, chocho) en ratas. 2007,45(3):234-238.
13. Guarrera P, Hforti G, Hmarignoli S. Ethnobotanical and ethnomedicinal uses of plants in the district of Acquapendente (Latium, Central Italy), Journal of Ethnopharmacology. 2005, 96(3):429-444.
14. Chirinos R, Huamán M, Betalleluz-P I, Pedreschi R, Campos D. Caracterización de compuestos fenólicos del Inca muña (*Clinopodium bolivianum)* hojas y la viabilidad de su aplicación para mejorar la estabilidad oxidativa de aceite de soja durante la fritura. Food Chemistry Rev. Peruana. 2011; 128(4): 711–716.
15. Teodoro A. Fitomedicina, 1100 plantas medicinales. 2003; p: 271-273
16. Bucciarelli A, Mancini M, Skliar M. Estudios de la actividad gastroprotectora de *Solidago chilensis.* Rev. Científicas de América Latina 2007; 16(6): 332-333.
17. Vileta A, Gonzales I, Ravetta D. Metabolismo secundario de plantas en zonas áridas (familia lameacea): mecanismo de producción, funciones y posibilidades de aprovechamiento. Rev. Ecol.austral. 2011; 21(1):3-14.

18. Gonzales E, Iglesias I, Carretero E, Villar A. Gastric cytoprotection of Bolivian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacol. 2009; 70(3): 329-333.

19. Attaguile G, Caruso A, Pennisi G, Savoca F. Gastroprotective effect of aqueous extract of *Cistus incanus L.* in rats. Pharmacol Res. 2008; 31(2): 29-32.

20. Allen A, Flemstrom G, Garner A, Kivilaaso E. Gastroduodenal mucosal protection. Physiol Res. 2005, 73(1):823-857.

21. Villacampa M, Gimeno E, Guerrero L, Cabeza Lamban F, Sáinz R. Prevalencia de Helicobacter pylori en patología gástrica en Aragón. Rev. Esp. EnfermDig. 2008; 82: 315-316.

22. Calvo J, Lima E. Medicina interna tratamiento de la úlcera péptica. Medifam. 2009; 12(5): 214-217.

23. Rodriguez A, Zuleta J. De la fisiología del vaciamiento gástrico al entendimiento de la gastroparesía. Rev. Col. gastroenterol. 2010; 25(2): 29-35.

24. Forrest A, Sanders M. Inflamación del antro gástrico puede conducir a la actividad de marcapasos retrógrada en el estómago. Gastroenterol. 2010; 132 (4): 52-57.

25. Kawashima J, Kato S. La grelina y la secreción de ácido gástrico. Mundial Gastroenterol. 2008; 32 (14): 634-638.

26. Rodriguez D, Alfaro A. Actualización de la fisiología gástrica. Med. Leg Costa Rica. 2009; 27 (2): 18-29.

27. Card W, Marks N. relación entre el ácido del estómago mediante la estimulación de histamina y la masa celular parietal. Ciencia Clínica. 2010; 19(6): 147-150.
28. Tache Y. Regulación central del sistema nervioso de la secreción de ácido. Fisiología gastrointestinal. 2011; 11(5): 14-19.
29. Ibáñez A, Desmarchelier C. Plantas Medicinales autóctonas de la Argentina. Bases para su aplicación en Atención Primaria de la Salud. Ediciones Fitociencia. 2006; 6(2):987-992.
30. Martínez R, Reyes R, Guerrea G, Alfredo A. Nuevos conceptos fisiológicos de la enfermedad ácido péptico. AMC. 2010; 14(3):267-271
31. Cui G, Waldum H. Physiological y la importancia clínica de la activación de células enterocromafines como en la regulación de la secreción de ácido gástrico. Mundial J Gastroenterol. 2011; 28(3):493-496.
32. Cienfuegos A. Serie de la fisiología a la clínica Secreción Gástrica e inhibidores de bomba de protones. Rev. Col. gastroenterol. 2010; 25(1):48-56
33. Isogna K. El efecto de los inhibidores de la bomba de protones en el metabolismo mineral. 2009, 104(5): 2-4.
34. Hammer J, Schmidt B. Efecto de la dosis de la división de omeprazol sobre la acidez gástrica y la acidez nocturna. 2011; 22: 129-134.
35. Fuentes A, Camorlinga M, Maldonado C. Infección, inflamación y cáncer gástrico. Salud pública Mex. 2012; 51(5):567-588

36. Ando T, Goto Y, Maeda Y, Watanabe C. Causal papel de la infección por Helicobacter pylori en el cáncer gástrico. Mundial J Gastroenterol. 2009, 12 (2):181-186.

37. Bors W, Heller W, Michel C, Saran M. Flavonoids as antioxidants: determination of radical scavenging efficiencies Antiulcer. Methods Enzymology. 2009; 186: p. 343-355.

38. Albornos O. Actividad gastroprotectora del diterpeno aromático ferruginol. Universidad austral de chile. 2008

39. Truyols J, Martínez A, García A. Úlcera gástrica y duodenal. Rev. Cubana. 2007

40. Wang R, Ding Y, Liu Y, Xiang L. Granada: constituyentes, bioactividad y farmacocinética .Global science Books. 2010.

41. Kyun W, Tae S, Dong U. El efecto inhibidor de la quercetina-3-O-β-D-gastritis en Glucurono pyranoside esofagitis de Reflujo y en ratas. Corea J Physiol Pharmacol. 2009, 13(4): 295-300

42. Campana N, Hunt H. Papel de la supresión de ácido gástrico en el tratamiento de la enfermedad de reflujo gastroesofágico. 2011; 33(2):118-124.

43. Yahiro K, Okumura K, Ogawa H. Cutting E. Una citotoxina vacuolizante Helicobacter pylori activación directly para Los mastocitos, la Migración y la Producción de citoquinas pro-inflamatorias. J Immunol. 2009; 168:2603-2607.

44. Álvares A, Montero B, Pomar F. Actividad antiulcerosa uno de *Bidens pilosa* extracto etanólico L. var. radiata Schult. Beep. en ratas. Rev. cubana plant med. 2011; 3 (3):12-17.

45. Arai Y, Hirase H, Usuki C, Muramatsu M. Efectos de la indometacina y el frío-el estrés sobre la secreción de ácido gástrico y úlceras. Los efectos de los agentes anti-secretoras de ácido en ratas. Res Commun ChemPathol Pharmacol. 2012; 57:313-327.

46. Chirry W. Estudio comparativo de la acción gastroprotectora de *Plantago major* y el omeprazol sobre la gastritis inducida por la administración de ketorolaco en dosis usuales en la terapia analgésica-antiinflamatoria estomatológica. Universidad Mayor De San Marcos. 2013.

47. Fábregas C. Fisiología gastroduodenal. Gastroenterología. 2013.

48. Moreyra F, López A. Revista española de enfermedades digestivas. Rev. Es. Eferm. Dig. 2007; 96 (1): 25-29.

49. Arbos J, Zegri A, Soriano F, Argiles J. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. Arch Int Physiol Biochim Biophys. 2009; 101:10-15.

50. Lacroix P, Guillaume P. Gastrointestinal Models. Intestinal Transit and Ulcerogenic activity in the rat. Current Protocols in Pharmacology. 2008; p: 53-58.

51. Doucet Y, Vrins A, Dionne R, Alva R, Ericsson G. Efficacy of a paste formulation of omeprazole for the treatment of naturally occurring gastriculcers in training standardbred race horses in Canada. Can Vet J. 2011; 44(7):581-585.

52. Begg M, O'Sullivan B. The prevalence and distribution of gastric ulceration in 345 race horses. Aust Vet J. 2007; 81:199-201.

53. Wiseman L. Efectos de quercetina y naringenina sobre diversos modelos de úlcera gástrica experimental inducida en rata. Tesis doctoral en microficha (Universidad de Sevilla) 2013.

54. Montes P, Salazar S, Monge E. Cambios en la epidemiología de la Úlcera Péptica y su relación con la infección con Helicobacter pylori. Hospital Daniel Carrión 2000-2005. Rev. Gastroenterol. Perú. 2007, 27(4): 382-388.

55. Sainz S, Saperas E, Pique J. Enfermedades de estómago y del duodeno. Medicina Interna. 15a ed. Barcelona. Harcourt, 2004,46(5): 71-106.

56. Osuna L, Tapia M, Aguilar A. Plantas medicinales de la Medicina Tradicional Mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Primera edición. Barcelona: Editorial Universitat de Barcelona; 2010.

57. Toso R, Toribio M, Mengelle P, Boeris M. Plantas de la provincia de La Pampa, Argentina, con actividad gastroprotectora y antiespasmódica. 2010.

58. Alcaraz M, González M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes, Nutrición Hospitalaria. 2002, 17(6):271-278.

59. Sans M, Soriano A. Enfermedad ulcerosa péptica: Etiopatogenia, Clasificación, Manifestaciones, Clínica y Diagnóstico. Medicine. 2009; 8(3):121-127.

60. Sanyal A, Das P, Sincha S, Sinha Y. Banana and Gastric Secretion. J. Pharm Pharmacology. 2010; 13(2): 318-319.

61. La Casa C, Villegas I, Alarcon C, Calero M. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin. 2005; 71(1-2):45-53.

62. Weyder C. A natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. J. Ethnopharmacol. 2008; 69 (3): 229-334.

63. Morris G, Fallone C, Pringle G, MacNaughton W. Gastric cytoprotection is secondary to increased mucosal fluid secretion: A study of six cytoprotective Agents in the rat. 2011; 27(1):53-63.

64. Os'kina O, Pashinskii V, Kanakina T, Povet'eva T. The mechanismos of the antiulcer action of plant drug agents. EkspKlin Farmakol. 1999; 62(4):37-39.

65. Alvarez A, Ramos I, Robaina Y, Pérez G. Efecto antiulceroso de fórmulas que contienen un extracto de *Aloe vera L.* (sábila). Rev. Cubana PlantMed. 2009; 1(3):31-36.

66. Praxis Médica. Gastroenterología: Clínica y Terapéutica. Edit. Praxis Médica S.A. Madrid, España. 2007.

67. Long F, Chiu J, Derelanko J, Steinberg M. Gastric antisecretory and cytoprotective activities of SCH 28080. J Pharmacol ExpTher. 2007; 226 (1):114-120.

68. Baggio H, Freitas C, Rieck L, Marques M. Gastroprotective effects of a crude extract of Baccharisillinita DC in rats. Pharmacol Res. 2008; 47(1):93-98.

69. Lau J, Sung J, Hill C, Henderson C, Howden C, Metz D, et al. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: Digestion. 2011; 84(2):102-113.

70. Shay M, Komarov A, Meranze D, Guenstein H. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. Gastroenterol. 2009 ;(5):43-61.

71. González G. Antiulcerogenic and analgesic activities of the leaves of *Wilbrandia ebracteata* in mice. Phytomedicine 2002; 9(2):125-134.

72. Guaraldo L, Sertie A, Bacchi M. Antiulcer action of the hydroalchoholic extract and fractions of *Davilla rugosa* in rat. J Ethnopharmacol. 2009; 76 (2):191-195.

73. Cabrera A, Herrera Manuel, Lorda L. Comportamiento de la úlcera gastroduodenal perforada. Rev. CubMed. 2011; 40(1):12-21.

74. Romero A, Valovar F, Sevilla A. Gastric antisecretory and antiulcer activities of an ethanolic extract of *Bidens pilosa* L. var. *Radiate Schult.* Bip. J Ethnopharmacol. 2010; 67: 333-340.

75. Sainz R, Borda F, Dominguez E, Gisbert P. Helicobacter pylori infection. Rev. Esp. 2007; 91: 777-784.

76. Giordano S, Guerreiro E, Pestchanker J. The gastric cytoprotective effect of several sesquiterpene lactones. J Nat Prod. 2008; 53: 803-809.

77. Savarino V, Vigneri S, Celle G. pylori eradication in NSAID-associated ulcers. Drug Ther Bull, 2005; 43(5): 37-40.

78. Borrelli F, Izzo A. The plant kingdom as a source of antiulcer remedies. Phytother Res. 2007; 14: 581-591.

79. Amal R, Nezamis E, Lancaster C, HancharJ. Cytoprotection by prostaglandins in rats: prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. Gastroenterol. 2009.

80. Martinez J, Marhuenda E, Perez C, Franco M. Antiulcer effect of naringin on gastric lesions induced by ethanol in rats. Pharmacol. 2009; 49(2): 144-150.

81. Silen W. Experimental models of gastric ulceration and injury. Am J Physiol. 2008; 255: 395-402.

82. Martínez A. Flavonoides. (Citado el 16 de noviembre del 2007). disponible en: http://farmacia.udea.edu.co/ff/flavonoides2001.pdf.

83. Macbride F. Flora of Perú. Botanical series field museum of natural history. 2009, 12:754-756.

84. Singleton V, Monteros J. Colorimetry of total phenolics with hosphomolybdic-phosphotungstic acid reageants. American Journal Enology and Viticulture. 2011, 16(2):144-158.

85. Luster M, Simeonova P, Gallucci R, Bruccoleri A, Blazka M, Yucesoy B. Role of imflammation in chemical-induced ulceration. Toxicology Letters 2008; 120: p. 317-321.

86. MacRae F. Strategies against NSAID-induced gastrointestinal side effects: part 2. Pharm. 2009; 272(7): 219-221.

87. Carvajal A, Camerendum J. Gastroprotection during the administration of non-steroidal anti-inflammatory drugs. A drugutilization study. Eur J Clin Pharmacol. 2007; 60(6): 439-445.

88. Prevención de las lesiones gastrointestinales por AINES: utilización de antiulcerosos. CADIME. Escuela Andaluza de Salud Pública -Bol Ter Andal 2010; 13(2): 5-6.

89. Gurbuz I, Akyuz C, Yesilada E. Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia L.* fruits on various ulcer models in rats. J. Ethnopharmacol. 2009; 71(8): 77-82.

90. Harborne J, Williams A. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry. 2000; 55: 481-504.

91. Nagate T, Numata K, Hanada K, Kondo I. The susceptibility of Campylobacter pylori to agents and antibiotics. J Clin Gastroenterol. 2010; 12(1):135-138.

92. Lewis D, Shaw G. A natural flavonoid and synthetic analogues protect the gastric mucosa from aspirin-induced erosions. J. Nutr. Biochem. 2008; 12: 95-100.

93. Senay C, Levine J. Sinergism betwen cold and restrain for by rapid production of stress ulcers in rats. Proc Exp Biol Med. 2007; 21(2):124-221.

94. Chelimsky G, Czinn S. Helicobacter pylori infection in children: update. Current Opinion in pediatry. 2007; 12: 460-462.

95. Klein P, Gilman R, Díaz F, Smith E. The epidemiology of Helicobacter pylori in Peruvian children between 6 and 30 months of age. Am J Gastroenterol. 2007; 89(3): 2196-2200.

96. Combe B. complications digestives. Presse Med. 2010; 32(2):33-37.

97. Gar G, Nigam P, Ogle C. The gastric antiulcer effects of the leaves of neem tree. Planta Med. 2009; 59(2): 215-217.

98. Rao V, Govindarajan S, Rawat A. Quercetin, flavonoid, protects against oxidative stress-related gastric mucosal damage in rats. Nat. Prod. Sci. 2011; 9(1):68-72.

99. Pardo C, Azevedo H, Freitas C. Síndrome de zollinger-ellison. Rev. Colegio Brasilero de Cirujanos 2008; 27(6): 427

100. Hersey S, Sachs G. Gastric acid secretion. Physiol Res. 2010; 75: 155-89.

101. Funabashi L, Severina E, Hernandes L, Elfriede M. Antiulcerogenic and antioxidant activities of Baccharis trimera (Less) DC (Asteraceae). Rev. bras. Farmacogn. 2009; 19 (1):18-24.

102. Takeuchi K, Tanaka A, Hayashi Y, Kubo Y. Functional mechanism underlying COX-2 expression following administration of indomethacin in rat stomachs: importance of gastric hypermotility. Dig Dis Sci. 2010; 49(2):180-187.

103. Guerrero P, Martin M, Marhuenda E. Prevention by rutin of gastric lesions induced by ethanol in rats, role of endogenous prostaglandins. Gen. Pharmacol. 2008; 25(2):575-580.

104. Phillipson M, Johansson E, Henriksnas J, Persson A, Hansson G, et al. The gastric mucus layers: constituents and regulation of accumulation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008; 295 (4): 806-812.

105. Menguy M, Motilva V, Alarcon C. Quercetin and naringenin, effects on ulcer formation and gastric secretion in rats. Phytother. Res. 2011; 7(1): 150-153.

106. Yamaguchi F, Saito M, Ariga T, Yoshimura Y, Nakazawa H. Free radical scavenging activity and antiulcer activity of garcinol from Garciniaindica Fruit Rind. J. Agric. Food Chem. 2013; 48(3): 2320-2325.

107. Ganong F. Fisiología Médica. Décimo sexta edición. El Manual Moderno, México D.F. México 2007.

108. Lewis D, Fields N, Shaw P. A natural flavonoid present in unripe plantain banana pulp (*Musa sapientum L.* var. paradisiaca) protects the gastric mucosa from aspirin-induced erosions. J. Ethnopharmacol. 2009; 65(5): 283-288.

109. La-Casa C, Cabeza J. Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin. 2008; 53(4): 82-88.

110. Pietta P. Flavonoids as antioxidant. J. Nat. Prod. 2011; 62: 1035-1042.

111. Russo A, Acquaviva R, Campisi A, Sorrenti V. Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. CellBiol. Toxicol. 2007; 16(3): 91-98.

112. Gaspar R, Pedro M, Simoes M .Effect of abietane diterpenes from *Plectranthus grandidentatus* on the growth of human cancer cell lines. Planta Med. 2008; 68(2): 839-840.

113. Ernst P, Gold D. The disease spectrum of Helicobacter pylori: the inmunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. Ann. Rev. of Microbiology. 2010; 54(4): 615-640.

114. Mizokami Y. Efficacy and safety of rabeprazole in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced ulcer in Japan. World J Gastroenterol. 2009; 15(40): 5097–5102.

115. Raybould H. Does Your Gut Taste. Sensory Transduction in the Gastrointestinal Tract. News Physiol Sci. 2007; 13:275-280.

116. Soll A. Physiology of gastric acid secretion. (Citado en mayo 2009). Disponible en: www.uptodate.com

117. Athmann C, Zeng N, Scott D, Sachs G. Regulation of parietal cell calcium signaling in gastric glands. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008; 279:1048-1058.

118. Villalobos J. Úlcera péptica. Principios de Gastroenterología. México: Méndez editores 2007; pp: 369-386

119. Leontiadis I, Sreedharan A, Dorward S. Systematic reviews of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of proton pump inhibitors in acute upper gastrointestinal bleeding. Health Technol Assess. 2007; 11(51):155-164.

120. Hawkey M, Atherton C, Logan F, Hawkey J. Interacción de los Factores de riesgo de la hemorragia por úlcera péptica. Gastroenterología 2010; 116(5): 97-101.

121. Marshall J, Warren R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 2008; (1): 3111-3114.

122. Rollán R, Giancaspero R, Acevedo C, Fuster F. Treatment of Helicobacter pylori infection in patients with duodenal ulcer: A cost-benefit study. Rev. méd. Chile 2004; 128 (4):345-354.

123. Fung L, Pokol-Daniel S, Greenberg R. Characterization of somatostatin receptor subtypes mediating inhibition of nutrient-stimulated gastric acid and gastrin. Endocrinology. 2008; 134(6):2376-2382.

124. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2da ed. Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. p.1-7.

125. García M. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. (Citado el 8 de octubre del 2013). Disponible en: www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2007/56_IUAQGarciaNava.pdf.

126. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology. 1995; 28 (1): 25 -30.

127. O'Brien P, Frydman G, Holmes R, Malcontenti C, Phelan D. Evaluation of putative cytoprotective properties of antiulcer drugs using quantitative histological techniques. Dig Dis Sci. 1990; 35(9):1130-1139.

128. Vega R, Carrillo C. Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto de *Ocimun* gratissimum L. (orégano cimarrón). Rev. Cubana Plant Med. 1997; 2(2-3): 14-18.

129. Leontiadis I, Howden W. Pharmacologic treatment of peptic ulcer bleeding. Curr Treat Options Gastroenterol. 2007; 10(2):134-142.

130. Quintana K. Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de achillea (*Achillea millefolium* l.) y guaviduca (*Piper carpunya Ruiz* & Pav.) en ratas (*rattus norvegicus*) con lesiones gástricas inducidas. Tesis

de grado. Ecuador 2012.

131. Antonio M, Gracioso J, Toma W, Lopez L, Oliveira F. Antiulcerogenic activity of ethanol extract of *Solanum variabile* ("jurubeba") .Ethnopharmacol. 2004, (8):83-93.

132. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev. Cubana Med Milit. 2012; 31(2): 33-126.

133. Domínguez X. Métodos de Investigación Fitoquímica. México: Limusa S.A. 1985.

134. González-Gallegos J, Martínez-Flórez S, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acción antioxidantes. Nutr. Hosp. 2008; 17 (6):268-271.

135. Pardo A. Animal experimentation ethics. Contemporary legal and ethical rules. CuadBioét. 2005; 16(3):393-417. Disponible en: http://www.aebioetica.org/rtf/08-BIOETICA-58.pdf .

136. Shilpi A, Taufiq-Ur-Rahman M, Uddin J, Alam S, Sadhu K. Preliminary pharmacological screening of *Bixa orellana* L. leaves. J Ethnopharmacol. 2008; 108(2): 264-271.

XI. ANEXO

Clasificación taxonómica de "sayqa muña"

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

"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

C O N S T A N C I A Nº 04-USM-2014

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 (Planta completa), recibida de **Fanny Iris VENTURA GUTIERREZ**; ha sido estudiada y clasificada como: ***Clinopodium bolivianum*** *(Benth.) Kuntze; y* tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

GENERO: Clenopodium

ESPECIE: *Clinopodium bolivianum* *(Benth.) Kuntze*

Nombre vulgar: "Kita Muña", "Sayqa Muña".
Determinado por: Dra. Haydeé Montoya (José Campos).

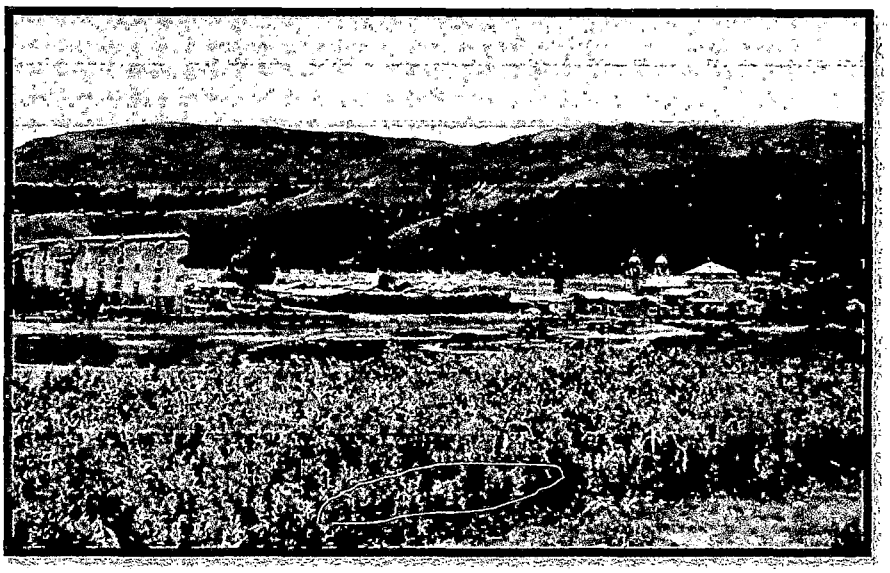
Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 09 de enero de 2014

MUSEO DE HISTORIA NATURAL – Herbario San Marcos - USM

Dra. HAYDEE MONTOYA TERREROS
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Ayacucho-distrito Paico .Ubicación en los campos de la especie: *Clinopodium bolivianum.*

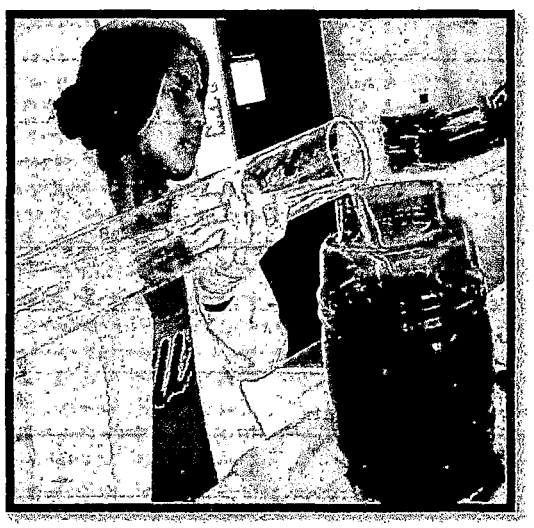


Obtención del extracto etanólico de *Clinopodium bolivianum.*

Limpieza y secado de la planta

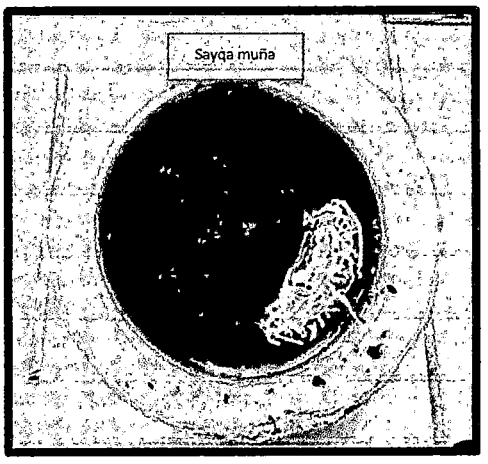
↓

Maceración de la planta

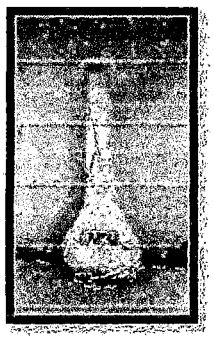


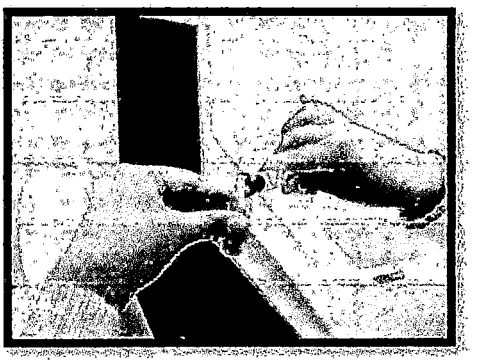
Filtrado

Extracto

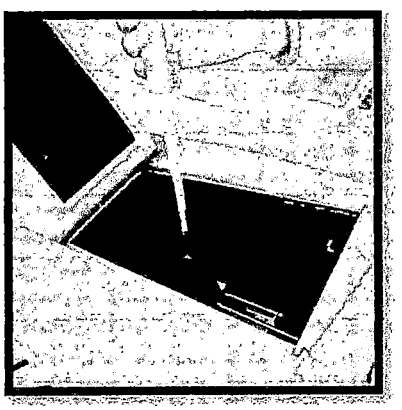


Actividad antioxidante por el método de DPPH

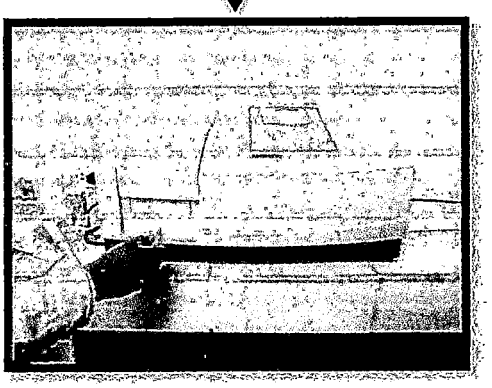




Medir la absorbancia del DPPH (Abs inicial)

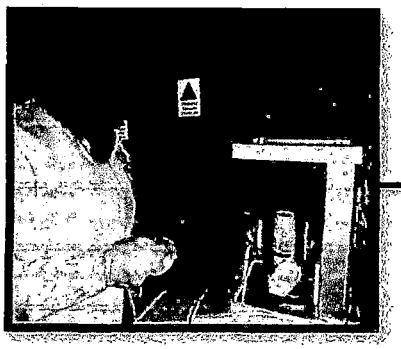


Añadir una de las diluciones del extracto etanólico.

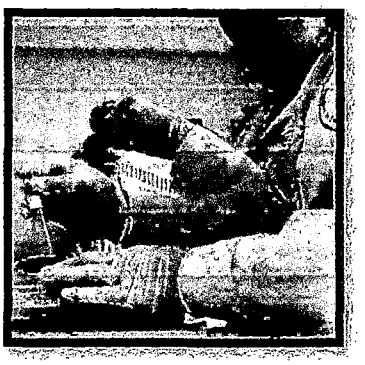


Medir la absorbancia después de 30 minutos (Abs final)

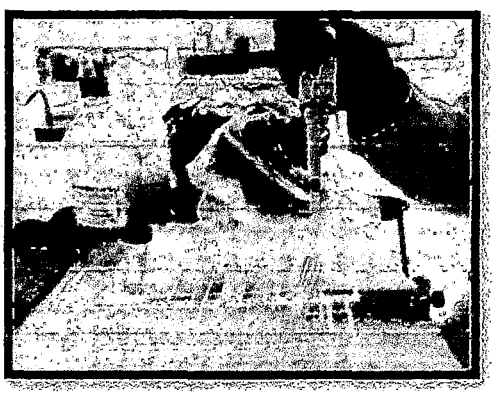
Determinación de compuestos fenólicos

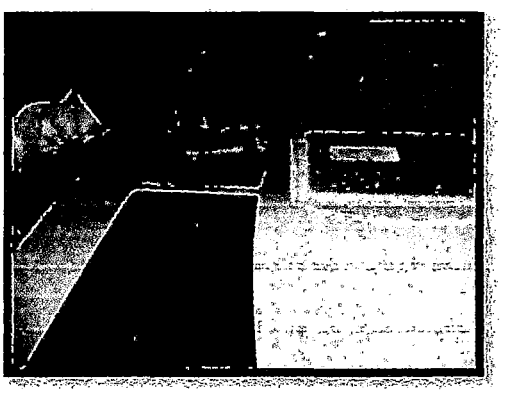


Preparación del ac. Gálico



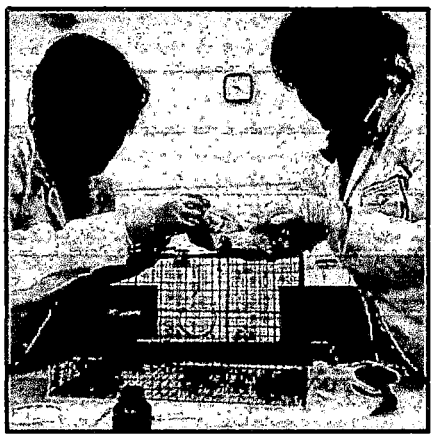
Preparación del carbonato de **sodio 20%**





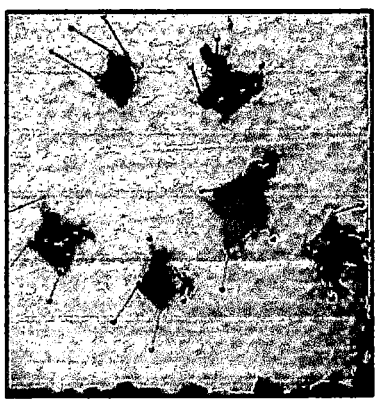
Lectura

Evaluación de la actividad gastroprotector.

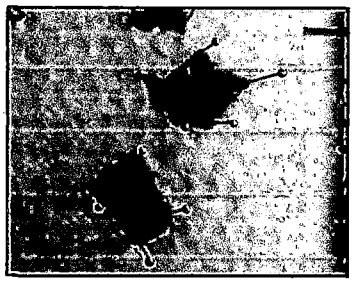


Administración de las diferentes dosis del extracto.

Sacrificio y extracción del estómago, para observar presencia o no del daño gástrico.



Extensión del estómago de los animales de experimentación.



Estomago del animal de experimentación administrado con **suero fisiológico.**

Estomago del animal de experimentación administrado con **etanol+indometacina**

Estomago del animal de experimentación administrado con

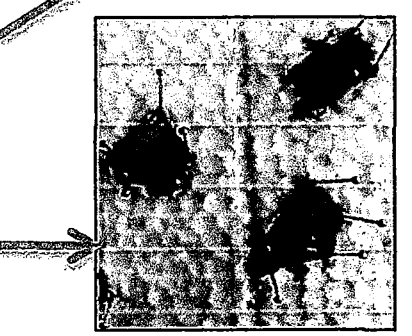
Extracto a una dosis 50 mg/kg

Estomago del animal de experimentación administrado con

Extracto a una dosis 150 mg/kg

Estomago del animal de experimentación administrado con

Extracto a una dosis 300 mg/kg



Estomago del animal de experimentación administrado con

Ranitidina

CONSTANCIA

YO, Dra. FRANCISCA MARTHA GARCIA WONG asesora del borrador de tesis titulado **"EFECTO GASTROPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Clinopodium bolivianum* (Benth). Kuntze "SAYQA MUÑA" SOBRE LESIONES ULCEROSAS INDUCIDAS EN RATONES ALBINOS BAL-C"**, presentado por las Bach. Rivera Oyola Astrid Cinthia, Bach. Ventura Gutiérrez Fanny Iris he revisado el mismo y autorizo su presentación ante su dirección para su revisión y aprobación.

Sin más por el momento, reciba cordial saludo

Atentamente

.....

ASESORA DE TESIS
Dra. Francisca Martha García Wong
DEPARTAMENTO. Ciencias Farmacéuticas
Cátedra de Fisiopatología

CONSTANCIA

YO, Mg. OSCAR HERRERA CALDERÓN Co-asesor del borrador de tesis titulado **"EFECTO GASTROPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Clinopodium bolivianum* (Benth). Kuntze "SAYQA MUÑA" SOBRE LESIONES ULCEROSAS INDUCIDAS EN RATONES ALBINOS BAL-C"**, presentado por las Bach. Rivera Oyola Astrid Cinthia, Bach. Ventura Gutiérrez Fanny Iris he revisado el mismo y autorizo su presentación ante su dirección para su revisión y aprobación.

Sin más por el momento, reciba cordial saludo

Atentamente

.....

CO-ASESOR DE TESIS
Mg. Oscar Herrera Calderón
DEPARTAMENTO. Ciencias Farmacéuticas
Cátedra de Fisiopatología