

**UNIVERSIDAD NACIONAL
"SAN LUIS GONZAGA" DE ICA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Efecto gastroprotector del extracto etanólico de rizoma
de *Dioscorea larecajensis* "piedra de las alturas" sobre
lesiones gástricas inducidas por etanol en ratones
albinos Balb-c**

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

PRESENTADO POR:
Bach. HEREDIA HUANJARES, CRISTOFER ERLIAN
Bach. VARGAS CADILLO, ERIKA CARMELA

ASESORES:
Dra. Q.F. FRANCISCA MARTHA GARCIA WONG
Mg. Q.F. OSCAR HERRERA CALDERON

ICA - PERÚ

2014

A mi Madre Huanjares Osorio Juliana y mis Hermanos Fidel, Jair, Joseph. Las personas más importantes de mi vida, por alentar mis metas y ayudarme siempre a mantener mis convicciones.

A mis Asesores: Garcia Wong Francisca Martha, Herrera Calderón Oscar por apoyarnos en este reto, ayudarnos a crecer y por tenernos paciencia, gracias por todo.

Cristofer

En el presente trabajo de tesis me gustaría agradecer a ti Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A ti papa, que me enseñaste todo el valor y toda la fuerza en un solo abrazo.

A mi mama que dentro de sus preocupaciones me dio la posibilidad de cumplir esta meta.

A mis queridos hermanos que nunca han dejado de animarme a continuar con mi formación, con constancia y tenacidad.

Debo agradecer de manera especial y sincera a la Dra. Francisca Martha Garcia Wong y el Dr. Oscar Herrera Calderón por aceptarnos para realizar esta tesis bajo su dirección. Su apoyo y confianza en nuestro trabajo y su capacidad para guiar nuestras ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en nuestra formación como investigadores

Erika

AGRADECIMIENTOS

Esta 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 al Mag. Q.F **Oscar Herrera Calderón**, a quienes agradecemos nos hayan brindado la oportunidad de compartir sus conocimientos, enseñanzas, orientación, para la ejecución de la presente investigación.

INDICE

	Pág.
SUMMARY	
RESUMEN	
I. INTRODUCCION	13
II. MARCO TEORICO	17
2.1. Antecedentes	18
2.2. Descripción botánica	20
2.3. Principales metabolitos secundarios presentes en la Especie <i>Dioscorea larecajensis</i> "Piedra de las alturas"	21
2.4. Descripción de la mucosa gástrica	29
2.5. Secreción ácida gástrica	29
2.6. Mecanismo de defensa de la mucosa gástrica	34
2.6.1. Mucus gástrico	35
2.6.2. Secreción de bicarbonato gástrico	36
2.6.3. Flujo sanguíneo en la mucosa gástrica	37
2.7. Úlcera péptica	38
2.8. Terapéutica de la úlcera gástrica	40
2.8.1. Antiácidos	40
2.8.2. Antagonistas muscarínicos	41

2.8.3. Antagonistas de los receptores H ₂	42
2.8.4. Citoprotectores	43
2.8.5. Inhibidores de la H ⁺ -K ⁺ -ATPasa	41
2.8.6. Tratamiento antisecretor	44
III. MATERIALES Y METODOS	
3.1. MATERIALES	
3.1.1. Material biológico	48
3.1.2. Materiales de vidrio	48
3.1.3. Reactivos	48
3.1.4. Medicamentos	49
3.1.5. Equipos	49
3.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA	
3.2.1. Estudio fitoquímico	50
3.2.1.1. Recolección, Selección, secado de la muestra en estudio	50
3.2.1.2. Clasificación Taxonómica de la especie vegetal	50
3.2.1.3. Obtención del extracto acuoso	51
3.2.1.4. Screening Fitoquímico	51
3.2.1.4.1. Detección de grupos funcionales y metabolitos secundarios	51
3.3. Determinación de compuestos fenólicos	52
3.4. Evaluación de la actividad antioxidante	54

3.4.1. Método de inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH)	54
3.5. Evaluación del efecto gastroprotector.	
3.5.1. Método experimental	56
3.6. Determinación de la dosis letal 50 (DL50)	58
3.7. Análisis estadístico	59
IV. RESULTADOS.	
4.1. Estudio fitoquímico	
4.1.1. Clasificación taxonómica	61
4.1.2. Porcentaje de rendimiento del extracto etanólico seco de la obtención del extracto etanólico	61
4.2. Análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanólico	62
4.3. Evaluación de la actividad antioxidante in vitro	63
4.4. Evaluación de la toxicidad oral aguda	63
4.5. Evaluación del efecto gastroprotector	64
4.6. Evaluación anatomopatológica del estómago de ratones inducidas con úlcera gástrica	67
V. DISCUSIÓN	70
VI. CONCLUSIONES	77
VII. RECOMENDACIONES	80
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
IX. ANEXOS	100

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica del distrito de San Marcos

Figura 2. Planta de *Dioscorea larecajensis*

Figura 3. Estructura básico del flavonoide

Figura 4. Síntesis y derivados de los flavonoides

Figura 5. Estructura de la quercetina

Figura 6. Comparación de la actividad antioxidante de *Dioscorea larecajensis* "Piedra de las alturas", Trolox y Vitamina C a diferentes concentraciones.

Figura 7. Medianas de la inflamación de los grupos experimentales

Figura 8. Medianas de las bandas hemorrágicas de los grupos experimentales.

Figura 9. Medianas del número de úlceras gástricas de los grupos experimentales.

Figura 10. Corte histológico del grupo control SSF 2 ml/kg.

Figura 11. Corte histológico del grupo experimental que recibió Etanol + indometacina (E+I).

Figura 12. Corte histológico del grupo experimental que recibió (E+I) + Dioscorea 50 mg/kg.

Figura 13. Corte histológico del grupo experimental que recibió (E+I) +
Dioscorea 150 mg/kg.

Figura 14. Corte histológico del grupo experimental que recibió (E+I) +
Dioscorea 300 mg/kg.

Figura 15. Corte histológico del grupo experimental que recibió (E+I)+
Ranitidina

LISTA DE TABLAS

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

Tabla 2. Prueba preliminar cualitativa de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis*.

Tabla 3. Evaluación de la inflamación en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

Tabla 04. Evaluación de bandas hemorrágicas en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

Tabla 05. Evaluación de úlcera gástrica en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina.

RESUMEN

Dioscorea larecajensis, conocida como “piedra de las alturas”, esta especie vegetal es un recurso natural usado tradicionalmente para la cicatrización de heridas, úlceras gástricas, cólicos abdominales y como tratamiento erradicador de la caspa. Se comprobó el efecto gastroprotector del extracto etanólico del rizoma de *Dioscorea larecajensis* “piedra de las alturas” administrado a 50, 150, 300 mg/kg sobre ratones albinos Balb-C. Para el estudio del efecto gastroprotector se trabajó el método de inducción de úlceras empleando indometacina y etanol, El siguiente grupo de ratones se subdividido en 6 grupos de 6 animales c/u como sigue: Grupo 1: Suero fisiológico (2ml/kg); Grupo 2: Etanol + indometacina; Grupo 3: El + Dioscorea 50 mg/kg; Grupo 4: El + Dioscorea 150 mg/kg; Grupo 5: El + Dioscorea 300 mg/kg; Grupo 6: El + Ranitidina.

Los metabolitos secundarios identificados mediante reacciones de coloración y precipitación en el extracto etanólico de rizoma de *Dioscorea larecajensis* “piedra de las alturas” fueron: flavonoides como la quercetina y caenferol y saponinas. En conclusión queda demostrado que el extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* tiene efecto gastroprotector en los modelos experimentales trabajados Siendo el extracto de mayor actividad el de 300 mg/kg superior al efecto gastroprotector de ranitidina 50 mg/kg.

Palabras clave: *Dioscorea larecajensis*, úlcera gástrica, ratones, El: etanol + indometacina.

SUMMARY

Dioscorea larecajensis known as the "piedra de las alturas", this plant species is a natural resource traditionally used for wound healing, gastric ulcers, abdominal cramps, and as eradication treatment of dandruff.

The gastroprotective effect of ethanol extract of the rhizome of *Dioscorea larecajensis* "stone Heights" administered to 50, 150, 300 mg / kg was tested on albino mice Balb-C. For study the effect gastroprotector induction method worked ulcers using indomethacin and ethanol, The next group of mice were divided into six groups of 6 animals : Group 1: Saline (2 ml / kg); Group 2: Ethanol + indomethacin; Group 3: El + *Dioscorea* 50 mg / kg; Group 4: El + *Dioscorea* 150 mg / kg; Group 5: El + *Dioscorea* 300 mg /kg ;Group 6: El+ranitidine 50mg/kg.

Identified by color and precipitation reactions in the ethanol extract of the rhizomes of *Dioscorea larecajensis* "stone Heights" "secondary metabolites were flavonoids such as quercetin and caenferol and saponins.

In conclusion it is demonstrated that the ethanol extract of *Dioscorea larecajensis* has gastroprotective effect in experimental models being worked extract the greatest activity of 300 mg / kg over the gastroprotective effect of ranitidine 50 mg / kg.

Keywords: *Dioscorea larecajensis*, gastric ulcer, mice, El: ethanol+

indomethacin

I. INTRODUCCIÓN

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

El Perú presenta una riqueza y megadiversidad 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 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 anti secretor en la cicatrización de la úlcera y la supresión de la acidez gástrica ^(5,6). Sin embargo, 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 AINE 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 *Dioscorea larecajensis* en ratones albinos con daño gástrico por acción del etanol.

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto gastroprotector del extracto etanólico del *Dioscorea larecajensis* sobre lesiones gástricas inducidas con etanol en ratones albino Balb-C.

Objetivos Específicos:

1. Determinar los metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* "piedra de las alturas" mediante el screening fitoquímico preliminar.
2. Determinar la toxicidad oral aguda en dosis única durante 14 días del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* en ratones albinos Balb-C.
3. Determinar la capacidad antioxidante frente al radical DPPH del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis*.
4. Evaluar el efecto gastroprotector del extracto etanólico del *Dioscorea larecajensis* en tres niveles de dosis sobre lesiones ulcerosas inducidas con etanol e indometacina en ratones albinos Balb-C.
5. Evaluar mediante estudios anatomopatológicos el estómago de los ratones del grupo normal y las inducidas con lesiones ulcerosas.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

➤ UBICACIÓN GEOGRAFICA

“Piedra de las alturas “esta planta abunda en la sierra del Perú, natural del departamento de Ancash, provincia Huari, en el distrito de San Marcos.

El distrito de San Marcos se encuentra a una altitud de 2 977 m.s.n.m.
y está en las siguientes coordenadas: 18 L 263200 y UTM 8946437.

San Marcos forma parte del Callejón de Conchudos, ubicado al este de la Cordillera Blanca a 09°31'15" Latitud Sur y 77°09'17" de Longitud Oeste, está constituido por las laderas y valles del flanco oriental de la Cordillera Blanca hasta el Río Marañón.

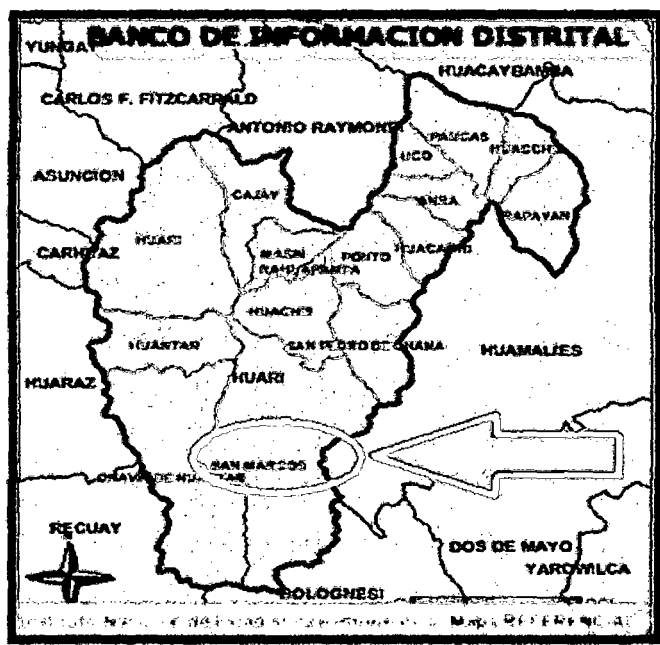


Figura N° 01. Mapa de ubicación geográfica de la procedencia de *Dioscorea larecajensis*

➤ **USOS EN LA MEDICINA POPULAR**

En la región de Ancash el uso tradicional que se le da a esta especie es en forma de extracto acuoso que consiste en extraer un extracto que se combina con agua hervida y se consume en ayunas mientras el residuo sólido se utiliza en forma de emplasto para acelerar el proceso de cicatrización de heridas.

Otro uso que se le da es que por la gran cantidad de saponinas presentes en su composición se usa para la caspa o seborrea, y otras afecciones del cuero cabelludo.

En cuanto a los dolores abdominales, gastritis, úlceras gástricas, cólicos abdominales se toma el extracto acuoso a temperatura media en ayunas.

➤ **REFERENCIAS DEL GENERO *DIOSCOREA* "PIEDRA DE LAS ALTURAS"**

El ñame (*Dioscorea* spp.) es un cultivo de elevada importancia socioeconómica, en especial para los países en desarrollo situados en los trópicos, es difundido y cultivado a mayor escala en África, Caribe, Asia y Oceanía ⁽⁸⁾.

La familia Dioscoreaceae está representada por entre seis y nueve géneros y alrededor de 600 a 900 especies, muchas de ellas de elevado potencial económico. Alrededor de 25 especies de *Dioscorea*

son citadas como alimenticias, 15 especies como medicinales y seis como ornamentales. Más de 60 especies de este género tienen valor económico, a pesar del escaso conocimiento taxonómico sobre la familia ⁽⁹⁾.

2. DESCRIPCIÓN BOTANICA

➤ DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICAS

En sentido general, “piedra de las alturas” es una planta cuya raíz comestible es muy apetecida por su valor alimenticio. La parte superficial de la planta es una enredadera trepadora con tallos (bejuco) que pueden alcanzar más de 1 metro.

El tallo de la planta de ñame es parecido a una cuerda y comúnmente se denomina «bejuco». El tallo para su desarrollo y para la producción de la planta, necesita un soporte donde enrollarse.

Las hojas tienen una gran variabilidad en cuanto a la forma, tamaño y color. Generalmente, la hoja es simple y con márgenes lisos, el ápice es puntiagudo, no tiene pubescencia y el pecíolo es largo, pudiendo ser alado o espinado. La base del pecíolo puede tener un par de espinas como en *D. esculenta*, o estructura en forma de oreja como en *D. bulbífera* y *D. alata* o simplemente presentar una inflamación como en el caso de *D. rotundata* y *D. cayenensis* ⁽¹⁰⁾.

La Piedra de las alturas se caracteriza por tener un sistema de raíces fibroso o en forma de cabellera, de crecimiento horizontal dentro de los primeros 30 cm de profundidad del suelo, aunque algunas raíces profundizan hasta 1 m. ⁽¹¹⁾.

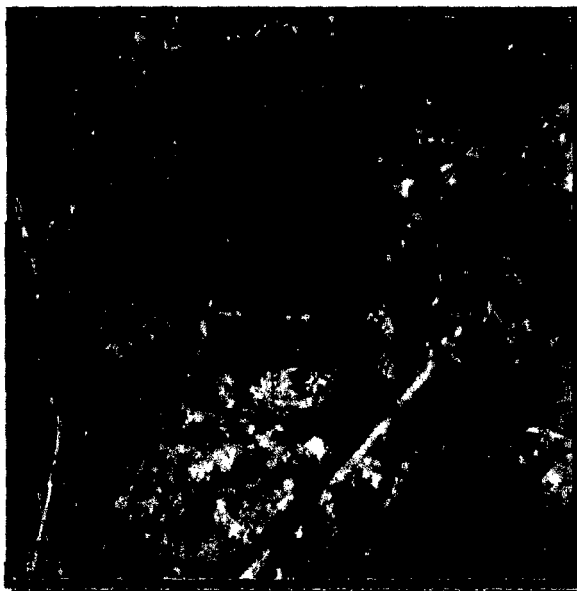


Figura 2. Hábitat de la especie *Dioscorea larecajensis*

2.3. PRINCIPALES METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN LA ESPECIE *Dioscorea larecajensis* "Piedra de las alturas"

Los metabolitos secundarios identificados mediante reacciones de coloración y precipitación en el extracto etanólico de la planta enterada de *Dioscorea larecajensis* "Piedra de las alturas" "fueron: flavonoides como la quercetina y canferol. ^(12, 13)

➤ 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^(14,15,16). Constituyen el grupo más grande y más importante de compuestos polifenólicos en las plantas ⁽¹⁷⁾. 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^(18,19,20).

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 ^(21,22,23).

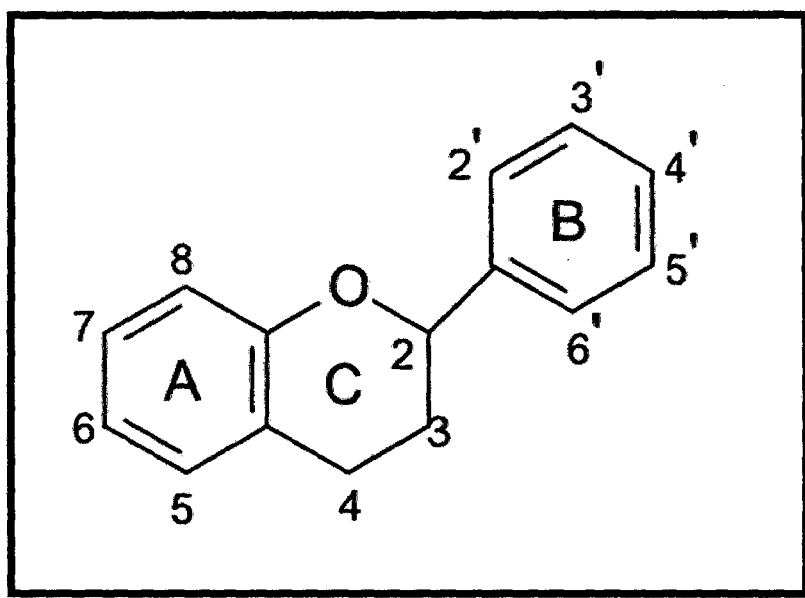


Figura 3. Estructura básica del flavonoide ⁽²⁴⁾.

➤ 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-cumaroil-CoA para dar una chalcona intermedio. Las Chalconas actúan como precursores para la amplia gama de derivados de flavonoides que se encuentran en todo el reino vegetal⁽²⁵⁾. 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^(26, 27, 28, 29, 30). 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⁽³¹⁾. 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⁽³²⁾.

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⁽³³⁾. 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, flavanonas, isoflavonas, flavanoles catequinas, flavanolol y antocianidinas - son particularmente bien conocidos ^(34,35).

➤ PROPIEDADES BIOLÓGICAS 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 ⁽³⁶⁾. Los efectos terapéuticos de muchos medicamentos tradicionales pueden estar relacionados en muchos casos a la presencia de estos polifenoles⁽³⁷⁾. 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, y sus ingestión produce típicamente ninguna o muy poca toxicidad ⁽³⁸⁾. También se informó de flavonoides de actuar en el tracto gastrointestinal, que tiene antiespasmódico, anti-secreta, antidiarreico y propiedades antiulcerosas ⁽³⁹⁾. 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 ⁽⁴⁰⁾.

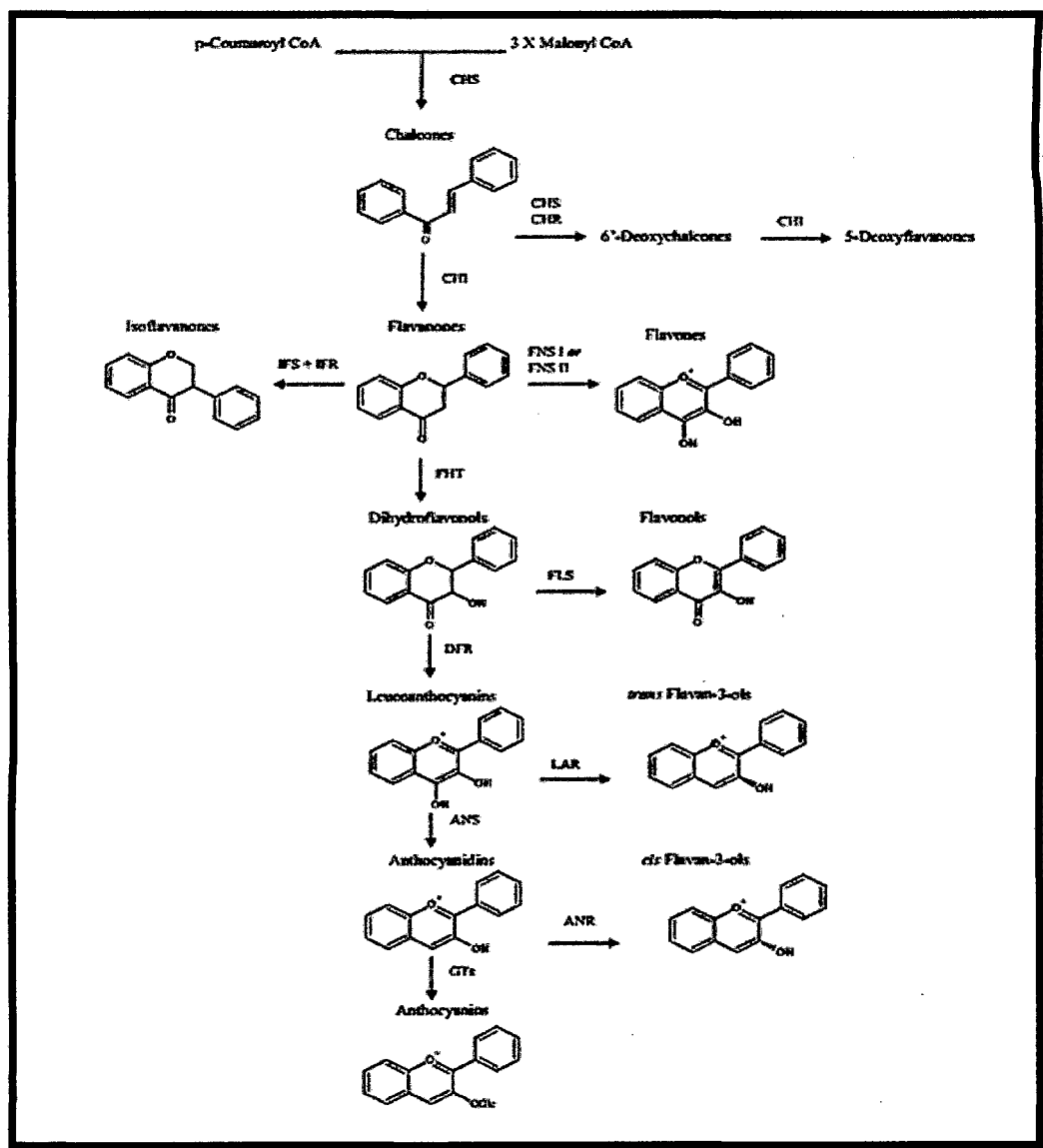


Figura 4. Ruta Biosintética de los principales flavonoides (40)

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^(41,42). Algunos de ellos, reducen la motilidad gastrointestinal prolongando el tiempo de contacto de los extractos con las paredes del estómago y aumentando de esta manera el efecto gastroprotector⁽⁴³⁾.

Por tanto previenen lesiones en la mucosa gástrica inducida por diferentes Métodos y la protegen contra distintos agentes necróticos ⁽⁴⁴⁾.

➤ 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 necróticos, incluso coercitivos estrés pílora-ligación, la reserpina, la aspirina, la indometacina, el ácido-etanol y úlceras gástricas inducidas por etanol ⁽⁴⁵⁾.

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 ^(46,47).

Durante estos estudios se desconocía aún gran parte de la acción del sistema nervioso central y entérico sobre la actividad gástrica y el papel de la barrera mucosa gástrica. Sin embargo, estas experiencias pusieron en evidencia la importancia de la motilidad gástrica y su relación con la génesis de las lesiones de la mucosa ⁽⁴⁸⁾. 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 embargo 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 gástrico liberado por la la bomba de protones H/K+ATPasa ⁽⁴⁹⁾.

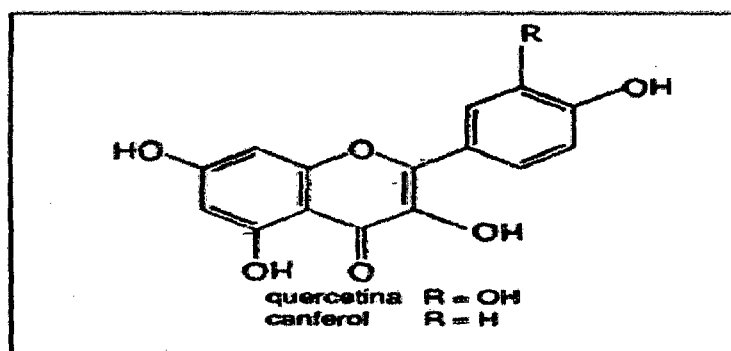


Figura 5. Estructura de quercetina y canferol

➤ 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 prostanoïdes 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. Todas estas acciones contribuyen a preservar la barrera mucosa gástrica. (50,51)

2.4 DESCRIPCIÓN DE LA MUCOSA GÁSTRICA

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⁽⁵²⁾.

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 ⁽⁵³⁾.

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 antro pilórica 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 ^(54, 55,56).

2.5 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 ⁽⁵⁷⁾. 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 ⁽⁵⁸⁾.

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 ⁽⁵⁹⁾.

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 ⁽⁶⁰⁾.

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 ⁽⁶¹⁾.

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 ⁽⁶²⁾.

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 ^(63,64).

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 ⁽⁶⁵⁾. 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 ⁽⁶⁶⁾.

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-ciclase, el AMPc intracelular y la proteincinasa A ⁽⁶⁷⁾. 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 ⁽⁶⁸⁾.

2.6 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 ⁽⁶⁹⁾.

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. PGE_2). El déficit de alguno de estos factores puede facilitar el daño de la mucosa del órgano ⁽⁷⁰⁾.

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 ^(71,72).

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. Ante tales antecedentes, parece evidente que la mucosa gástrica posee eficientes mecanismos fisiológicos de protección ⁽⁷³⁾.

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).⁽¹⁵⁾.

2.6.1. 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 ^(74,75).

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 ⁽⁷⁶⁾. 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 ⁽⁷⁷⁾. 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 ⁽⁷⁸⁾.

2.6.2. 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 ⁽⁷⁹⁾.

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 hidrólisis de GTP a GMPc ⁽⁸⁰⁾. 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 ⁽⁸¹⁾.

El bicarbonato gástrico es estimulado por algunos de los estimulantes de la secreción de ácidogástrico, 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 ^(82,83).

Los principales inhibidores de la secreción son los inhibidores de la ciclo-oxigenasa, antagonistas muscarínicos, agonistas α 2-adrenérgicos y acetazolamida ⁽⁸³⁾.

2.6.3. 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 ^(84,85).

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 ⁽⁸⁶⁾. 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 ⁽⁸⁷⁾. El oxígeno y nutrientes para el metabolismo, son muy importantes para prevenir las úlceras gástricas ⁽⁸⁶⁾. 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 ⁽⁸⁸⁾.

2.7 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 ^(89,90).

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 ⁽⁹¹⁾.

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 AINE, al inhibir la enzima ciclooxigenasa 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*, les por ello que más del 99% de los casos pueden explicarse por estos dos factores. El tercer factor

involucrado es la hipergastrinemia 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 ^(92,93,94).

2.8 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 ⁽⁹⁵⁾.

2.8.1. 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 ⁽⁹⁶⁾. 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 ⁽⁹⁷⁾.

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 ⁽⁹⁸⁾.

Dentro de los alcalinos, es aconsejable utilizar aquellos que no se reabsorban para evitar así la aparición de efectos indeseables. Estos son el hidróxido de aluminio y el hidróxido de magnesio. El hidróxido de aluminio puede provocar estreñimiento, y el de magnesio diarrea ⁽⁹⁹⁾.

2.8.2. 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 ácida 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 cardíacas y retención urinaria ^(100,101).

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 ^(102,103).

2.8.3. Antagonistas de los receptores H2.

Dentro de este grupo tenemos: Ranitidina, famotidina, cimetidina, nizatidina y rosatidina. 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 ^(104,105).

El efecto antisecretor persiste de 10 a 12 horas en el caso de la ranitidina y de 10 a 16 horas en el caso de la famotidina.

La dosis a la que se administran los diferentes anti-H2 son: ranitidina 300 mg/día, famotidina 40mg/día, cimetidina 800 mg/día, nizatidina 300mg /día ⁽¹⁰⁶⁾.

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) ⁽¹⁰⁷⁾. Un A-RH₂ más reciente es la Famotidina, el más potente que se conoce, 34 veces más potente que la Cimetidina y 9 veces más que la Ranitidina. Actualmente siguen apareciendo drogas de acción similar a la Famotidina, como la Nizatidina y la Ebrotidina ⁽¹⁰⁸⁾.

2.8.4. Citoprotectores.

La mucosa gástrica cuando está expuesta a la acidez luminal, secreta mucus y bicarbonato (HCO₃), 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 ⁽¹⁰⁹⁾. Las PGs estimulan la secreción de HCO₃ 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 ⁽¹¹⁰⁾.

2.8.5. Inhibidores de la H⁺-K⁺-ATPasa

La fase final de la secreción ácida 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 ácida, independientemente del estímulo. En este sentido, en los últimos años han aparecido varias drogas disponibles de esta nueva clase de inhibidores de la secreción ácida gástrica: Omeprazol, lanzoprazol, pantoprazol y el rabeprazol ⁽¹¹¹⁾.

2.8.6. 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 roxatidina³⁷. 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⁽¹¹²⁾. Al primero de los IBP

disponibles, el Omeprazol, se han unido en los últimos años el pantoprazol, el lanzoprazol, el 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 ⁽¹¹³⁾.

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 ⁽¹¹⁴⁾. 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 ^(114,115). Durante años ha existido temor a los potenciales efectos adversos de la inhibición prolongada de la secreción ácida causada por el tratamiento de mantenimiento con un IBP. 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 ⁽¹¹⁶⁾.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES:

3.1 Materiales biológicos

- 36 ratones albinos machos cepa Balb-C de 25 ± 1 g de peso corporal.
- Planta entera seca de *Disocorea larecajensis*. "piedra de las alturas"

3.2 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.

3.3 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 hematoxilina / eosina.

- Metanol (Fisher®)
- Etanol (Fisher®)
- Cloroformo (Merck®)
- Silicagel G60 (Merck®)
- 2, 2-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) (Sigma®)
- Formol 40% (Diquimsa®)

3.4 Medicamentos:

- Indometacina
- Ranitidina

3.5 Equipos:

- Rotaevaporador (Büchi ®)
- Estufa (Mettler®)
- 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 (Labo Med®)
- Cepo para ratones
- Sonda de administración orogástrica
- Microscopio óptico (Nikon®)
- Equipo de disección

3.2 METODOLOGÍA ANALÍTICA:

3.2.1 ESTUDIO FITOQUÍMICO

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

Dioscorea larecajensis "Piedra de las alturas". Los rizomas se recolectaron en el distrito de San Marcos a una altitud de 3117 msnm, provincia Huari departamento de Ancash-Perú, en la temporada de enero-abril en el 2013 a una temperatura de 15°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 los rizomas fueron seleccionados, separando manualmente la cascara de los rizomas; luego fueron sometidas a un proceso de lavado eliminando cualquier cuerpo o agente extraño, obteniéndose aproximadamente 3 kg de muestra vegetal.

3.2.1.2. 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.

3.2.1.3. Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico se obtuvo por el método de maceración, que consistió en extraer los metabolitos de los rizomas 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.

3.2.1.4. SCREENING FITOQUÍMICO PRELIMINAR.

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: 5 mg de extracto problema con 5 gotas de reactivos. ⁽¹¹⁷⁾.

3.2.1.4.1. Detección de grupos funcionales y metabolitos

Secundarios

✓ DETECCIÓN DE AMINOÁCIDOS:

Reacción de Ninhidrina.- Sobre tiras de papel de filtro se coloca con una pipeta capilar:

a. Una gota de la muestra + una gota del reactivo Ninhidrina al 2%.

b. Blanco: Solución etanólica de ninhidrina al 2%.

c. Testigo: una gota de solución de metionina 5%.

Luego del secado a temperatura ambiente las tiras de papel se colocan en la estufa a 110 - 120°C hasta la aparición de un color en el blanco. Se compara con la mancha azul violácea de la solución testigo.

La reacción es positiva si el papel de la muestra presenta un color azul violáceo.

✓ **DETECCIÓN DE TANINOS:**

Reacción de Gelatina- sal.- Se vierte 0,5 mL de extracto sobre 5 mL de solución de NaCl 5%, gelatina 1% y gelatina-sal la precipitación con este último reactivo o con ambos el 1º y 2º es indicativo de la presencia de taninos, si solamente ocurre con el 1º, podría ser un falso positivo.

✓ **DETECCIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS:**

Reacción de Cloruro Férrico.- En un tubo de ensayo se colocó 0.5 mL de la Fracción A y se le agregó una gota de solución acuosa de FeCl_3 1%.

La reacción es positiva cuando aparecen colores azul-negro, verde o azul verdoso.

La reacción es positiva cuando aparecen colores azul-negro, verde o azul verdoso.

✓ **DETECCIÓN DE ALCALOIDES:**

El resto de la Fracción C se evapora a sequedad y luego se agrega 2 mL de HCl 1%, filtrar. Se realizan las reacciones de precipitación, de Dragendorff, Mayer, Hager.

La reacción es positiva si aparece un precipitado.

✓ **DETECCIÓN DE FLAVONOIDES:**

Reacción de Shinoda.- En una placa se vertieron 3 gotas de la Fracción A, 5 limaduras de Mg, y 2 gotas de HCl concentrado.

La reacción es positiva cuando aparecen tonos de color rojo, anaranjado y violeta.

✓ **DETECCIÓN DE QUINONAS:**

Reacción de Bornträger.- Sobre el resto de la Fracción B se agregan 5 mL de NaOH 5% y se agita suavemente.

La reacción es positiva si la fase acuosa toma un color rojo.

✓ **DETECCIÓN DE TRITERPENOIDES Y/O ESTEROIDES:**

Reacción de Lieberman- Burchard: Sobre 1 mL de la muestra problema se vertieron 5 gotas de ácido acético y 3 mL de anhídrido acético/ácido sulfúrico (50:1).

La reacción es positiva si aparecen colores verde, azul verdoso (vías rojo o azul).

✓ **DETECCIÓN DE SAPONINAS**

Reacción de la espuma: La prueba de formación de espuma consiste en agitar vigorosamente la solución acuosa (7:1), obtenida del extracto etanólico total, en un tubo de ensayo y observar la espuma formada. Esta debe ser estable por los menos 30 minutos para poder establecer la presencia de saponinas.

3.2.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

3.2.2.1. Método de inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).

El método que se empleó en este trabajo es el propuesto por Brand-Williams et al. (1995) ⁽¹¹⁸⁾ 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 metanol, la solución se colocó en un sonicador para asegurar la buena disolución y luego comprobar que a una

absorbancia a 517 nm esté 0,6. 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 2,503 mg de ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2- carboxílico 97% (Trolox), en 10 mL de metanol, luego se prepararon diluciones con rangos de concentración entre 0,5 y 0,03 mM, con el fin de realizar la curva de calibración. Como blanco de calibración del equipo se empleó metanol.

- **Preparación de la curva de calibración:**

Se adiciono 2,9 mL de la solución de DPPH en una cubeta y se midió su absorbancia a 517 nm y luego se adicionó 0,1 mL de las diluciones de Trolox, se agitó vigorosamente y se mantuvo en la oscuridad por 30 minutos a temperatura ambiente, para después realizar la lectura en un espectrofotómetro UV/VIS a 517 nm.

Medición de la actividad antioxidante del extracto acuoso de SLDC:

En una celda de cuarzo se agregó 2,9 mL de DPPH y se midió su absorbancia posteriormente se adicionaron 0,1 mL de una de las dilución del extracto acuoso de SLDC, esta mezcla se dejó en reposo durante 30 minutos en la

oscuridad. Transcurrido este tiempo se leyó la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro UV/VIS.

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

3.2.3 EVALUACIÓN DEL EFECTO GASTROPROTECTOR.

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 ⁽¹¹⁹⁾.

3.2.3.1 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

indometacina (IND), las sustancias en investigación, según se detallan a continuación: los grupos del 3 al 5 recibió IND + el extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* (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 formaldehído tamponado: formaldehído (Merck) 40% (100 mL) + sodio fosfato monobásico monohidratado (4 g) + sodio fosfato dibásico anhidro (6,5 g) + agua destilada cantidad suficiente para un litro.

3.2.4 DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL 50 (DL₅₀)

El extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* 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 ración peletizada y agua *ad libitum*. Los animales fueron observados constantemente durante las primeras 24 h, continuando la misma diariamente durante un período de 14 días, registrando cualquier síntoma tóxico que pueda presentarse ⁽¹²⁰⁾.

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

Nro.	Tratamiento	Dosis (mg/Kg)	Muestra (n)
1	Control SSF	10 mL/Kg	6
2	<i>Dioscorea larecajensis</i>	2000	6

3.2.4.1 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 (Statistical Package for Social Sciences).

IV. RESULTADOS

4.1. ESTUDIO FITOQUÍMICO

4.1.1. Clasificación taxonómica.

Como resultado de la Clasificación Taxonómica según la Clasificación de Cronquist (1988) y determinado por el Mg: Hamilton Beltrán.

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: LILIOPSIDA

SUBCLASE: LILIIDAE

ORDEN: LILIALES

FAMILIA: DISCOREACEAE

GÉNERO: Dioscorea

**ESPECIE: *Dioscorea larecajensis* Uline
ex Knuth.**

Nombre vulgar: "Piedra de las alturas".

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

El porcentaje de rendimiento del extracto etanólico seco (%EES) fue de 0.57 %. Este resultado fue obtenido con la siguiente expresión:

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

$$\% \text{ EES} = \frac{17 \text{ g}}{3000 \text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{ EES} = 0.57 \%$$

4.2 ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ETANÓLICO

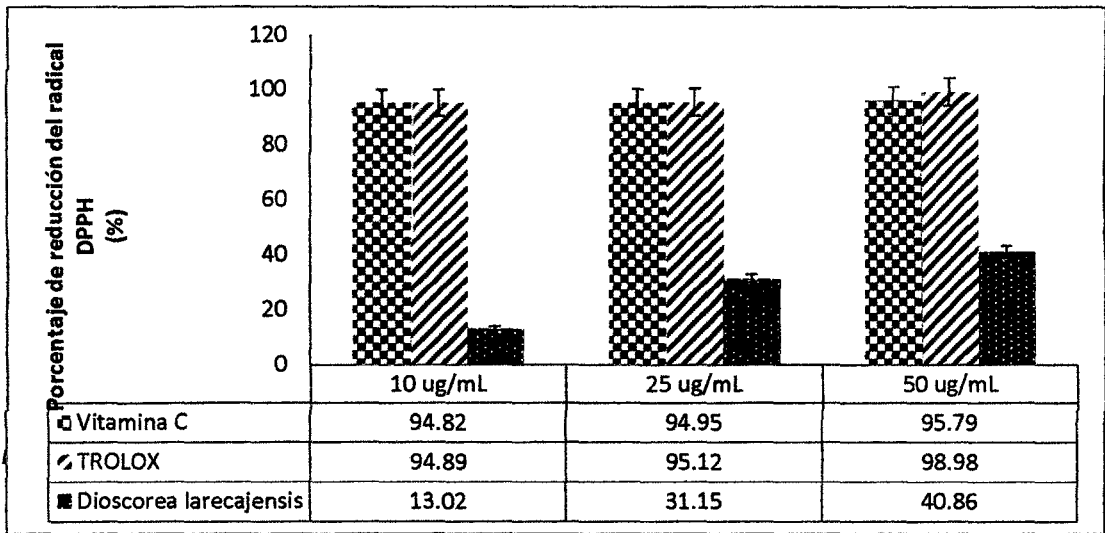
Los resultados del análisis fitoquímico cualitativo se observa en la tabla N°2.

Tabla 2. Prueba preliminar cualitativa de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis*.

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

4.3. Evaluación de la actividad antioxidante in vitro del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* “Piedra de las alturas”



4.4. Evaluación de la toxicidad oral aguda a dosis única durante 14 días del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis*.

En la figura 7 se observa la variación del peso de los animales durante 14 días. Se establece una dosis letal media mayor a los 2000 mg/Kg.

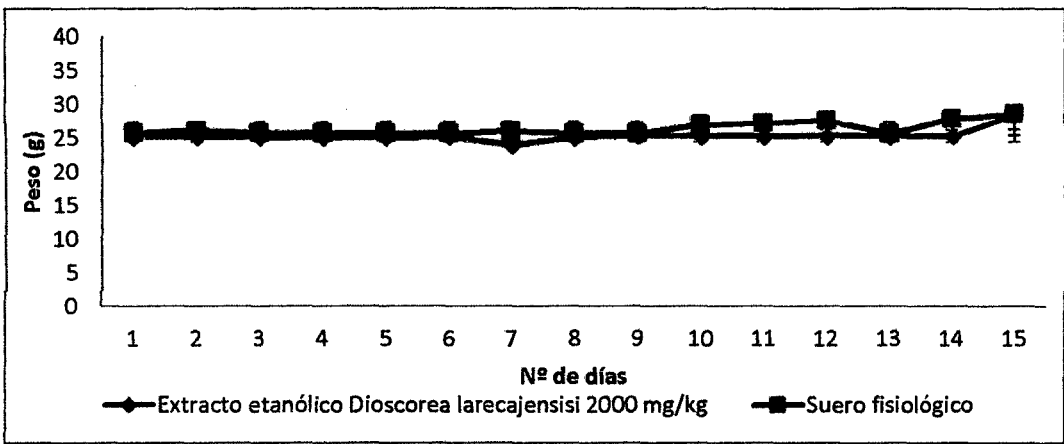


Figura 7. Evaluación del peso de los ratones en el estudio de la toxicidad oral aguda durante 14 días.

4.5. Evaluación del efecto gastroprotector del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* “piedra de las alturas”.

Tabla 03. Evaluación de la inflamación en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por etanol.

Grupo experimental *	Dosis (mg/Kg)	Inflamación			
		x ± DE	Med	p1	p2
Control negativo	-	0,17 ± 0,17	0	0,002	-
Control positivo	-	2,67 ± 0,21	3	-	0,002
Etanol+Dioscorea larecaje	50	0,83 ± 0,17	1	0,002	0,027
Etanol+Dioscorea larecaje	150	0,17 ± 0,17	0	0,002	1,00
Etanol+Dioscorea larecaje	300	0,17 ± 0,17	0	0,002	1,00
IND + ranitidina	100	0,50 ± 0,22	0.5	0,003	0,241

* Los datos de ninguno de los extractos presentó distribución normal ($p < 0,05$, Kolmogorov-Smirnov) X: media; DE: desviación estándar; M₅₀: mediana; IND: indometacina, p1: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y de la indometacina 80 mg/kg, (Prueba de Mann-Whitney); p2: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y del suero fisiológico, (Prueba de Mann-Whitney)

Tabla 04. Evaluación de bandas hemorrágicas en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por etanol.

Grupo experimental *	Dosis (mg/Kg)	Inflamación			
		x ± DE	Med	p1	p2
Control negativo	-	0,17 ± 0,17	0	0,003	-
Control positivo	-	2,83 ± 0,31	3	-	0,003
Etanol +Dioscorea larecajensis	50	1,67 ± 0,21	2	0,016	0,004
Etanol +Dioscorea larecajensis	150	0,33 ± 0,21	0	0,003	0,211
Etanol +Dioscorea larecajensis	300	0,17 ± 0,17	0	0,003	1,00
Etanol + ranitidina	100	0,67 ± 0,21	1	0,003	0,093

* Los datos de ninguno de los extractos presentó distribución normal ($p < 0,05$, Kolmogorov-Smirnov) X: media; DE: desviación estándar; M₅₀: mediana; IND: indometacina, p1: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y de la indometacina 80 mg/kg, (Prueba de Mann-Whitney); p2: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y del suero fisiológico, (Prueba de Mann-Whitney)

Tabla 05. Evaluación de úlcera gástrica en el estómago de ratón en un modelo experimental de úlcera gástrica inducida por etanol.

Grupo experimental *	Dosis (mg/Kg)	Inflamación			
		x ± DE	Med	p1	p2
Control negativo	-	0,17 ± 0,17	0	0,003	-
Control positivo	-	5,17 ± 0,60	5	-	0,003
Etanol +Dioscorea larecajensi	50	2,83 ± 0,48	3	0,008	0,003
Etanol +Dioscorea larecajensi	150	0,50 ± 0,34	0	0,003	0,152
Etanol +Dioscorea larecajensi	300	0,17 ± 0,17	0	0,003	1,00
Etanol + ranitidina	100	0,17 ± 0,17	0	0,003	1,00

* Los datos de ninguno de los extractos presentó distribución normal ($p < 0,05$, Kolmogorov-Smirnov) X: media; DE: desviación estándar; M₅₀: mediana; IND: indometacina, p1: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y de la indometacina 80 mg/kg, (Prueba de Mann-Whitney); p2: comparación entre las medianas de las dosis del extracto y del suero fisiológico, (Prueba de Mann-Whitney)

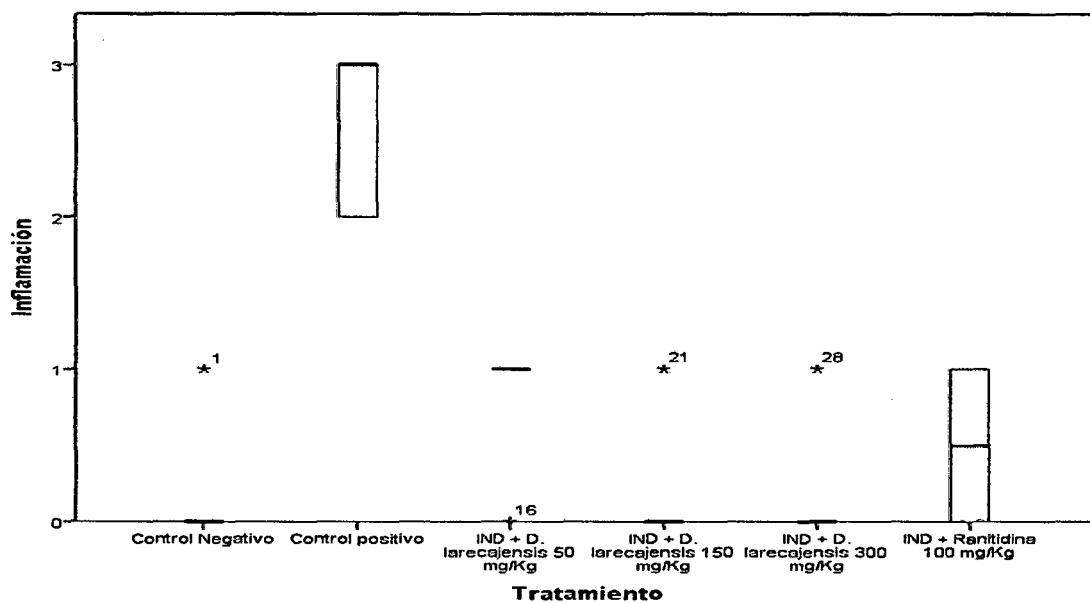


Figura 7. Medianas de los valores de inflamación de los grupos experimentales

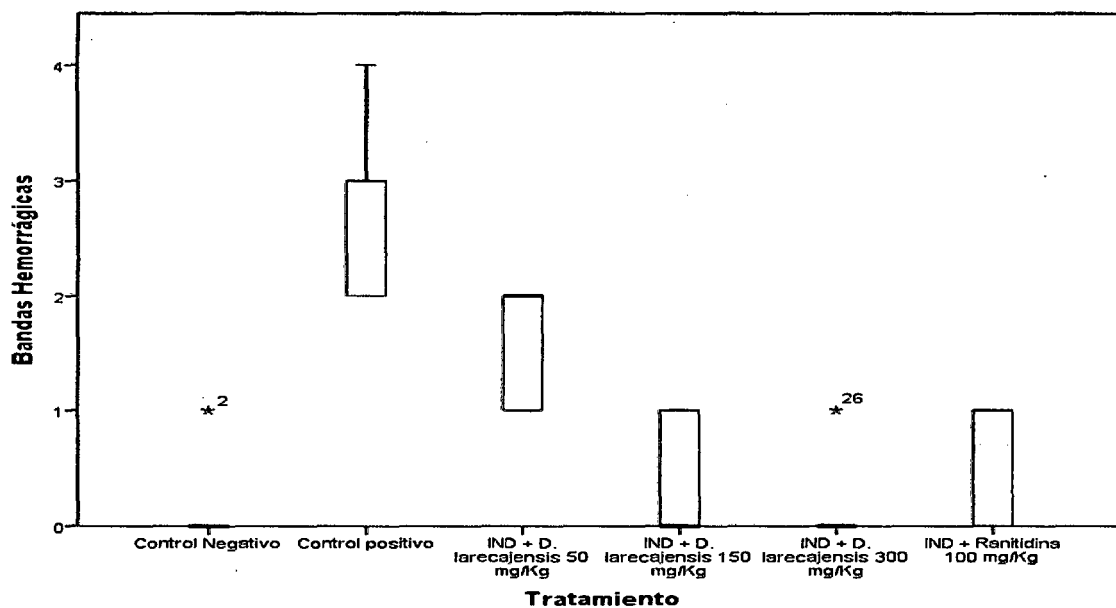


Figura 8. Medianas de los valores de bandas hemorrágicas de los grupos experimentales

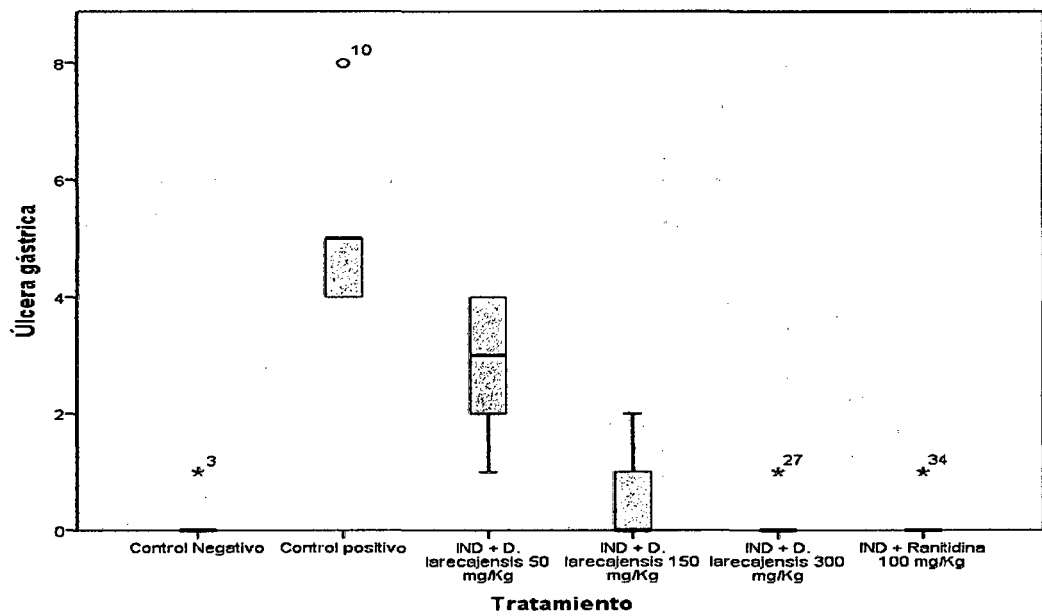
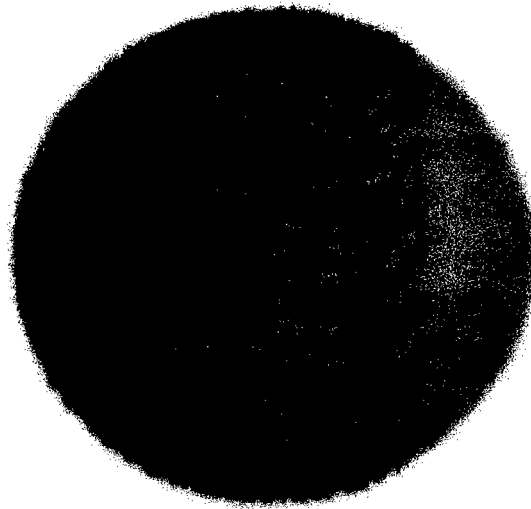


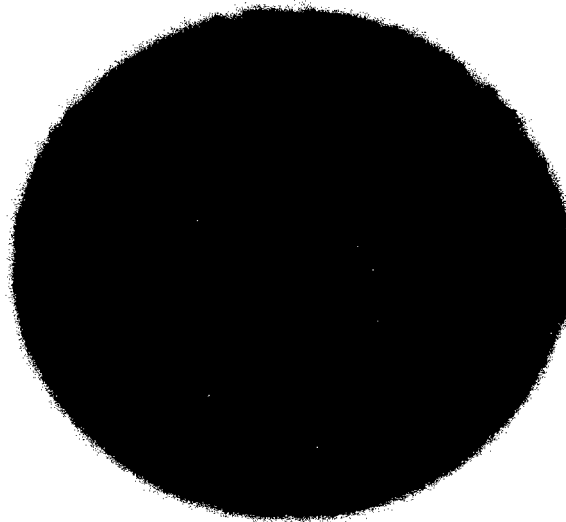
Figura 9. Medianas del número de úlceras gástricas de los grupos experimentales

4.6. EVALUACIÓN ANATOMOPATOLÓGICO DEL ESTÓMAGO DE RATONES INDUCIDAS CON ÚLCERA GÁSTRICA.



Estómago normal. 400X

Figura 10. Corte histológico del grupo control SSF 2 ml/kg.



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

Figura 11. Corte histológico del grupo experimental que recibió Etanol + indometacina (E+I)



Zona hipertrófica, con ápices digitiformes (forma de dedo), con infiltración a mononucleares en la base. 400X.

Figura 12. Corte histológico del grupo experimental que recibió (E+I) + Dioscorea 50 mg/kg



Empastamiento y descamación de ápex glandular, criptas sinuosas con descamación. 400X.

Figura 13. Corte histológico del grupo experimental que recibió (E+I) + Dioscorea 150 mg/kg



Estómago con empastamiento de ápices, infiltración a mononucleares en base. 400X.

Figura 14. Corte histológico del grupo experimental que recibió (E+I) + Dioscorea 300 mg/kg



Hipertrofia, luz con detritus, sin gastritis erosiva. 400X.

Figura 15. Corte histológico del grupo experimental que recibió (E+I) +Ranitidina

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivos evaluar el efecto gastroprotector del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* Uline ex Knuth "piedra de las alturas" 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 los rizomas determinó que posee metabolitos como alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos que se muestran en la tabla 2.

La Diosgenina y saponinas esteroidales comúnmente encontradas en Dioscoreas han demostrado ser antitumorales, antifúngicas y antiinflamatorias. En varios estudios se reportan saponinas esferoidales, diterpenos, norditerpenos, furanoides, flavonoides, whitanólidos, derivados de fenantrenos y dibencilos que fueron aislados de especies del género Dioscorea ⁽¹²¹⁾.

Para evaluar la actividad gastroprotectora del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* en diferentes dosis se utilizó indometacina y etanol

para producir lesiones ulcerosas gástricas y de esta manera determinar el efecto del extracto.

El daño oxidativo es considerado por diferentes modelos experimentales y clínicos como un factor común en la patogénesis de la úlcera⁽¹²²⁾. 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.

Es conocido que la inducción de daño en la mucosa gástrica por parte de los AINE, a través de múltiples mecanismos -como supresión de la generación de prostaglandinas, sobreproducción de leucotrienos, actúa como un irritante tópico y reduce el flujo sanguíneo local. Por ello, esta reducción podría deberse al incremento en la producción de moco gástrico y/o quizás posible antagonismo de los leucotrienos, los que podrían contribuir a este efecto gastroprotector⁽¹²³⁾.

Según el tratamiento resumido **en la tabla 3**, para determinar la inflamación se observó diferencia significativa ($p < 0.05$), entre en el control positivo (tratado con indometacina) y la dosis administrada a 50, 150 y 300 mg/Kg del extracto de *D. larecajensis*.

En la tabla 4, en cuanto a las bandas hemorrágicas se observa diferencia significativa ($p < 0.05$), entre el control positivo y la dosis de 50,150 y 300 mg/Kg del extracto administrado. **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, control negativo 0%, control positivo 25%, 50 mg del extracto 25%,150mg 10 %, 300mg extracto presentaron 0% de bandas gástrica, en comparación al grupo experimental que recibió el inductor ulcerogénico.

La actividad gastroprotectora del extracto de *Dioscorea larecajensis*, 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 ⁽¹²⁴⁾.

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 ⁽¹²⁵⁾.

También, han demostrado actividad antioxidante, fundamento de la protección contra la acción de radicales libres producidos por el alcohol, el

cual genera inflamación, necrosis e inducción de apoptosis ⁽¹²⁶⁾.

En el ensayo de actividad antioxidante se demostró que el extracto etanólico presentó poca actividad antioxidante en comparación a los antioxidantes conocidos, Trolox y vitamina C por lo que su actividad gastroprotectora se debería a otros tipos de mecanismos.

Existen trabajos realizados con extractos de otras especies, a las que se les atribuye la propiedad antiulcerosa. El extracto etanólico de hojas de *Bidens pilosa* L ⁽¹²⁷⁾ vía orogástrica alcanzó el máximo efecto protector a la dosis de 2 000 mg/kg, utilizando etanol al 75% como sustancia de irritante, con respecto a los diferentes extractos de *Byrsonima crassa*, se observó inhibición de lesiones en los diferentes extractos, metanol, metanol 80% y cloroformo, a las dosis de 500 y 1 000 mg/kg, siendo el extracto clorofórmico el que alcanzó el grado más bajo de inhibición; en todos ellos se utilizó como agente irritante una solución de etanol con HCl ⁽¹²⁸⁾. En el extracto acuoso de *Quassia amara* ⁽¹²⁹⁾ se observa que en dosis superiores de 500 mg/kg alcanza un grado de protección significativa frente al etanol 75%. Todos estos estudios, al igual que el de *Solanum variabile*, demostraron ser efectivos como antiulcerosos en modelos experimentales de lesión gástrica inducida por indometacina, etanol, etanol-HCl y estrés por inmovilización en frío ⁽¹³⁰⁾.

En la patogenia del proceso inflamatorio existe la adherencia de neutrófilos y monocitos, inducida por agente quimiotáxicos, lo que implica la

desgranulación y causaría un aumento notable de la captación de O_2 y, como consecuencia, el incremento de aniones superóxidos (O_2^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) ⁽¹³¹⁾. También, habría liberación de diversos productos secretorios contenidos en los granulocitos, que incluyen diversas proteasas, como las catepsinas, elastasas y colagenasas. 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 como los flavonoides, taninos, saponinas, compuestos fenólicos.

Según los resultados del estudio histopatológico, se observó que a la dosis de 150 mg/kg de peso del extracto existió una discreta infiltración de células inflamatorias en la región submucosa, en comparación al grupo que recibió la ranitidina en donde se evidenció una mayor presencia de estas células en la región submucosa y muscular; y a la dosis de 300 mg/kg se observó en algunas láminas la presencia de hipertrofia glandular con empastamiento, lo que significaría un cierto grado de regeneración tisular.

La ranitidina, a dosis de 100 mg/kg, fármaco utilizado en el tratamiento de las úlceras, demostró ser efectivo frente a la formación de

lesiones gástricas producida por el etanol al 96%; este resultado también ha sido encontrado por otros autores ⁽¹³²⁾.

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.

Algunas limitaciones deben ser reconocidas. En primer lugar, para la evaluación de la actividad gastroprotectora se utilizó indometacina, como agente ulcerogénico, para lo cual se preparó como suspensión con polisorbato 80 al 3%, hubiera sido ideal comparar el comportamiento de la indometacina como solución, disuelta en bicarbonato de sodio, la cual tiene mayor biodisponibilidad. Otra limitación fue que razones económicas no se pudo tener mayor cantidad de animales para probar un mayor número de dosis de los extractos utilizados.

VI. CONCLUSIONES

1. Como resultado del Screening Fitoquímico realizado al extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* Uline ex Knuth "piedra de las alturas" se determinó la presencia de los siguientes grupos de metabolitos secundarios: flavonoides, grupos aminos libres, taninos, alcaloides, quinonas, compuesto fenólicos. triterpenos y saponinas.
2. La actividad antioxidante del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* Uline ex Knuth 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 (1,0 ug/ml), (10,0 ug/ml), (50,0 ug/ml), teniendo el Trolox mayor poder antioxidante en sus tres concentraciones en comparación con el extracto en problema y la vitamina C.
3. Se determinó la toxicidad oral aguda en dosis repetida durante 14 días del extracto etanólico de *Dioscorea larecajensis* en ratones, administrándole una dosis máxima de hasta 2000 mg/kg en los ratones tratados, llegando la conclusión que todos los ratones tratados a la máxima dosis no presentaron ningún efecto tóxico.
4. En la evaluación del efecto gastroprotector la dosis de mayor efecto fue a 300 mg/kg no presentando inflamación, bandas hemorrágicas y úlceras gástricas significativas.
5. Mediante estudios anatomopatológicos el estómago de los ratones del grupo normal y la inducidas con lesiones ulcerosas, se observan el grupo control positivo (etanol+ indometacina) se produce gastritis y no se

evidencia la presencia de ulceraciones en los estómagos de los ratones tratados con ranitidina y los que fueron tratados con la dosis de 150 y 300 mg/Kg del extracto.

VII. RECOMENDACIONES

- Aislar y elucidar los compuestos del extracto etanólico *Dioscorea larecajensis* Uline ex Knuth. "piedra de las alturas" para determinar los posibles metabolitos responsables del efecto gastroprotector.
- Realizar los análisis de espectrometría de masa y resonancia magnética nuclear para la identificación completa de los derivados de los compuestos bioactivos presentes en el extracto.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gao HY, Kuroyanagi M, Wu L, Kawahara N, Yasuno T, Nakamura Y. Antitumor-promoting constituents from *Dioscorea bulbifera* L. in JB6 mouse epidermal cells. *Biol Pharm Bull* 2002;25:1241–3.
2. Allen A, Flemstrom G, Garner A, Kivilaaso E. (1993) Gastroduodenal mucosal protection. *Physiol Res.*, 73, 823-357 Allen A, Flemstrom G, Garner A, Kivilaaso E. (1993) Gastroduodenal mucosal protection. *Physiol Res.*, 73, 823-357.
3. Hu K, Dong AJ, Yao XS, Kobayashi H, Iwasaki S. Antineoplastic agents; I. Three spirostanol glycosides from rhizomes of *Dioscorea colletii* var. *hypoglauca*. *Planta Med* 1996;62:573–5.
4. Liu XT, Wang ZZ, Xiao W, Zhao HW, Hu J, Yu B. Cholestane and spirostane glycosides from the rhizomes of *Dioscorea septemloba*. *Phytochemistry* 2008;69:1411–8.
5. Bujanda L; Sánchez A; Iriando 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
6. Guarrera, P., Hforti, G., Hmarignoli, S. Ethnobotanical and ethnomedicinal uses of plants in the district of Acquapendente (Latium, Central Italy), 83H *Journal of Ethnopharmacology*. 2005, 96(3):429-444.
7. Tulassay Z, Herszényi L. Gastric mucosal defense and cytoprotection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010 Apr;24(2):99–108.

8. Santos, E. S. y Macedo, L. S. Tendencias e Potencialidades da cultura do Inhame (*Dioscorea* spp.) no Nordeste do Brasil. 2006. [Consultado: 2/junio/2011.]. Disponible en: <<http://www.emepa.orr.br/inhame/tendencias.php>>
9. Jayakody L. Hoover R. Liu Q. Donner E. Studies on tuber starches. II. Molecular structure, composition and physicochemical properties of yam (*Dioscorea* spp.) starches in Sri Lanka. Carboh Polymers 2007; 10:1016-1023
10. Wilson, J. E. A practical guide to identifying yams: the main species of *Dioscorea* in the Pacific Island. Western Samoa: Ireta Publications. 1988, 7 p.
11. Coursey, D. G. Yams-*Dioscorea* spp. (Dioscoreaceas). In: Simmnonds, N. Y. Evolution of crop plants, New York : Ed. Longmans. 1980, p. 70-74
12. 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.
13. Gonzales E., Iglesias I., Carretero E., Villar A. Gastric cytoprotection of Bolivian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology.2009,70(3): 329-333.

14. 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.
15. Allen A, Flemstrom G, Garner A, Kivilaaso E. Gastroduodenal mucosal protection. *Physiol Res.* 2005, 73(1):823-357.
16. Mur Villacampa M, Gimeno Esteras E, Guerrero Navarro L, Cabeza Lamban F, Sáinz Samitier R. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en patología gástrica en Aragón. *Rev Esp Enferm Dig.* 2008; 82: 315-6.
17. Calvo J, Lima E. Medicina interna tratamiento de la ulcera péptica. *Medifam.* 2009 ,12(5) : 214-217.
18. Rodriguez A, Zuleta J. De la fisiología del vaciamiento gástrico al entendimiento de la gastroparesía. *Rev col gastroenterol.* 2010,25(2): 29-35.
19. Forrest A, Sanders M. Inflamación del antro gástrico puede conducir a la actividad de marcapasos retrógrada en el estómago. *Gastroenterología* 2010, 132 (4): 52-57.
20. Kawashima J, Kato S. La grelina y la secreción de ácido gástrico. *Mundial J Gastroenterol.* 2008, 32 (14): 6334-6338.
21. Rodriguez D, Alfaro A. Actualización de la fisiología gástrica. *Med. Leg costa rica.* 2009, 27 (2): 18-29.
22. Card W, Marks N. La relación entre el ácido del estómago siguiente estimulación histamina y la masa celular parietal. *Ciencia Clínica.* 2010; 19: 147-50.

23. Tache Y. Regulación central del sistema nervioso de la secreción de ácido. Fisiología de la gastrointestinal. 2011, 11(5): 14-19.
24. 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-secretores de ácido en ratas. 2010; 57:313-27.
25. Martínez R, Reyes R, Guerra G, Alfredo A. Nuevos conceptos fisiológicos de la enfermedad ácido péptico. AMC. 2010, 14(3).
26. 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 Gastroentero 2011; 28:493-496.
27. Cienfuegos A. Serie de la fisiología a la clínica Secreción Gastrica e inhibidores de bomba de protones. Rev col gastroenterol. 2010, 25(1).
28. Isogna K. El efecto de los inhibidores de la bomba de protones en el metabolismo mineral. 2009, 104: 2-4.
29. 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.
30. Fuentes A, Camorlinga M, Maldonado C. Infección, inflamación y cáncer gástrico. Salud pública Mex. 2012, 51(5).
31. Ando T, Goto Y, Maeda Y, Watanabe. Causal papel de la infección por *Helicobacter pylori* en el cáncer gástrico. Mundial J Gastroenterol 2009, 12 (2) :181-186.

32. Delgado R. Evaluación del efecto gastroprotector del extracto liofilizado de *Capsicum annuum* L en ratas. Universidad Mayor De San Marcos.2009
33. Albornos O. Actividad gastroprotectora del diterpeno aromático ferruginol. Universidad austral de Chile.2008
34. Truyols J, Martínez A, García A. Úlcera gástrica y duodenal.
35. Wang R, Ding Y, Liu Y, Xiang L. Granada: constituyentes, bioactividad y farmacocinética .Global science Books.2010.
36. Kyun w, Tae S, Dong U. El efecto inhibidor de la quercetina-3-O- β -D-gastritis en Glucuronopyranoside esofagitis de Reflujo y en ratas. *Corea J Physiol Pharmacol*.2009, 13(4): 295-300
37. Campana N, Hunt H. Papel de la supresión de ácido gástrico en el tratamiento de la enfermedad de reflujo gastroesofágico.2011; 33 :118-124
38. Yahiro K, Okumura K, Ogawa H. Cutting Edge: VacA, Una citotoxina vacuolizante *Helicobacter pylori* activación directly Para Los mastocitos la Migración y la Producción de citoquinas proinflamatorias. *J Immunol* 2009; 168:2603-2607.
39. Álvarez 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):12-7.
40. 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-secretores de ácido en ratas. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 2012; 57:313-27.
41. Chirry W. Estudio comparativo de la Acción del gastroprotectora Plantago mayor omeprazol y el Sobre la gastritis inducida Por La Administración de ketorolaco en dosis usuales en la terapia analgésica-antiinflamatoria estomatológica. Universidad Mayor De San Marcos. 2013.
42. Fábregas C. Fisiología gastroduodenal. *Gastroenterología*. 2013.
43. Moreyra F, López A. *Revista española de enfermedades digestivas*. Rev. Es. Eferm. Dig. 2007, 96 (1): 25-29.
44. 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;101:10-5.
45. Lacroix P, Guillaume P. Gastrointestinal Models. Intestinal Transit and Ulcerogenic activity in the rat. *Current Protocols in Pharmacology*. Jhon Wiley. 2008: 53-58
46. Doucet MY, Vrins AA, Dionne R, Alva R, Ericsson G. Efficacy of a paste formulation of omeprazole for the treatment of naturally occurring gastric ulcers in training standardbred racehorses in Canada. *Can Vet J*. 2011; 44(7):581-585.
47. Begg LM, O'Sullivan CB. The prevalence and distribution of gastric ulceration in 345 racehorses. *Aust Vet J*. 2007; 81:199-201.

48. Klein P, Gilman R, Leon-Barua 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.
49. 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 Cárrión 2000-2005. *Rev. Gastroenterol. Perú*. 2007, 27(4): 382-388.
50. Sainz S, Saperas E, Pique J. Enfermedades de estómago y del duodeno. En: Farreraz R.. *Medicina Interna*. 15a ed. Barcelona. Harcourt; 2004,46(5): 71-106.
51. 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.
52. Toso R, Toribio M, Mengelle P, Boeris M. Plantas de la provincia de La Pampa, Argentina, con actividad gastroprotectora y antiespasmódica. 2010
53. Martínez, J González, M. Culebras, J Tuñón. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes, *Nutrición Hospitalaria*. 2002, 17(6):271-278.
54. Sans M, Soriano A. Enfermedad ulcerosa péptica: Etiopatogenia, Clasificación, Manifestaciones, Clínica y Diagnóstico. *Medicine*. 2009; 8(3):121-27.

55. Sanyal A, Das P, Sincha S, Sinha Y. Banana and Gastric Secretion. *J. Pharm Pharmacology*. 2010; 13(2): 318-319.
56. La Casa C, Villegas I, Alarcon C, Motilva V, Calero M. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, Natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J. Ethnopharmacol* 2008; 69 (3): 229-334.
57. 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.
58. Os'kina O, Pashinskii V, Kanakina T, Pove't'eva T. The mechanisms of the antiulcer action of plant drug agents. *Eksp Klin Farmakol* 1999; 62(4):37-9.
59. 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.
60. Praxis Médica. Gastroenterología: Clínica y Terapéutica. Edit. Praxis Médica S.A. Madrid, España. 2007.
61. Long JF, Chiu PJ, Derelanko MJ, Steinberg M. Gastric antisecretory and cytoprotective activities of SCH 28080. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007;226 (1):114-20.
62. Baggio CH, Freitas CS, Rieck L, Marques MC. Gastroprotective effects of a crude extract of *Baccharis illinita* DC in rats. *Pharmacol Res*. 2008; 47(1):93-8.

63. Lau J, Sung J, Hill C, Henderson C, Howden C, Metz D, et al. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: incidence, recurrence, risk factors and mortality. *Digestion*. 2011; 84(2):102-113.
64. Shay M, Komarov A, Meranze D, Guenstein H. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology*. 2009;(5):43-61.
65. Gonzalez FG, Di Stasi LC. Antiulcerogenic and analgesic activities of the leaves of *Wilbrandia ebracteata* in mice. *Phytomedicine*, 2002;9(2):125-134.
66. Guaraldo L, Sertie JA, Bacchi EM. Antiulcer action of the hydroalcoholic extract and fractions of *Davilla rugosa* Poiret in rat. *J Ethnopharmacol*. 2009;76 (2):191-5.
67. Cabrera A, Herrera Manuel, Lorda L. Comportamiento de la ulcera gastroduodenal perforada. *Rev Cub Med*. 2011;40(1):12-21.
68. Alvarez A, Pomar F, Sevilla MA, Montero MJ. Gastric antisecretory and antiulcer activities of an ethanolic extract of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. *J Ethnopharmacol* 2010; 67: 333-340.
69. Sainz R, Borda F, Dominguez E, Gisbert JP. *Helicobacter pylori* infection. *Rev Esp Enfer Dig* 2007; 91: 777-784.
70. Giordano OS, Guerreiro E, Pestchanker MJ. The gastric cytoprotective effect of several sesquiterpene lactones. *J Nat Prod* 2008; 53: 803-809.

71. H. pylori eradication in NSAID-associated ulcers. *Drug Ther Bull* 2005; 43(5): 37-40.
72. Borrelli F, Izzo AA. The plant kingdom as a source of antiulcer remedies. *Phytother Res* 2007; 14: 581-591.
73. Robert A, Nezamis E, Lancaster C, Hanchar AJ. Cytoprotection by prostaglandins in rats: prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology* 2009; 77: 433-443.
74. Martin J, Marhuenda E, Perez-Guerrero C, Franco JM. Antiulcer effect of naringin on gastric lesions induced by ethanol in rats. *Pharmacology* 2009; 49(2): 144-150.
75. Silen W. Experimental models of gastric ulceration and injury. *Am J Physiol* 2008; 255: 395-402.
76. Martínez M. Flavonoides. En Línea. <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>. [citado el 16 de noviembre del 2007].
77. Macbride, J.F. Flora of Peru. Botanical series field museum of natural history. 2009, 12:754-756.
78. Singleton V, Monteros J. Colorimetry of total phenolics with hosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology and Viticulture*. 2011,16(2):144-158.
79. Olivares A, Gallegos b. Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (*Plantago major*). 2009, 19(23):239-245.

80. MacRae F. Strategies against NSAID-induced gastrointestinal side effects: part 2. *Pharm J* 2009; 272(7287): 219-21.
81. 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.
82. Prevención de las lesiones gastrointestinales por AINES: utilización de antiulcerosos. *Bol Ter Andal* 2010; 13(2): 5-6.
83. 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.
84. Harborne, J, Williams A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 2000, 55: 481-504.
85. 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.
86. 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.
87. Alarcon C, Martin J, Motilva V. Antiulcer and gastroprotective effects of quercetin., a gross and histologic study. *Pharmacology.* 2011, 48(2): 56-62.
88. Chelimsky G, Czinn S. *Helicobacter pylori* infection in children: update. *Current Opinion in pediatry.* 2007, 12: 460-462.

89. 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.
90. Combe B. Quels traitements réduisent les complications digestives des AINS? *Presse Med* 2010; 32(2):33-37.
91. Gar G, Nigam P, Ogle C. The gastric antiulcer effects of the leaves of neem tree. *Planta Med.*2009, 59(2): 215-217.
92. Rao V, Govindarajan S, Rawat, A.. Quercetin, abioflavonoid, protects against oxidative stress-related gastric mucosal damage in rats. *Nat. Prod. Sci.*2011, 9(1):68-72.
93. Gonzales E, Iglesias I, Carretero E, Villar A. Gastric cytoprotection of Bolivian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology.* 2009,70(3): 329-333.
94. Hersey S, Sachs G. Gastric acid secretion. *Physiol Res.* 2010, 75: 155-89.
95. Hiruma P, Gracioso J, Rodríguez,, Haun A. Gastroprotective effect of essential oil from *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae). *J. Pharmacol.*2009, 69(4): 229-234.
96. 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.

97. Guerrero, C.P.; Martin, M.J.; Marhuenda, E. Prevention by rutin of gastric lesions induced by ethanol in rats, role of endogenous prostaglandins. *Gen. Pharmacol.* 2008, 25(2):575-580.
98. Phillipson M, Johansson E, Henriksnas J, Persson AE, Hansson GC, et al. The gastric mucus layers: constituents and regulation of accumulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008;295 (4): G806-12.
99. Martin M, Motilva, V, Alarcon , C. Quercetin and naringenin, effects on ulcer formation and gastric secretion in rats. *Phytother. Res.* 2011, 7(1): 150-153.
100. Yamaguchi, F.; Saito, M.; Ariga, T.; Yoshimura, Y.; Nakazawa, H. Free radical scavenging activity and antiulcer activity of garcinol from *Garcinia indica* Fruit Rind. *J. Agric. Food Chem.* 2013, 48(3): 2320-2325.
101. Ganong F. (ed.). *Fisiología Médica. Décimo sexta edición. El Manual Moderno*, México D.F., México, 2007.
102. 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.
103. Martin, M.J.; La-Casa, C.; Alarcon De La Lastra, C.; Cabeza, J.; Villegas, I.; Motilva, V. Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin. *Z. Naturforsch. C J. Biosci.* 2008, 53(4): 82-88.

104. Pietta, P. Flavonoids as antioxidant. *J. Nat. Prod.* 2011, 62, 1035-1042.
105. Russo A, Acquaviva R, Campisi, A, Sorrenti V. Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *CellBiol. Toxicol.* 2007, 16(3): 91-98.
106. Gaspar , 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.
107. Ernst P, Gold D. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Ann. Rev. of Microbiology.* 2010, 54(4): 615-640.
108. Mizokami Y. Efficacy and safety of rabeprazole in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced ulcer in Japan. *World J Gastroenterol.* 2009
October 28; 15(40): 5097–5102.
109. Raybould, H. Does Your Gut Taste. Sensory Transduction in the Gastrointestinal Tract. *News Physiol Sci.* 2007, 13:275-280.
110. Santos, E. S. y Macedo, L. S. Tendencias e Potencialidades da cultura do Inhame (*Dioscorea* spp.) no Nordeste do Brasil. 2006.
[Consultado: 2/junio/2011.]. Disponible en:
<<http://www.emepa.orr.br/inhame/tendencias.php>>

111. Coursey, D. G. Yams-Dioscorea spp. (Dioscoreaceas). In: Simmonds, N. Y. Evolution of crop plants, New York : Ed. Longmans. 1980, p. 70-74.
112. Wilson, J. E. A practical guide to identifying yams: the main species of Dioscorea in the Pacific Island. Western Samoa: Ireta Publications. 1988, 7 p.
113. Hu K, Dong AJ, Yao XS, Kobayashi H, Iwasaki S. Antineoplastic agents; I. Three spirostanol glycosides from rhizomes of Dioscorea colletii var.hypoglauca. Planta Med 1996;62:573-5.
114. Dajani EZ, Agrawal NM. Prevention and treatment of ulcers induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: an update. J Physiol Pharmacol. 1995;46(1):3-16.
115. Sannomiya M, Fonseca V, Da Silva M, Rocha L, Dos Santos L, Hiruma-Lima C, et al. Flavonoids and antiulcerogenic activity from Birsonia crassa leaves extracts. J Ethnopharmacol. 2005;97:1-6.23.
116. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica; métodos en el estudio de productos naturales. 2da edición. Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994:33-5.
117. O'Brien P, Frydman G, Holmes R, Malcontenti C, Phelan D. Evaluation cytoprotective properties of antiulcer drug using quantitative histological techniques. Dig Dis Scien. 1990; 35(9):1130-9.

118. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology. 1995; 28 (1): 25 -30.
119. Vega R, Carrillo C. Efecto sobre la motilidad intestinal y toxicidad aguda oral del extracto de *Ocimum gratissimum* L. (orégano cimarrón). Rev Cubana Plant Med. 1997; 2(2-3): 14-18.
120. Hiruma-Lima CA, Calvo T, Rodriguez C, Pezzuto F, Vilegas W, Sousa Brito A. Antiulcerogenic activity of *Alchornea castaneafolia*: effects on somatostatin, gastrin and prostaglandin. J Ethnopharmacol. 2006;104:215-24.
121. Beil W, Irkhoz C, Sewing K. Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. Arzneimittelforschung. 1995;(6):697-700.
122. Tarnawski A, Hollander D, Stachura J, Krause WJ. Arachidonic acid protection of gastric mucosa against alcohol injury: sequential analysis of morphologic and functional changes. J Lab Clin Med. 1983;102(3):340-51.
123. Álvarez A, Montero M, Pomar F, Sánchez E. Actividad antiulcerosa de un extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. en ratas. Rev Cubana Plant med. 1998;3(3):12-7.
124. Badilla B, Miranda T, Mora G, Vargas K. Actividad gastrointestinal del extracto acuoso bruto de *Quassia amara* (simarubaceae). Rev Biol trop 1998;46(2):203-10.

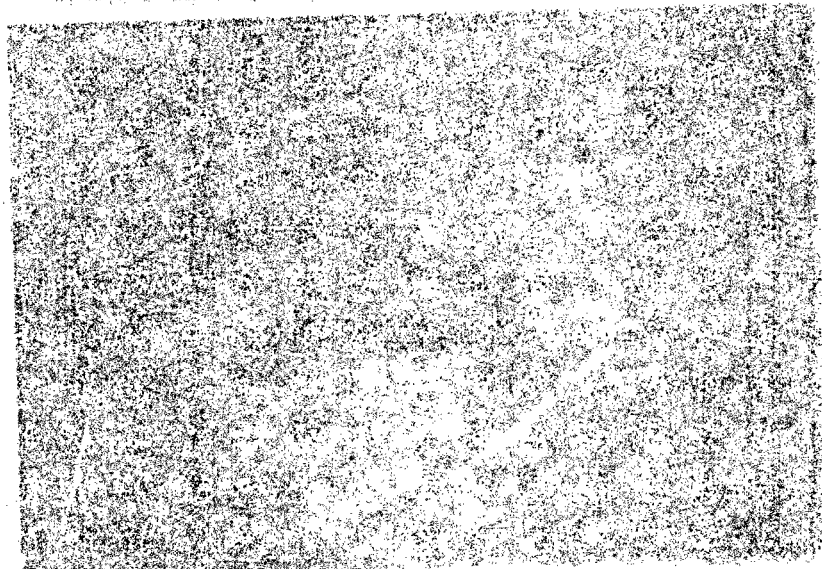
125. Antonio JM, Gracioso JS, Toma W, Lopez LC, Oliveira F, Sousa Brito A. Antiulcerogenic activity of ethanol extract of *Solanum variabile* (false "jurubeba") J Ethnopharmacol. 2004;93:83-8.
126. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cubana Med Milit. 2002;31(2):126-33.
127. Teponno RB, Tapondjou AL, Abou-Mansour E, Stoeckli-Evans H, Tane P, Barboni L. Bafoudiosbulbins F and G, further clerodane diterpenoids from *Dioscorea bulbifera* L. var *sativa* and revised structure of Bafoudiosbulbin B. Phytochemistry 2008;69:2374–9.
128. Bourret D. Etude ethnobotanique des Dioscoréacées alimentaires. Igname de Nouvelle-Calédonie. Thèse de Doctorat 3e cycle. Spécialité Biologie Végétale. 1973.
129. Berazaín Clasificación de las formaciones vegetales de Cuba. Revista del Jardín Botánico Nacional. 1984; 5 (2): 27- 75.
130. Malurie, B., Pungu, O., Dumont, R. & Trouslot, M. The creation of an in vitro germplasm collection of yam (*Dioscorea* spp.) for genetic resources preservation. Euphytica. 1994; 65: 113-122.
131. Mwirigi P, Kahangi E, Nyende A, Mamati E. In vitro propagation of the Kenyan yam (*Dioscorea* spp.). Africa Journal Horticulture Science. 2010; 3:112-122.

Anexo 01

Ubicación en su hábitat natural de *Dioscorea larocajensis*



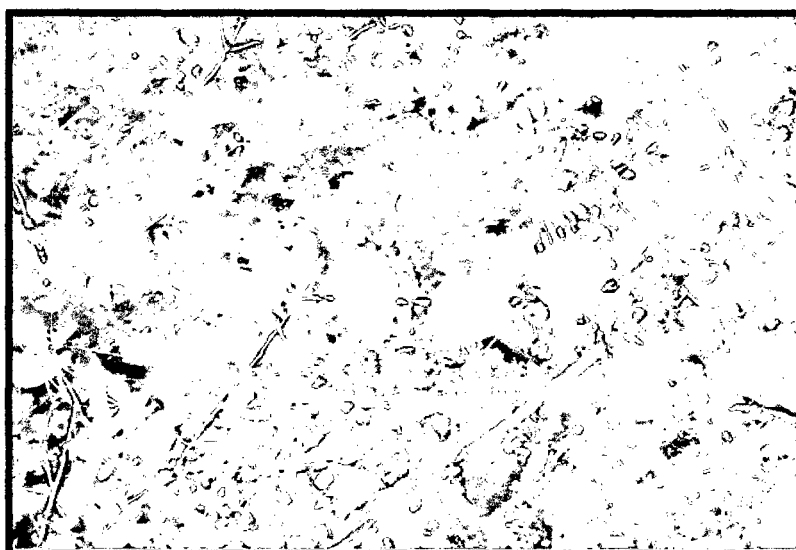
IX. ANEXOS



Hojas de *dioscorea larocajensis* en su hábitat natural

Anexo 01

Ubicación en su hábitat natural de *Dioscorea larecajensis*



Hojas de dioscórea larecajensis en su habitat natural.

Anexo 02

Obtención del extracto etanolico de *Dioscorea larecajensis*.

RECOLECCION DE RIZOMAS



Rizomas de *Dioscorea larecajensis*



Planta completa de *Dioscorea larecajensis*.



FRACCIONAMIENTO DE RIZOMAS



Rizomas fragmentados de
Dioscorea larecajensis.



Rizomas fragmentados y preparados
Para la maceración

MACERACIONFILTRADO



Maceración de *Dioscorea larecajensis* para la obtención de extracto etanólico



Filtración luego de la maceración por 15 días de *Dioscorea larecajensis*

SECADO EN ESTUFA



Secado del extracto etanólico de
Obtención del extracto de
Dioscorea larecajensis (17g).

EXTRACTO

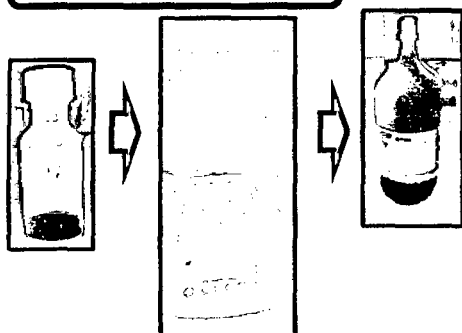


Obtención del extracto de *Dioscorea larecajensis* (17g).

ANEXO 03

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

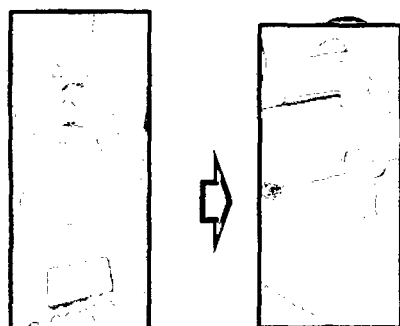
Preparación del DPPH



Preparación de Trolox



Preparación del E.E.D.L.

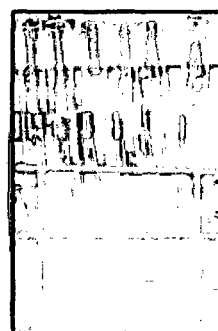


Preparación de la curva de calibración

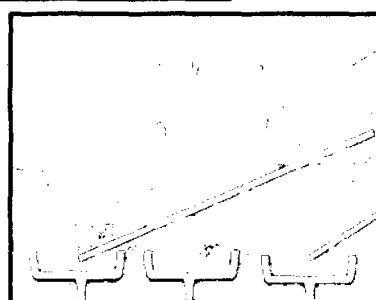
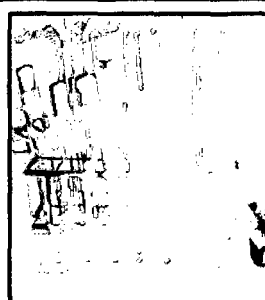
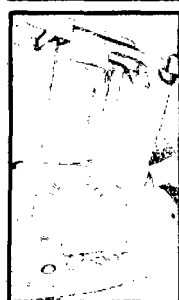
DPPH con
Trolox



DPPH
con
E.E.M.I.



Actividad antioxidante por el DPPH con Vit C y Trolox.



E.E.D.L.
0.1, 0.5 y 1 µl/ml

TROLOX
0.1, 0.5 y 1 µl/ml

VIT C
0.1, 0.5 y 1 µl/ml

Anexo 04

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA

Agrupación de los ratones 6 grupos de 5 ratones cada uno y periodo de ayuna por un dia

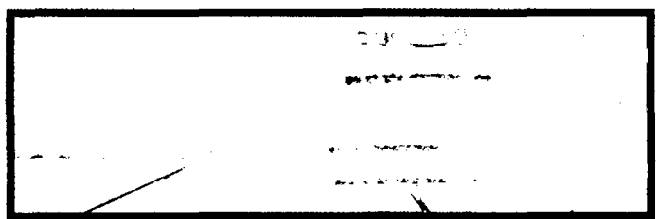
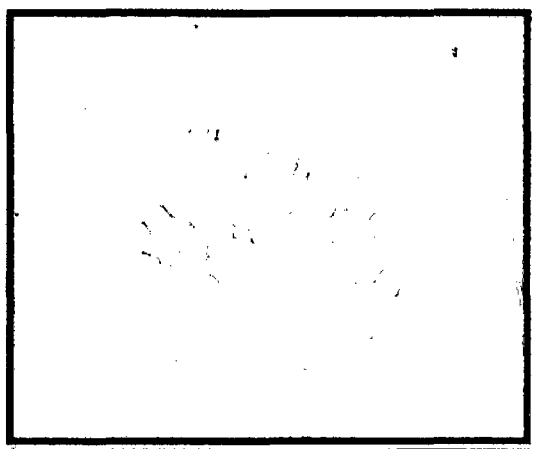
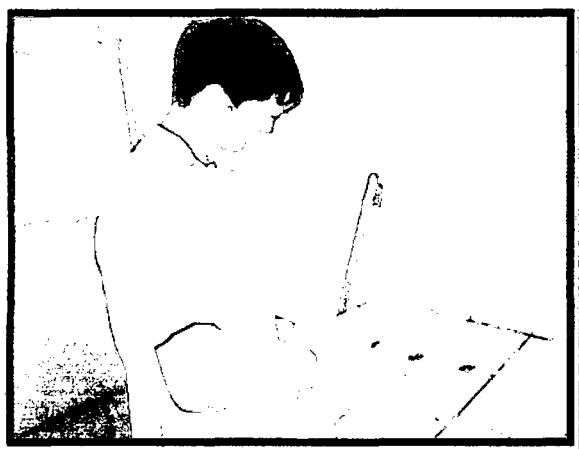


Administración de fármacos, extractos y solventes a ratones según metodología



Extracción y extendido de estómagos de los ratones

**Colocación de estómagos de ratones en tapetes para su conservación
y posterior análisis por el patólogo**



**Resultado del análisis histopatológico de los estómagos y la actividad
gástrica protectora de *Dioscorea larecajensis***

