

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto gastroprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote” en *Cavia porcellus* “cobayo”. Ayacucho 2018.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR EL:

**Bach. CAMPOS BERROCAL David Luisin**

Ayacucho-Perú

2019

A mi madrecita y familiares por los valores sembrados en mí como la humildad, el respeto y por el constante apoyo emotivo brindado en mi vida.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios todopoderoso por adentrarme al mundo del saber y por permitirme cumplir las metas trazadas en mí vida.

A mi *Alma Mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjadora de profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, a los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que hicieron posible mi formación profesional y compañeros de estudio.

A mi asesor Dr. Edwin Enciso Roca, por su orientación en la ejecución de este trabajo de tesis.

A todas las personas que me apoyaron en el desarrollo de este trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I..INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. Aspectos botánicos de <i>Bixa orellana</i> L. “achoite”	8
2.2.1. Clasificación taxonómica	8
2.2.2. Nombres comunes.	8
2.2.3. Descripción botánica.	8
2.2.4. Distribución geográfica.	8
2.2.5. Composición química.	8
2.2.6. Uso en medicina tradicional	9
2.3. Compuestos fenólicos	10
2.3.1. Ácidos fenólicos	10
2.3.2. Flavonoides	11
2.3.3. Taninos	13
2.4. Patologías en el sistema digestivo	14
2.4.1. Úlcera péptica	14
2.4.2. Gastritis	14
2.4.3. Tipos de gastritis	15
2.5. Protectores de la mucosa	17
2.6. Inhibidores de la bomba de protones	18
2.7. Compuestos fenólicos con actividad gastroprotectora y antisecretora	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	19
3.2. Definición de la población y muestra	19
3.2.1. Población	19
3.2.2. Muestra	19

3.3. Animales de experimentación	19
3.4. Metodología y recolección de datos	19
3.4.1. Preparación del extracto hidroalcohólico	19
3.4.2. Aislamiento de la fracción fenólica	20
3.4.3. Pruebas cualitativas	20
3.4.4. Caracterización cromatográfica de los compuestos fenólicos	20
3.4.5. Diseño experimental	21
3.4.6. Evaluación del efecto gastroprotector en cobayos	21
3.5. Análisis estadístico	24
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	33
VI. CONCLUSIONES	39
VII. RECOMENDACIONES	41
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	47

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página	
Tabla 1	Distribución de grupos para la evaluación del efecto gastroprotector.	22
Tabla 2	Evaluación de lesiones gástricas post mortem.	23
Tabla 3	Caracterización de los compuestos fenólicos con reactivo cloruro férrico 5% y ensayo de Shinoda presente en el extracto obtenido de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho 2018.	27

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Estructura de los ácidos benzoicos	11
Figura 2 Estructura de los ácidos cinámicos	11
Figura 3 Núcleo básico de un flavonoide	12
Figura 4 Mecanismos de lesión y protección en el estómago	17
Figura 5 Análisis cromatográfico del extracto de acetato de etilo bajo luz UV de los compuestos fenólicos extraídos de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho 2018.	28
Figura 6 Índice de ulceración gástrica según la escala de Lacroix observado en los tratamientos: basal, control, fármacos y compuestos fenólicos aislados, a diferentes dosis, de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho 2018.	29
Figura 7 Porcentaje de inhibición de ulceración gástrica, según la escala de Lacroix, mostrado por los tratamientos control, fármacos y compuestos fenólicos aislados, a diferentes dosis, de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho 2018.	30
Figura 8 Análisis de los cortes histológicos de estómago de cobayos del grupo blanco, control y los extractos de compuestos fenólicos a 4,0; 8,0 y 16,0 mg/kg aislados de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. Ayacucho 2018.	31

## ÍNDICE DE ANEXOS

		página
Anexo 1	Certificado de identificación botánica de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho 2018.	49
Anexo 2	Flujograma del proceso de extracción de los compuestos fenólicos.	50
Anexo 3	Extracción e identificación cualitativa de los compuestos fenólicos de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho 2018.	51
Anexo 4	Separación cromatográfica de los compuestos fenólicos de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho 2018.	52
Anexo 5	Etapas de la evaluación de la actividad gastroprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" en cobayos. Ayacucho 2018	53
Anexo 6	Matriz de variables de estudio. Ayacucho 2018.	54
Anexo 7	Porcentaje de inhibición de la ulceración según la escala de Lacroix Ayacucho 2018.	55
Anexo 8	ANOVA de Kruskal- Wallis del índice de ulceración según la escala de Lacroix. Ayacucho 2018	56
Anexo 9	ANOVA de Mann Whitney comparación de grupos del índice de ulceración según la escala de Lacroix. Ayacucho 2018.	57
Anexo 10	Análisis histopatológico de los tejidos estomacales de cobayos, observación de la citoestructura del estómago.	58
Anexo 11	Análisis histopatológico de los tejidos estomacales de cobayos, observación de la submucosa.	60
Anexo 12	Análisis histopatológico de los tejidos estomacales de cobayos, observación de la mucosa estomacal.	62
Anexo 13	Análisis histopatológico de los tejidos estomacales de cobayos, observación de las arterias en la submucosa	64
Anexo 14	Matriz de consistencia.	66



## RESUMEN

Se sabe que el uso de plantas medicinales con propiedad gastroprotectora son un aporte de la medicina tradicional peruana, existen investigaciones sobre muchas plantas que aportan este efecto gastroprotector y que son conferidos a sus compuestos fenólicos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto gastroprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" en *Cavia porcellus* "cobayo", hojas recolectadas en el distrito de Ayna, provincia La Mar - Ayacucho. Siendo el tipo de investigación de nivel básico experimental. Se llevó a cabo en los laboratorios de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. El método de extracción líquido - líquido de los compuestos fenólicos fue con éter de petróleo para quitar grasa y acetato de etilo para lograr separar los compuestos fenólicos. El modelo experimental *in vivo* fue úlcera gástrica aguda inducida por etanol 96%. Con grupos tratados con omeprazol y sucralfato, y tres grupos que recibieron, respectivamente, dosis de 4,0 mg/kg; 8,0 mg/kg y 16,0 mg/kg de compuestos fenólicos de hojas de *Bixa orellana* L. La dosis con mayor actividad gastroprotectora fue al 8,0 y 16,0 mg/kg, siendo el valor de  $p < 0,05$  concordante con los análisis histopatológicos, donde, sólo se apreció discreto descamación de la mucosa en la dosis de 4,0 mg/kg. Se concluye que los compuestos fenólicos de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" tienen actividad gastroprotectora.

**Palabras clave:** actividad gastroprotectora, compuestos fenólicos, *Bixa orellana* L. "achiote".

## I. INTRODUCCIÓN

Entre de las enfermedades que afectan al hombre y provocan alteraciones en su vida individual y social se encuentra la úlcera péptica, afección benigna que ha ido en aumento con el desarrollo de la civilización. Ésta se encuentra en el 5 a 10 % de la población, lo cual explica que sea una enfermedad de observación frecuente en las salas de nuestros hospitales, así como en las consultas externas<sup>1</sup>. Durante nuestra formación universitaria hemos comprendido que es posible resolver los problemas de salud integrando la medicina tradicional a la medicina científica convencional, pero antes es necesario demostrar objetivamente la validez de aquella mediante estudios experimentales y clínicos. Este es el trasfondo principal de este trabajo. La medicina tradicional ha utilizado extractos de plantas desde tiempos remotos para el tratamiento de dolencias estomacales, tales como *Bidens pilosa*, *Centaurea solstitialis*, *Cistus laurifolius* y *Cistus salviifolius*, las que demostraron poseer significativa actividad gastroprotectora<sup>2</sup>.

Además, se han informado otras plantas que poseen compuestos con reconocidas capacidades citoprotectoras debido a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides.<sup>3</sup> Por otra parte, ciertas prostaglandinas evitan la producción de úlceras provocadas por la acción de algunos agentes injuriantes como el alcohol sin inhibir la secreción gástrica<sup>4</sup>. Algunos flavonoides naturales aumentan el contenido mucoso de prostaglandinas y el moco en la mucosa gástrica, exhibiendo de esta manera propiedades citoprotectoras. Algunos de ellos previenen la formación de lesiones en la mucosa gástrica producidas por varios métodos y la protegen contra diferentes agentes necróticos<sup>5</sup>.

Los aspectos antes mencionados representaron el punto de partida de este trabajo de tesis; por lo que, de entre tantas especies vegetales que nos ofrece la medicina tradicional para solucionar el problema en mención, *Bixa orellana* L. "achiote", una especie de amplio uso medicinal y cuyo contenido de compuestos fenólicos está reportado ampliamente, fue objeto de investigación.

El presente trabajo de tesis se orientó hacia el logro del siguiente objetivo general:

Evaluar el efecto gastroprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote” en *Cavia porcellus* “cobayo”.

Los objetivos específicos trazados fueron:

- Caracterizar e identificar los compuestos fenólicos aislados obtenidos de las hojas de *Bixa orellana* L.
- Determinar la dosis con mayor efecto gastroprotector de los compuestos fenólicos obtenidos de las hojas de *Bixa orellana* L.
- Realizar análisis histopatológicos de la citoarquitectura del estómago extirpados.

El presente trabajo de tesis es el resultado del trabajo metódico y cuidadoso, desde el aislamiento de los compuestos fenólicos, su evaluación a través de ensayos experimentales *in vivo* e histológicos, la aplicación de un modelo experimental de úlcera aguda inducida por etanol, hasta el análisis de los datos obtenidos y su redacción.

Esperamos que el presente trabajo de tesis contribuya al conocimiento de las propiedades farmacológicas de *Bixa orellana* L. “achiote”, que sirva de referencia para otros estudios de mayor precisión y, sobre todo, sirva como evidencia científica para estudios preclínicos.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

Sthefania A.<sup>6</sup> en el 2017 en su tesis titulada evaluación de la actividad cicatrizante en ratas albinas de la combinación de preparados galénicos de *Bixa orellana* L. “achiote”, *Ocimum campechianum mill* “albaca de monte” y *Aloe vera* “sábila”, en un modelo de descripción de las características histopatológicas del tejido cicatrizado, dando como resultado que el preparado de *Bixa orellana* L. en un 10 % de concentración demostró mejor reconstrucción tisular en un 60 % que el ungüento combinado con las tres especies y el control positivo. Concluyendo de esta manera que el preparado galénico posee una actividad cicatrizante.

Sepúlveda et al.<sup>7</sup> en el 2016 en un estudio titulado extracción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de las hojas de *Bixa orellana* L. evaluó el efecto del tiempo de extracción y la relación solvente sobre el contenido de fenoles totales en el extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. evaluado por el método Folin Ciocalteu. El resultado muestra que las condiciones del proceso que más favorecen la extracción de compuestos fenólicos desde las hojas de *Bixa orellana* L. son tiempo de extracción de 60 horas y relación solvente hojas de 4/1, el contenido máximo de fenoles totales fue de 144,77 mg<sub>AT</sub>.g<sup>-1</sup>. Concluyendo que la cantidad de fenoles totales obtenidos de las hojas de *Bixa orellana* L. dependen de la relación solvente/material vegetal y del tiempo de extracción.

Ancheta y Guzmán<sup>8</sup> en el 2011 en un estudio titulado efecto citoprotector del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* L. en úlceras gástricas inducidas por indometacina en un modelo de ratones, obtuvieron como resultado que el extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* L. presentan una tendencia a ser citoprotector debido que al momento de medir un marcador bioquímico el MDA (malondialdehído) un producto del estrés oxidativo, este extracto presentó menor cantidad en comparación con la indometacina que presento mayor cantidad de este marcador también corroborado a nivel microscópico en análisis

histopatológico que indicó menor lesión en la mucosa gástrica que llevo tratamiento del extracto acuoso. Concluyendo que el extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* L. presentan un efecto citoprotector.

Ganiyu et al.<sup>9</sup> en el 2011 realizaron un estudio titulado inhibición del estrés oxidativo inducido por ciclofosfamida en cerebro de rata por extractos polares y no polares de semillas de *Bixa orellana* L. Este estudio buscó evaluar la capacidad de inclusión dietética de extractos polares (agua) y no polares (cloroformo) de semillas de *Bixa orellana* L. sobre el estrés oxidativo inducido por ciclofosfamida en el cerebro de ratas. Los resultados del estudio mostraron que la administración intraperitoneal de ciclofosfamida (75 mg / kg de peso corporal) causó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) en el contenido de malondialdehído (MDA) del cerebro; sin embargo, la inclusión en la dieta de extractos de semillas de “annatto” (0,1 % y 0,2 %) causó una disminución significativa dependiente de la dosis ( $p < 0,05$ ) en el contenido de MDA del cerebro. Sin embargo, el extracto no polar tuvo efectos inhibidores significativamente mayores en la producción elevada de MDA en el cerebro y en la función hepática. Por lo tanto, la inclusión en la dieta de extractos de semillas de “annatto” como colorante alimentario podría prevenir el estrés oxidativo ocasionado por la administración de ciclofosfamida, pero el extracto no polar es un mejor protector.

Juárez <sup>10</sup> en el 2005 mediante un estudio titulado caracterización, extracción y purificación por cromatografía de compuestos de semillas de “urucum” *Bixa orellana* L., determinaron la solubilidad en los siguientes disolventes: acetona, éter etílico, metanol, hexano, acetato de etilo, etanol y cloroformo. Se concluye que la solubilidad mejor encontrado fue con cloroformo, acetona y acetato de etilo detectado por espectrofotometría de 3,75; 1,5 y 0,89 mg/mL de Bixina respectivamente. Esto referenciaría para posteriores investigaciones que la mejor extracción en cantidades de la Bixina (aditivo colorante) se logró con el cloroformo. Barros et al.<sup>11</sup> en el 2013 en un estudio titulado identificación preliminar de los fitoconstituyentes y cuantificación de flavonoides totales en las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote”, que estuvo orientado a la determinación preliminar de los fitoconstituyentes mediante reacción de coloración, precipitación y cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales presentes en las hojas de *Bixa orellana* “achiote”. Se preparó el extracto por reflujo, al cual se le determinó: tamizaje fitoquímico (alcaloides, triterpenos/esteroides, antocianidinas, flavonoides, saponinas y taninos.), así mismo se cuantificó los flavonoides totales expresados

como quercetina mediante espectrofotometría UV/Visible a 256 nm, encontrándose en un porcentaje promedio de 1,15 %. Concluyéndose que presenta como metabolitos secundarios a los flavonoides.

Guimet <sup>12</sup> en el 2012 en trabajo de investigación titulado evaluación de la actividad antioxidante y se determinación de los polifenoles totales in vitro, de las hojas de ocho morfotipos de *Bixa orellana* L. en la cual la cuantificación de los polifenoles totales se realizó por el método de Folin-Ciocalteu. La capacidad antioxidante se midió por el método de DPPH (1,1-difinil-2-picrilhidrazilo). Fue el morfotipo 5 de las ocho morfotipos el que presento mayor porcentaje de inhibición frente al radical DPPH. En cuanto a los polifenoles totales el morfotipo 3 fue el que presentó mayor cantidad de polifenoles totales. La correlación entre el promedio de la concentración de polifenoles totales y la capacidad de inhibición al 50% de los extractos *Bixa orellana* L. en los ocho morfotipos fue negativa porque no existió diferencia estadística significativa corroborados en la prueba t con nivel de significancia de 0,05. Concluyendo que las hojas de *Bixa orellana* L. presentan actividad antioxidante y variabilidad en la cuantificación de polifenoles totales en los 8 morfotipos evaluados.

Ramírez <sup>13</sup> en 2010 con tesis titulada efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze “canchalagua”, en su estudio se empleó el método de inducción de úlceras empleando etanol a 96% en los siguientes grupos: Control Negativo Suero fisiológico (2,0 mL/kg) Control Positivo: Omeprazol (20 mg/kg). *Schkuhria pinnata* (200 mg/kg). *Schkuhria pinnata* (100 mg/kg). Los resultados mostraron un efecto gastroprotector y sobre la motilidad intestinal del extracto a dosis de 100 mg/kg. En conclusión, quedó demostrado que el extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* efecto gastroprotector frente a las lesiones producidas por etanol 96% con un 62,16% de eficacia gastroprotectora ( $p < 0,05$ ) en base a las escalas de Lacroix & Guillaume y de Marhuenda.

Huamán et al.<sup>14</sup> en el 2009 en un estudio titulado efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* L “achiote”, en ratas a dosis de extracto de 200 y 400 mg/kg. Se provocó la injuria con alcohol al 96%. La evaluación macroscópica fue mediante la escala de Marhuenda. Los tejidos fueron conservados en formol al 10 %, para su estudio histopatológico por tinción hematoxilina-eosina. El tratamiento con el extracto produjo una inhibición de las lesiones gástricas en 21,7 % y 28,3 %, respectivamente ( $p < 0,01$ ). En el estudio

histológico, se encontró mayor protección y menor migración de células proinflamatorias en los grupos que recibieron el extracto a 200 y 400 mg/kg. Sin embargo, los grupos controles y los que recibieron ranitidina presentaron grados de lesión considerable y un mayor incremento de migración de células proinflamatorias. En conclusión, el extracto hidroalcohólico de *Bixa orellana* L. presenta un efecto gastroprotector antiulceroso frente a la injuria con etanol al 96%, tanto a nivel macroscópico como microscópico.

Arce et al.<sup>15</sup> en el 2007 de trabajo titulado efecto protector del *Aloe vera* “sábila” en lesiones gástricas inducidas con etanol en ratas, se evaluó 36 ratas hembra se les administró por canulación orogástrica uno de los siguientes tratamientos durante siete días: control con suero fisiológico, *Aloe vera* 10 ml/kg y sucralfato (500 mg/kg). El tratamiento con *Aloe vera* (1,01 %) redujo significativamente el porcentaje de área hemorrágica con respecto al grupo control (3,66 %). Respecto a la profundidad de lesión, no existen diferencias significativas entre los valores promedios del grupo Sucralfato y el grupo *Aloe vera*. Concluyendo que, en las condiciones experimentales, el *Aloe vera* “sábila” presentó un importante efecto protector y terapéutico similar al sucralfato.

Huachaca<sup>16</sup> en 2017 en tesis titulada actividad gastroprotectora y antisecretora de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “nogal” en cobayos, utilizó siete grupos de ocho animales cada uno: grupo blanco, grupo control, dos grupos tratados con omeprazol y sucralfato, y tres grupos que recibieron respectivamente dosis de 0,5 mg/kg; 1,0 mg/kg y 2,0 mg/kg de compuestos fenólicos de hojas de “nogal”, el modelo experimental fue in vivo ulcera gástrica inducida por etanol 96 %. La dosis con mayor actividad gastroprotectora fue al 2,0 mg/kg con un porcentaje de inhibición de un 96,8 % e índice de ulceración media de 0,3, según escala Maruenda, se concluye que los compuestos fenólicos de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “nogal” únicamente tiene actividad gastroprotectora.

Cordova<sup>17</sup> en 2015 de tesis titulada la actividad antiulcerosa de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza”, el método de inducción de úlceras gástricas fue por acción del etanol y se comparó con ranitidina y omeprazol en un modelos experimental en cobayos en el estudio se evaluó a 35 animales con siete grupos de cinco animales cada uno, aplicándoles en ayunas dosis de 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg de compuestos fenólicos aislados de las hojas de “romaza”; 10 mg/kg de omeprazol, 100 mg/kg de

ranitidina. Después de una hora se administró por vía orogástrica 1 mL de etanol, la evaluación macroscópica fue mediante escala Maruenda. Los resultados muestran que el pretratamiento de compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza” redujo significativamente las lesiones ulcerosas con necrosis hemorrágica inducida con etanol presentando 24,13 %; 68,97 % y 86,21 % respectivamente. Mientras que omeprazol y ranitidina presentaron un efecto antiulcerogénico de 93,10 % y 89,66 % respectivamente. Se concluye que los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza” tiene actividad antiulcerogénica sobre el tejido gástrico dañado. Donde la dosis de 20 mg/kg muestra mejor actividad.

Palacios<sup>18</sup> en el 2015 con tesis titulada efecto antiulceroso y antisecretor del extracto hidroalcohólico de las flores del *Spartium junceum* L. “retama”, el procedimiento se realizó mediante el método ligadura de píloro inducida por histamina, la evaluación macroscópica fue mediante escala Maruenda, los animales fueron distribuidos en 6 grupos: (I) basal con agua; (II) control con histamina 50 µg/kg; (III) patrón con ranitidina 50 mg/kg; (IV) con *Spartium junceum* L. a 100 mg/kg; (V) a 200 mg/kg; a 400 mg/kg; con cinco animales en cada grupo. A una dosis de 400 mg/kg muestra un efecto inhibitorio de 81,67 %, concluyéndose que el extracto hidroalcohólico de las flores del *Spartium junceum* L. “retama” tienen efecto antiulceroso y antisecretor frente a las lesiones producidas por histamina.

Quispe<sup>19</sup> en el 2015 con tesis titulada efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote”, el método usado fue inducción de ulcera gástrica inducida por etanol absoluto en cobayos, los grupos tratados fueron: basal; control etanol 96%; patrón omeprazol y dosis de extracto de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg. la evaluación macroscópica fue mediante escala Maruenda. Los resultados muestran que a dosis de 400 mg/kg el extracto mostro un índice de ulceración de 0,4 que indica la casi ausencia del daño gástrico. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote” a dosis de 400 mg/kg presentan un efecto antiulceroso.

Meneses<sup>20</sup> en el 2012 con tesis titulado efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico del fruto de *Carica papaya* L. “papaya”, la ulceración gástrica fue inducida por etanol absoluto y como tratamiento concentraciones de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico, agua destilada como control y ranitidina 150 mg como patrón. Según escala Maruenda se encontró mayor



protección a 400 mg/kg y un porcentaje de inhibición de 83,33 % en comparación con el patrón que obtuvo un alto porcentaje de inhibición de ulcera gástrica con un 91,67 %. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico del fruto de *Carica papaya* L. “papaya” tiene efecto antiulceroso frente al daño inducido por etanol absoluto.

## **2.2. Aspectos botánicos de *Bixa Orellana* L. “achoite”**

### **2.2.1. Clasificación taxonómica**

- DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA
- CLASE : MAGNOLIOPSIDA
- SUB CLASE : DILLENIIDAE
- ORDEN : VIOLALES
- FAMILIA : BIXACEAE
- GÉNERO : *Bixa*
- ESPECIE : ***Bixa orellana* L.**
- N. V. “achoite”

Fuente: Descripción realizada por el jefe de Herbarium Huamagemsis.2018.

### **2.2.2. Nombres comunes.**

*Bixa orellana* L. recibe diferentes nombres comunes que varían de acuerdo con el idioma, la localidad o el país “Achiote”, “onato”, “anato” (Putumayo), “urucú” (Guaraní), rucou” (Guayanas y Venezuela), “biza” o “bija” (Antillas), “annato” (Caribe), “achiote de nahuatl” (México), “urucul” (Amazonas), “beninoki”, “thai del kham”, “biché”, “lipstick tree” (ingles)<sup>21</sup>.

### **2.2.3. Descripción botánica.**

Árbol o arbusto siempre verde de 4 a 5 m de altura con tronco de corteza lisa de color gris verdoso y abundantes lenticelas. Hojas siempre verdes, delgadas, acorazonadas, con peciolo de 5 a 6 cm, de panículas terminales con flores de 5 pétalos blancos de color blanquecino rosado de 3 a 4 cm de diámetro, con numerosos estambres, cáliz peludo. El fruto es una capsula loculicida café-rojiza, y cubierta de pequeñas espinas lisas; semillas con celdas de 5 mm de diámetro, cubiertas de fina pulpa rojo-naranja<sup>21</sup>.

### **2.2.4. Distribución geográfica.**

*Bixa orellana* L. es originario de la cuenca amazónica, se cultiva desde México a Bolivia entre 400 a 1200 m sobre el nivel del mar<sup>21</sup>.

### **2.2.5. Composición química.**

En las hojas encontramos: Bixaganeno, ishwarano (aceite esencial) entre otros mono y sesquiterpenos; flavonoides: 7-bisulfato de apigenina, 7- bisulfato de

luteolina, 8-bisulfato de hipolaetina, glucósido de apigenina, bisulfato de apigenina, hipolaetina, cosmosiina, entre otros como: flavonas, antocianidinas y sesquiterpenlactonas; carotenoides: bixina, norbixina, orelina,  $\beta$ -caroteno, criptoxantina, metilbixina, zeaxantina, luteína; ácido tomentósico; vitaminas (A, B, y C); proteínas; azúcares; celulosa; grasas; calcio, fierro y fósforo; diterpenos: farnesilacetona, geraniol, geranil formato, alcaloides (vestigios), ácido gálico (benzenoide) y ácido alfitólico<sup>22</sup>. En las semillas encontramos: carotenoides expresados como provitamina A (1 000 -2 000 U.I./g de semilla seca), entre ellos destacan: bixina, betabixina, metilbixina, norbixina, orelina, zeaxantina,  $\beta$ -caroteno, luteína y criptoxantina; también contienen bixinato de sodio, achiotina, ácido tomentósico, pectinas, proteínas, taninos, y un hidrocarburo sesquiterpénico, ishwarane (esencia floral de las semillas). Las semillas también contienen sílica, potasa, un alto contenido de fósforo y bajo de calcio; un alto contenido de proteínas, el cual incluye niveles adecuados de triptófano y lisina, pero bajos niveles de metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina y treonina. *Bixa orellana* L “achote” presentan compuesto fenólicos y taninos, que hacen que la planta sea megadiverso de la acción farmacológica y también contribuye en la elaboración de productos fitofármacos exclusivamente de origen vegetal<sup>22</sup>.

#### **2.2.6. Uso en medicina tradicional.**

Como medicina se recomienda usar las semillas del achote y menos frecuente la corteza la raíz y las hojas en decocción, generalmente se usa como un laxante, digestivo, tónico, antiinflamatorio, antiespasmódico y en casos de quemaduras para calmar el dolor y cicatrizar sin dejar o minimizando las marcas, también para calmar el dolor y ardor en los pies. La decocción de la raíz es considerada como diurética, antidisentérica, antivenérea antidiabética. La decocción de la corteza del tallo se usa para desinflamar luxaciones, calmar dolores musculares y contra los dolores artríticos y reumáticos. La decocción de las hojas se recomienda como emenagogo, antibiótico, diurético, purgativo, antivenéreo, antiemético; para lavados oculares en caso de conjuntivitis; para calmar el dolor de las quemaduras y como cicatrizante; contra dolores de cabeza, oídos y estomago; contra la caspa y caída del pelo; en forma de gargarismos se usa en contra de inflamaciones de boca y garganta. Las hojas machacadas y puestas sobre la frente se aconsejan para quitar dolores de cabeza. La decocción de las hojas del achote rojo se usa en bebidas y baños contra la mordedura de serpientes<sup>23</sup>.

### 2.3. Compuestos fenólicos

Son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales. Originan una de las clases más importantes de metabolitos secundarios en las plantas, en su mayoría derivados de la fenilalanina y en menor cantidad de la tirosina. Estos compuestos constituyen un amplio grupo de sustancias, presentes en las plantas con diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas. Existen más de 8000 compuestos fenólicos identificados<sup>24</sup>. Son un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y que ocurren frecuentemente como glucósidos, combinados con unidades de azúcar, son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua, pueden ser detectados por el intenso color verde, azul o negro, que producen cuando se les agrega cloruro ferrico<sup>25</sup>.

Se han descrito varios compuestos polifenólicos por su actividad antiulcerogénica con un buen nivel de protección gástrica. Además de su acción como gastroprotectora, estos compuestos fenólicos pueden ser una alternativa para el tratamiento de las úlceras gástricas. Los polifenoles se pueden clasificar de muchas maneras debido a su diversidad estructural, según su estructura química tenemos dos grandes grupos<sup>25</sup>.

#### a) No flavonoides

- **Fenoles no carboxílicos:** C6, C6-C1, C6-C3
- **Ácidos fenoles:** derivados del ácido benzoico C6-C1 y derivados del ácido cinámico C6-C3.

#### b) Flavonoides (C6-C3-C6)

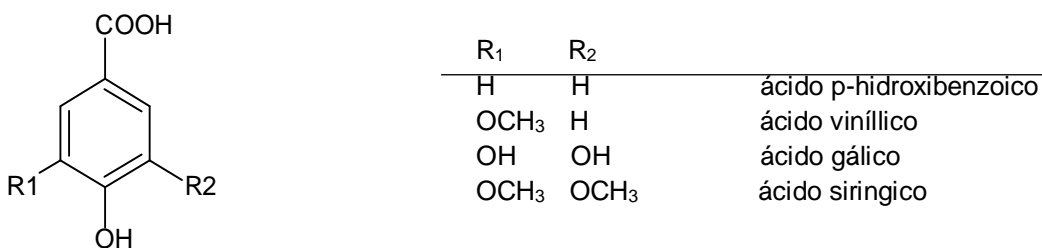
Formados por 2 grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado. Subgrupos:

- Antocianos.
- Flavonas, flavononas, y flavanonoles.
- Flavanoles, taninos condensados y lignanos

#### 2.3.1. Ácidos fenólicos

Estos compuestos tienen una función carboxílica y un grupo hidroxilico fenólico, derivan del ácido benzoico (anisaldehido, vanillina, ácido verátrico, ácido anísico, ácido gálico) y del ácido cinámico (clorogénico, cafeico, ferúlico y sináptico, p-cumarico, elágico)<sup>25</sup>. Los ácidos fenólicos tienen propiedades antisépticas urinarias y propiedades antiinflamatorias.

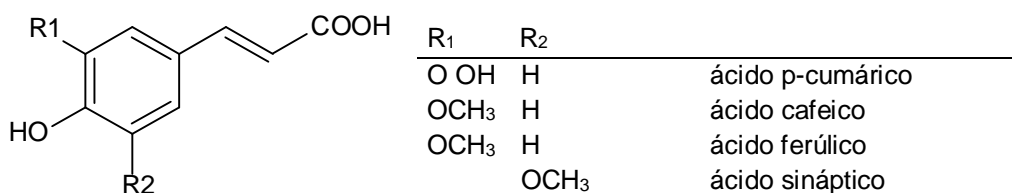
- **Ácidos fenólicos derivados del ácido benzoico**



Acido p-hidroxibenzoico

Figura 1: Estructura de los ácidos benzoicos<sup>26</sup>

- **Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico**



Acido p-hidroxicinámico

Figura 2: Estructura de los ácidos cinámicos<sup>26</sup>

Los ácidos fenólicos inhiben la 5-lipooxigenasa de granulocitos humanos, de ello resulta una inhibición en la formación de hidroperóxidos y leucotrienos que podrían justificar el empleo en el tratamiento de enfermedades inflamatorias o alérgicas<sup>27</sup>.

### 2.3.2. Flavonoides

Los flavonoides fueron descubiertos por el premio Nobel Szent-György, quien en 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C2 (porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C). Sin embargo, el hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950<sup>28</sup>. Estos pigmentos naturales presentes en los vegetales protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc<sup>29, 30</sup>.

- **Distribución**

Están distribuidos ubicuamente entre los vegetales superiores vasculares, siendo las rutáceas, poligonáceas, compuestas y umbelíferas las principales familias que

los contienen. Abundan, sobre todo, en las partes aéreas jóvenes y más expuestas al sol, como las hojas, los frutos y las flores, ya que la luz solar favorece su síntesis. Se encuentran generalmente en mezclas como, agliconas y/o glicósidos, siendo más comunes las flavonas y flavonoles, y más restringidas en su ocurrencia las isoflavonas, las chalconas y auronas<sup>28</sup>.

- **Estructura química**

Los flavonoides contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico (figura 3) y están arreglado bajo un sistema C6-C3-C6, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos, que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. Se forman biogenéticamente a través de la ruta del shikimato y del acetato malonato, siendo la chalcona el flavonoide inicialmente formado, y a partir de la cual se derivan las otras clases por posteriores modificaciones que ocurren en varias etapas. Cada una de las clases de flavonoides, suele encontrarse bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 y/o 7, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa<sup>28</sup>.

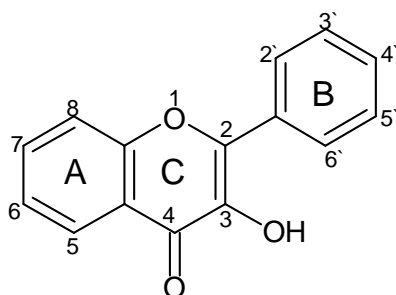


Figura 3: Núcleo básico de un flavonoide<sup>26</sup>

- **Clasificación**

Los flavonoides se clasifican a partir de sus variaciones estructurales, modificaciones como pueden ser: adicionar (o reducir) grupos hidroxilos, la metilación de grupos hidroxilos o del núcleo del flavonoide, metilación de grupos hidroxilos en posición orto, dimerización (para producir biflavonoides), formación de bisulfatos y la más importante, glicosilación de grupos hidroxilos (para producir flavonoides O-glicósidos) o del núcleo del flavonoide (para producir flavonoides C-glicósidos).<sup>26</sup> Las amplias gamas de flavonoides incluyen: flavanonas, flavonoles, flavonas, flavanoles, antocianinas, flavanonoles, isoflavonas, chalconas, dihidrochalconas, auronas y neoflavonas<sup>31</sup>.

- **Efectos farmacológicos**

Los flavonoides actúan en las plantas como antioxidantes, antimicrobianas, fotorreceptores, atractores visuales, repelentes de alimentación, y para la detección de la luz. Muchos estudios han sugerido que los flavonoides presentan actividades biológicas, incluyendo antialérgico, antiviral, antiinflamatorio (por inhibición de la COX), y las acciones vasodilatadoras<sup>32, 33</sup>. Son compuestos polifenólicos de importancia farmacológica por exhibir actividad anti-oxidante, anti-alérgica, anti-tumoral, anti-microbiana y hormonal<sup>33</sup>. Presentan una rápida absorción y pueden sufrir oxidación y reacciones de reducción, así como la metilación, la glucuronidación y sulfatación, y tienen excreción biliar<sup>32</sup>.

### **2.3.3. Taninos**

Son compuestos fenólicos hidrosolubles, que presentan junto a las reacciones clásicas de los fenoles, la propiedad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas. Las aplicaciones de drogas con taninos son limitadas y derivan de sus propiedades astringentes: por vía interna ejercen un efecto antidiarreico y antiséptico, por vía externa impermeabilizan las capas más externas de la piel y mucosas, protegiendo así las capas subyacentes; a esto hay que añadir un efecto vasoconstrictor sobre los pequeños vasos superficiales<sup>33</sup>.

Por otro lado, el término compuestos fenólicos engloba todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, nombre popular del hidroxibenceno, unido a estructuras aromáticas o alifáticas. Únicamente algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenoles no son polifenoles, sino monofenoles<sup>34</sup>.

Los compuestos fenólicos son relativamente polares, tienden a ser solubles en agua, pudiendo ser detectados por el intenso color verde, púrpura, azul o negro que producen cuando se les agrega una solución acuosa o alcohólica al 1 % de cloruro férrico. Dada la naturaleza aromática de estos compuestos fenólicos, muestran intensa absorción en la región UV/V del espectro (200-400 nm), siendo este método espectral especialmente importante para su identificación y análisis cuantitativo.

Los constituyentes químicos que presentan las especies vegetales son flavonas, flavonoles, isoflavonas, fenilpropanoides, chalconas, auronas, alcaloides, esteroides, entre otros<sup>34</sup>.

## **2.4. Patologías en el sistema digestivo**

### **2.4.1. Úlcera péptica**

La úlcera péptica (UP) es una enfermedad heterogénea atribuible a una serie de factores que, de forma aislada o en combinación, actúan produciendo un desequilibrio entre los elementos agresivos y defensivos de la mucosa gastroduodenal, lo que conlleva a la aparición de lesiones en el estómago.

El término de úlcera se refiere a la pérdida de sustancia de cualquier parte de la superficie del cuerpo humano. Así, la úlcera péptica sería aquella pérdida de sustancia que ocurre en las zonas del aparato digestivo que están expuestas al ácido y a la pepsina que se secreta en el estómago. Estas zonas son el tercio inferior del esófago, la totalidad del estómago y el duodeno. Excepcionalmente, puede producirse en zonas con mucosa gástrica ectópica, como en los divertículos de Meckel. La localización más frecuente de la úlcera péptica es el duodeno, seguido del estómago. Esta pérdida de sustancia debe, al menos, afectar la capa muscular de la mucosa y no sobrepasar la serosa<sup>35</sup>.

Una úlcera se define como la pérdida de la integridad de la mucosa del estómago o del duodeno que produce un defecto local o excavación a causa de inflamación activa. Las úlceras se producen en el estómago o el duodeno, y con frecuencia son de naturaleza crónica<sup>35</sup>.

La úlcera péptica es una pérdida de sustancia circunscrita de la membrana mucosa que penetra hasta la muscular de la mucosa y, a veces, a la submucosa y a la capa muscular. Puede situarse en cualquier zona del tracto digestivo expuesta al jugo gástrico que contiene ácido y pepsina. Su localización más frecuente es el estómago o el duodeno, aunque también puede presentarse en el esófago, o aparecer después de la gastroyeyunostomía. Hoy se distinguen las úlceras duodenal y gástrica como enfermedades fundamentalmente diferentes con fisiopatología, presentación clínica y tratamientos distintos<sup>36</sup>.

### **2.4.2. Gastritis**

La gastritis es una inflamación de la mucosa interior del estómago (mucosa gástrica), algo que la población relaciona con síntomas como dolor, ardor, inflamación, vómitos, indigestión y, en ocasiones, hasta sangrado, y muchas veces se presenta de forma asintomática. Es decir, es un síndrome anatómico y clínico caracterizado por este tipo de síntomas, que además se acompaña de cambios inflamatorios en el espesor de la mucosa gástrica, alteraciones en las secreciones de ácido clorhídrico, pérdida de los factores de barrera del estómago,

entre otros. Esta enfermedad puede aparecer rápidamente o puede ser un problema de larga duración. Una gastritis mal cuidada puede llevar al reflujo gastroesofágico, que es el paso del material gástrico al esófago, recibido como ardor en mitad del pecho y que mejora con los eructos. Si esto no se atiende correctamente, o si la causa es la infección por el *Helicobacter pylori*, puede evolucionar a cáncer gástrico. De ahí la necesidad de un diagnóstico temprano y de su tratamiento<sup>37</sup>.

#### **2.4.3. Tipos de gastritis<sup>38, 39</sup>.**

**Gastritis bacteriana:** generalmente es la consecuencia de una infección por microorganismos como el *Helicobacter pylori* (bacteria que crece en las células secretoras de moco del revestimiento del estómago). Dicho crecimiento bacteriano puede causar un efecto pasajero o persistente.

**Gastritis erosiva crónica:** se produce como respuesta al consumo excesivo de ciertos medicamentos, de alimentos que contengan picante, condimentos o grasa, de bebidas alcohólicas, de refrescos con gas, o bien a la ingesta accidental de sustancias tóxicas, como productos de limpieza o veneno.

**Gastritis eosinofílica:** puede resultar de una reacción alérgica a una infestación de gusanos. Hay un tipo de glóbulos blancos (componentes de la sangre que se encargan de defender al organismo de infecciones) llamados eosinófilos, que se acumulan en la pared gástrica, produciendo inflamación e irritación en la mucosa del estómago.

**Gastritis atrófica:** se genera cuando el organismo crea anticuerpos que atacan el revestimiento del estómago, provocando su adelgazamiento y la pérdida de muchas o de todas las células productoras de ácido y enzimas.

Este trastorno afecta a personas de edad avanzada y a quienes se les ha eliminado, mediante cirugía, una parte del estómago. Puede causar anemia, porque impide que el cuerpo reciba la vitamina B<sub>12</sub> presente en alimentos.

**Enfermedad de Mènetrier:** es un tipo de gastritis de origen desconocido. En esta enfermedad, las paredes del estómago desarrollan pliegues grandes y gruesos, así como quistes llenos de líquido. Cerca del 10% de los afectados desarrolla cáncer en este órgano.

**Gastritis por células plasmáticas:** es de origen desconocido, y se caracteriza por acumular en las paredes del estómago un tipo de glóbulos blancos (elementos de la sangre que defienden al cuerpo de infecciones) llamados células plasmáticas, que desgastan e inflaman la mucosa estomacal<sup>40</sup>.



La gastritis es etiológicamente multifactorial. Se observa que en un solo paciente pueden intervenir múltiples factores, tanto exógenos (*Helicobacter pylori* y otras infecciones, AINE, Irritantes gástricos, Drogas, Alcohol, Tabaco, Cáusticos y Radiación.) como endógenos (Acido gástrico y pepsina, Bilis, Jugo pancreático, Urea (uremia) e Inmunes.), de los que el más común es la infección por *Helicobacter pylori*<sup>41</sup>. La patogenia de la ulceración aguda es compleja y no se conoce con detalle. Las úlceras inducidas por AINE están relacionadas con la inhibición de la ciclooxigenasa, lo que impide la síntesis de prostaglandinas y, a su vez, aumenta la secreción de bicarbonato, inhibe la secreción de ácido, favorece la síntesis de mucina y aumenta la perfusión vascular. Las lesiones asociadas a la lesión intracraneal parecen deberse a la estimulación directa de los núcleos vagos, lo que provoca la hipersecreción de ácido gástrico. La acidosis sistémica, un hallazgo frecuente en estas condiciones, también contribuye a la lesión de la mucosa al reducir el pH intracelular de las células mucosas. La hipoxia y el descenso del flujo sanguíneo causados por la vasoconstricción esplácica inducida por el estrés también contribuye a la patogenia de las úlceras agudas. Los desequilibrios entre las defensas de la mucosa y las fuerzas nocivas que provocan la gastritis crónica también son responsables de la enfermedad ulcerosa péptica (EUP), en la Figura 4 se muestra la progresión desde las formas más leves de lesión a la ulceración que pueden presentarse con la gastritis aguda o crónica. Las úlceras comprenden capas de necrosis (N), inflamación (I) y tejido de granulación (G), pero la cicatriz fibrótica (C), que tarda tiempo en desarrollarse, sólo aparece en las lesiones crónicas<sup>42</sup>. Es por ello por lo que la EUP se desarrolla sobre la base de una gastritis crónica. No se sabe por qué algunas personas desarrollan solamente gastritis crónica, mientras que otras desarrollan la EUP. La infección por *Helicobacter pylori* y los AINE son las causas subyacentes más importantes de la EUP y ambos comprometen las defensas de la mucosa a la vez que provocan su lesión. Aunque más del 70% de los sujetos con EUP están infectados por *Helicobacter pylori*, menos del 20% de las personas infectadas desarrolla una úlcera péptica. Es probable que los factores del anfitrión y también las variaciones en las cepas de *Helicobacter pylori*, determinen la evolución clínica. La hiperacidez gástrica que domina en la EUP se puede deber a la infección por *Helicobacter pylori*, hiperplasia de células parietales, respuestas secretoras excesivas o deterioro de la inhibición de los mecanismos estimuladores, como la liberación de gastrina. Por ejemplo, el síndrome de

Zollinger-Ellison, en el que aparecen múltiples úlceras pépticas en el estómago, duodeno e incluso en el yeyuno, se debe a la liberación no controlada de gastrina por un tumor y la consiguiente producción masiva de ácido. Los cofactores más frecuentes en la ulcerogenia péptica son el uso crónico de AINE, que causan una irritación química directa a la vez que suprimen la síntesis de prostaglandinas necesarias para la protección de la mucosa, el consumo de cigarrillos, que deteriora el flujo sanguíneo y la cicatrización de la mucosa y el consumo de corticoesteroides de dosis altas, que suprimen la síntesis de prostaglandinas y deterioran la cicatrización. Las úlceras duodenales son más frecuentes en sujetos con cirrosis alcohólica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia renal e hiperparatiroidismo. En estas dos últimas afecciones, la hipercalcemia estimula la producción de gastrina y, por tanto, aumenta la secreción de ácido. Por último, el estrés psicológico propio o exógeno también aumenta la producción gástrica de ácido<sup>42</sup>.

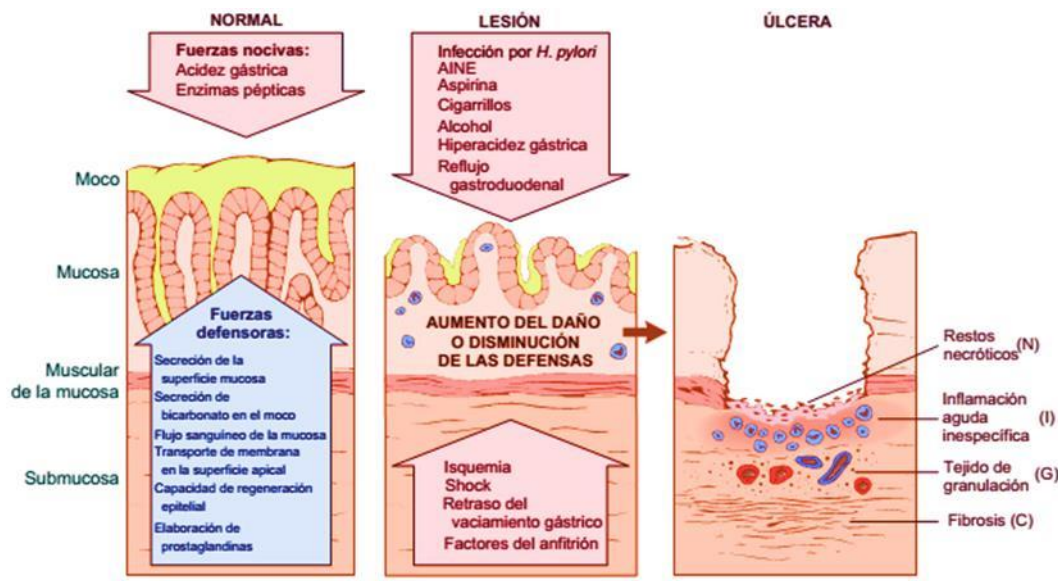


Figura 4: Mecanismos de lesión y protección en el estómago<sup>42</sup>.

## 2.5. Protectores de la mucosa

Estos fármacos son útiles en el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la secreción ácida; sin embargo, se muestran inferiores a los modernos inhibidores, tanto en términos de eficacia (porcentaje de cicatrizaciones y rapidez con que se consigue) como en el control de la sintomatología dolorosa que acompaña a estos procesos, por lo que han sido relegados al tratamiento de casos aislados en los que la utilización de antisecretores no se aconseja. Su uso continúa teniendo cierta vigencia en la profilaxis de las lesiones de la mucosa

gastroduodenal producidas por AINES, aunque también en este caso, la inhibición de la secreción ácida goza de mayor preferencia. Los más utilizados en el Perú son: subsalicilato de bismuto y sucralfato<sup>42</sup>.

## **2.6. Inhibidores de la bomba de protones**

Este grupo de compuestos actúa selectivamente sobre el eslabón final del proceso de secreción ácida gástrica, la ATPasa-H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> o bomba de protones. Esta enzima representa un paso obligado en el proceso de secreción de H<sup>+</sup> por lo cual, y en contraste con los antagonistas H<sub>2</sub>, la capacidad inhibitoria de estos fármacos es independiente del estímulo desencadenante de la producción ácida. Los fármacos más usados de este grupo son: omeprazol, esomeprazol, lanzoprazol y pantoprazol<sup>42</sup>.

## **2.7. Compuestos fenólicos con actividad gastroprotectora y antisecretora**

Se han llevado a cabo muchos estudios que apoyan fuertemente la contribución de los polifenoles a la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer, osteoporosis, enfermedades neurodegenerativas y diabetes mellitus, y sugieren un papel en la prevención de la úlcera péptica<sup>43, 44</sup>. Los polifenoles exhiben una serie de propiedades farmacológicas sobre trastornos gastrointestinales, actuando como agentes antisecretor, citoprotector y antioxidante. Las propiedades antioxidantes de compuestos fenólicos han sido ampliamente estudiadas, pero ha quedado claro que sus mecanismos de acción van más allá de la modulación del estrés oxidativo. Se han descrito varios compuestos polifenólicos por su actividad antiulcerogénica con un buen nivel de protección gástrica. Además de su acción como gastroprotectora, estos compuestos fenólicos pueden ser una alternativa para el tratamiento de las úlceras gástricas. Por lo tanto, teniendo en cuenta el importante papel de los compuestos polifenólicos en la prevención o reducción de lesiones gástricas inducidas por diferentes agentes ulcerogénicos<sup>43</sup>.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Farmacognosia y Farmacología, de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga durante los meses de mayo a setiembre de 2018.

#### 3.2. Definición de la población y muestra

**3.2.1. Población:** Hojas de *Bixa orellana* L. “achoite” que crece en el distrito de Ayna, provincia La Mar a 620 msnm.

**3.2.2. Muestra:** 4 kg de hojas de *Bixa orellana* L. “achoite”, que crece en el distrito de Ayna, provincia La Mar a 620 msnm.

**Criterios de inclusión:** hojas sanas

**Criterios de exclusión:** hojas dañadas

#### 3.3. Animales de experimentación

56 cobayos machos de la línea Perú adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), adultos entre 400 y 500 g de peso.

#### 3.4. Metodología y recolección de datos

##### 3.4.1. Preparación del extracto hidroalcohólico

4 kg de hojas frescas e intactas de *Bixa orellana* L “achoite” fueron secadas a temperatura ambiente, bajo sombra, sobre una base de papel periódico con recambio constante y remoción de la muestra para un secado uniforme, evitando el deterioro por la humedad.

Una vez secada la muestra se redujo el tamaño de partícula en una licuadora hasta obtener un polvo fino. Luego, la droga molida, fue sometida a extracción por maceración simple con etanol de 80 %, cantidad suficiente para cubrir la muestra, durante 14 días en frasco de vidrio ámbar. Durante este proceso se agitó el frasco por 10 minutos dos veces al día.

Transcurrido el tiempo de extracción se procedió a filtrar el extracto con ayuda de una bomba al vacío y papel filtro Watman N°40, posteriormente se llevó a un evaporador rotatorio BUCHI–3000 a presión reducida y finalmente a sequedad en una estufa Memmert a no más de 50 °C. El extracto seco se almacenó en un envase de vidrio ámbar bajo refrigeración hasta su uso<sup>25</sup>.

#### **3.4.2. Aislamiento de la fracción fenólica**

- Se reconstituyó el extracto hidroalcohólico seco con agua destilada y se trató con éter de petróleo para eliminar grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos que posiblemente interfieran en la extracción de los compuestos fenólicos de interés.
- Se realizó una extracción líquido-líquido con acetato de etilo utilizando un embudo de separación para recuperar finalmente la fracción de acetato de etilo y se hizo evaporar a sequedad para obtener finalmente la fracción flavónica<sup>25</sup>.

#### **3.4.3. Pruebas cualitativas**

0,25 g de extracto seco se reconstituyó con 4 mL de etanol de 96 % y se distribuyó en dos tubos de ensayo para las reacciones de coloración.

##### **a. Prueba de Shinoda**

- Se incorporó partículas de magnesio sobre la fracción de acetato de etilo contenida en un tubo de ensayo, luego se añadió gotas de ácido clorhídrico por las paredes del tubo. La aparición de tonos rojos se consideró como reacción positiva para flavonoides.

##### **b. Reactivo de cloruro férrico**

- Se le añadió unas gotas de cloruro férrico al 10 %, sobre la fracción de acetato de etilo contenida en un tubo de ensayo. La aparición de tonos azul negruzcos se consideró como reacción positiva para compuestos fenólicos.

#### **3.4.4. Caracterización cromatográfica de los compuestos fenólicos<sup>17</sup>**

- La fracción de acetato de etilo se disolvió en 0.5 mL de etanol y mediante un capilar de vidrio, se aplicó en la parte inferior de la placa CCF previamente activada (fase estacionaria).
- Se utilizó como sistema de solvente BAW (butanol, ácido acético y agua) en proporción de 4:1:5
- Se colocó la placa CCF en la cámara teniendo cuidado que el solvente no sobrepase a la muestra aplicada y dejándose que el líquido ascienda por capilaridad.

- Se sacó la placa CCF de la cámara cuando el diluyente llegó a 2 cm de la parte superior de la placa cromatográfica.
- Se dejó secar la placa CCF al aire libre y se observó en la lámpara UV
- Se reveló con vapores de amoníaco y cloruro férrico al 1 %.

#### 3.4.5. Diseño experimental

El diseño aplicado es el diseño con posprueba únicamente y grupo de control.

Simbólicamente y de forma abreviada, corresponde a:

$$\begin{array}{ccc} RG_n & X_n & O_n \\ RG_c & -- & O_c \end{array}$$

Donde  $RG$  corresponde a los grupos experimentales organizados aleatoriamente,  $X$ , es el estímulo y  $O$ , la observación<sup>45</sup>.

#### 3.4.6. Evaluación del efecto gastroprotector en cobayos

##### Metodología.

##### Procedimiento

Se empleó el modelo experimental descrito por Ramirez F.<sup>13</sup> con algunas modificaciones.

- Los animales estuvieron alojados en jaulas metálicas de crianza para su aclimatación por una semana previa a los experimentos, con libre acceso a agua y alimento. La temperatura ambiental fue de 22 - 27 °C y 70 – 80 % de humedad relativa con 12 horas de luz/oscuridad.
- Toda la manipulación de los animales se realizó de acuerdo con los principios éticos para el uso de animales de experimentación recomendados por Comité de Ética para el Uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El CIEA está registrado en la OLWA (Office of Laboratory Animal Welfare), con el código A5146-01.
- Se emplearon 56 cobayos machos adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), adultos entre 400 - 500 g de peso. Los animales se alojaron en jaulas metálicas y mantuvieron en ayunas durante 24 horas antes de comenzar el experimento, dejándolos únicamente con agua *ad libitum*.
- Para la producción de úlceras gástricas se utilizó etanol 96° a la dosis de 1 mL /250 g de peso del animal, una sola dosis. Como medicamento control se empleó omeprazol a dosis de 20 mg/kg y sucralfato 3 mL/kg, única dosis.

- Los tratamientos se administraron por vía oral con la ayuda de cánula orogástrica de metal, media hora antes de la administración del agente ulcerogénico (etanol de 96° a dosis de 1 mL/250 g), según se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1: Distribución de grupos para la evaluación del efecto gastroprotector.

Grupo	Repetición	Tratamiento	Vehículo y/o agente lesivo
I	8	Suero fisiológico 1 mL/250 g	Suero fisiológico 1 mL/250 g
II	8	Suero fisiológico 1 mL/250 g	Etanol 1 mL/250 g
III	8	Omeprazol 20 mg/kg	Etanol 1 mL/250 g
IV	8	Sucralfato 3 mL/kg	Etanol 1 mL/250 g
V	8	<i>Bixa orellana</i> 4,0 mg/kg *	Etanol 1 mL/250 g
VI	8	<i>Bixa orellana</i> 8,0 mg/kg *	Etanol 1 mL/250 g
VII	8	<i>Bixa orellana</i> 16,0 mg/kg *	Etanol 1 mL/250 g

(\*) compuestos fenólicos

- Transcurrida una hora de la administración del etanol 96 %, por vía oral, los animales fueron eutanisados empleando pentobarbital de sodio vía intraperitoneal (150 mg/kg). Inmediatamente se realizó una laparotomía en el tercio anterior de la línea media abdominal, extrayéndose el estómago que fue abierto por la curvatura mayor, lavándose cuidadosamente con suero fisiológico. Se extendieron los estómagos sobre una tabla de plastroformo. Se examinó el tejido y se realizó la valoración de las úlceras gástricas observando la presencia de moco, edema, congestión del tejido y extensión de las úlceras en la zona mucosa; se midió el tamaño de las lesiones en milímetros; así como se contabilizó el número de los mismos en cada caso; usando la siguiente escala:

Tabla 2: Evaluación de lesiones gástricas post mortem<sup>46</sup>.

Escala de Lacroix & Guillaume (Current Protocols in Pharmacology)	
Puntaje	Característica
0	Sin ulceraciones, o daño en la mucosa.
1	Hasta 15 pequeñas ulceraciones en la mucosa (<1 mm de diámetro), observable sólo como ligeras depresiones en luz reflejada.
2	Pequeñas ulceraciones en la mucosa y ulceraciones medias (1-4 mm de diámetro); no ulceraciones >4mm de diámetro
3	Ulceraciones pequeñas y medias y ulceraciones >4 mm de diámetro, no adhesiones intestinales
4	Ulceraciones grandes y medias predominantemente (>5 total); ulceraciones grandes que exhiben signos de perforación y adhesiones las cuales hacen difícil remover el intestino intacto.
5	Necropsia de muerte o animales eutanisados revelan evidencia de peritonitis masiva resultado de perforaciones intestinales

### Obtención del Índice de Ulceración Gástrica

Se calculó la puntuación total (la suma del puntaje total para todas los cobayos del mismo grupo) y el promedio de ambas escalas.

El puntaje total se expresó en porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración del grupo control, según como sigue:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Índice de ulceración del grupo control} - P}{\text{Índice de ulceración del grupo control}} \times 100$$

Donde:

P= Puntaje obtenido en la evaluación macroscópica según escala.

Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración del grupo control.

- En el análisis histopatológico, los estómagos fueron extirpados y lavados suavemente con solución salina para remover la sangre y los detritos adheridos al tejido; se fijaron las muestras en formol al 10 % tamponado, por 7 días, y luego se seleccionaron las zonas donde de acuerdo con el examen



macroscópico se evidenciaron lesión aparente. El procesamiento de los tacos de parafina se realizó empleando un dispensador de parafina. Los tacos obtenidos fueron llevados a congelamiento a  $< 0^{\circ}\text{C}$ , por un lapso de 3 horas, para luego proceder al corte de  $3\ \mu$  de espesor con ayuda de un micrótomo. Luego, se retiró la parafina en una estufa, para proceder a la coloración con hematoxilina – eosina. Después de la deshidratación y limpieza de las láminas, fueron llevados para la observación microscópica de características anómalas.

- Determinamos la dosis con mayor efecto citoprotector utilizando las puntuaciones de escala de Lacroix & Guillaume, Expresado en porcentaje de inhibición de úlcera gástrica.

### **3.5. Análisis estadístico**

Los datos se procesaron utilizando el paquete estadístico SPSS (stadistical package for social sciences), versión 24.0, año 2016. Se aplicaron el análisis de varianza (ANOVA). Se consideró significativa una  $p < 0,05$ , con intervalo de confianza al 95 %. Se determinó la media y desviación estándar de los valores individuales obtenidos para los animales de cada grupo.

## **IV. RESULTADOS**



Tabla 3: Caracterización de los compuestos fenólicos con reactivo cloruro férrico 5 % y ensayo de Shinoda presente en el extracto obtenido de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Ayacucho 2018.

Prueba	Metabolito Secundario	<i>Bixa orellana</i> L. “achiote” en hojas.	Coloracion
Cloruro férrico	Compuestos fenolicos	+++	Azul negruzco
Shinoda	Flavonoides	+++	Rojo

LEYENDA:

- (+) : tenue
- (++) : Moderado
- (+++): intenso

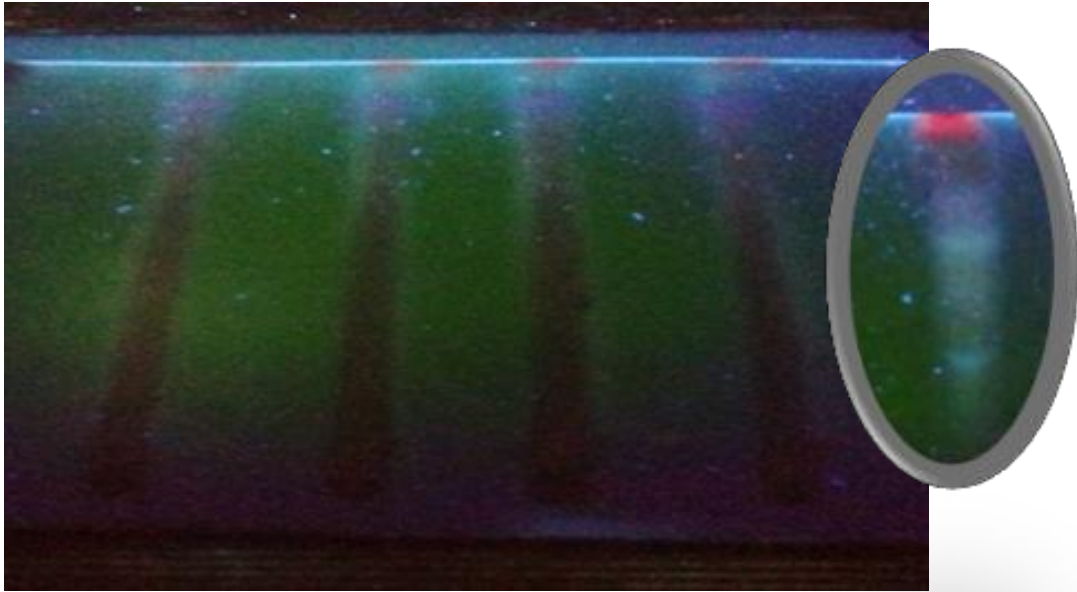
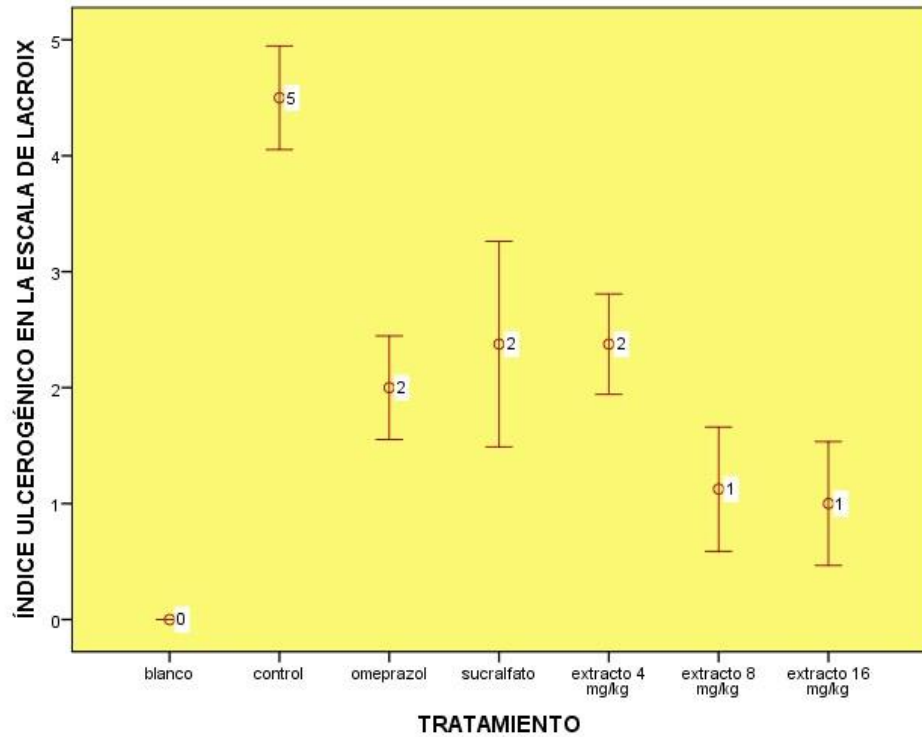
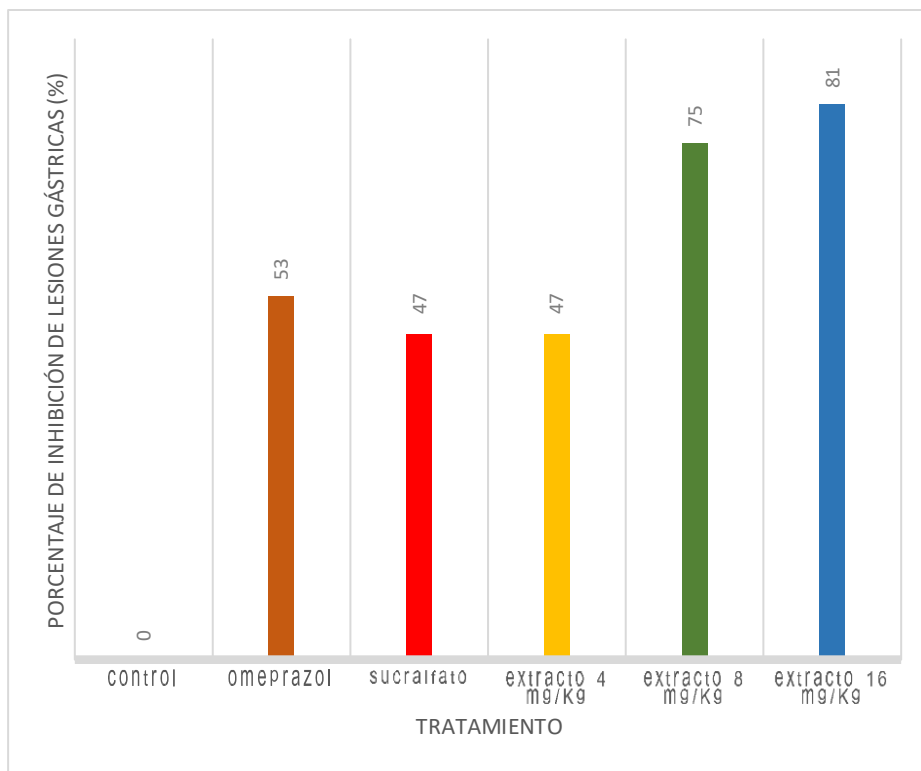


Figura 5: Análisis cromatográfico del extracto de acetato de etilo bajo luz UV de los compuestos fenólicos extraídos de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho 2018.



p = 0,000

Figura 6: Índice de ulceración gástrica según la escala de Lacroix observado en los tratamientos: basal, control, fármacos y compuestos fenólicos aislados, a diferentes dosis, de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho 2018.



$p = 0,000$

Figura 7: Porcentaje de inhibición de ulceración gástrica, según la escala de Lacroix, mostrado por los tratamientos control, fármacos y compuestos fenólicos aislados, a diferentes dosis, de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Ayacucho 2018.

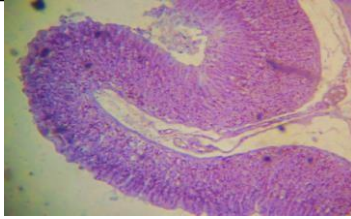

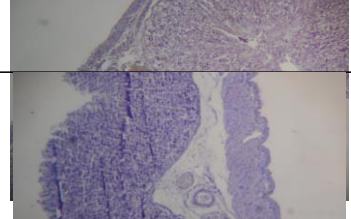
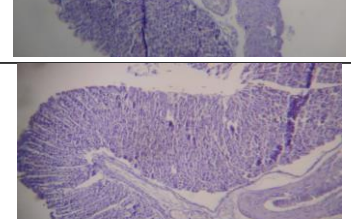
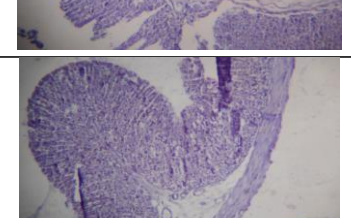
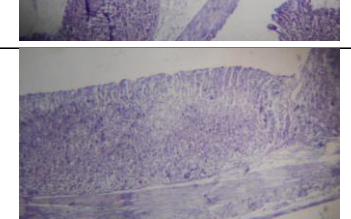
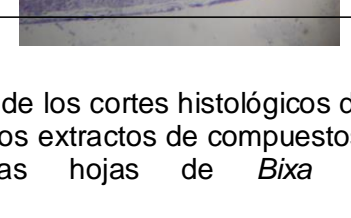
Grupo	Corte	Observación
Blanco		Pared gástrica normal con pliegue estomacal, se observa la mucosa ordenada y la submucosa con arterias normales.  Se evidencia un severo edema al nivel del a submucosa y descamación de la mucosa, hasta llegar a la muscular de la mucosa.
Control		Descamación de la mucosa, submucosa normal no se evidencia edema.
Omeprazol		Mucosa normal, ligero edema en la submucosa.
Sucralfato		Ligera descamación de la mucosa, no se evidencia edema.
Extracto 4 mg/kg		Mucosa normal con ceulas cilíndricas ordenadas y compactas
Extracto 8 mg/kg		Mucosa normal con células cilíndricas ordenadas y compactas
Extracto 16 mg/kg		

Figura 8: Análisis de los cortes histológicos de estómago de cobayos del grupo blanco, control y los extractos de compuestos fenólicos a 4,0; 8,0 y 16,0 mg/kg aislados de las hojas de *Bixa orellana* L. Ayacucho 2018





## V. DISCUSIÓN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto gastroprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Bixa orellana* L., es necesario mencionar que el aporte científico que se ha obtenido como resultado del presente estudio aportara con información necesaria para la industria farmacéutica de determinar un principio activo, y elaborar una presentación farmacéutica que garantice su uso terapéutico. Los compuestos fenólicos se presentan como metabolitos secundarios y están ampliamente distribuidos en las plantas desde las raíces hasta las semillas. Éstos son extensos en naturaleza y gama, de estructuras simples, con un anillo aromático a las sustancias poliméricas altamente complejas tales como taninos y lignines<sup>43</sup>.

La extracción se realizó en etanol al 80 %, considerando este aspecto, elegimos el etanol como solvente de extracción de fenoles de las hojas de “achiote”, dado su fácil acceso, además de que, a decir de Miranda<sup>47</sup>, los extractos hidroalcohólicos son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en drogas, donde la concentración de principios activos es óptima, facilitando la dosificación de estos. En un comparativo de tres métodos de extracción de compuestos fenólicos de bayas de *Vitis vinifera* L. las extracciones se llevaron a cabo utilizando mezclas con disolvente de distintas polaridades: etanol/agua 80:20, acetona/agua 80:20 % y etanol/agua 2:98 % mediante agitación a temperatura ambiente, El método que utiliza etanol/agua 2:98 % v/v (medio vínico diluido) presentó las menores concentraciones en la mayor parte de los compuestos fenólicos analizados, mientras que una extracción con etanol/agua 80:20 % v/v y acetona/agua 80:20 % v/v en forma consecutiva, permitió alcanzar los niveles más altos de la mayoría de estos compuestos. No obstante, lo anterior, cuando etanol/agua 80:20 % v/v y acetona/agua 80:20 % v/v se utilizaron en forma separada, también mostraron altas concentraciones de diversos compuestos fenólicos<sup>48</sup>. La solubilidad de los compuestos fenólicos se

rige por el tipo de disolvente (polaridad) utilizado, el grado de polimerización de los compuestos fenólicos, así como la interacción de compuestos fenólicos con otros constituyentes de los alimentos y la formación de complejos insolubles. Por lo tanto, no existe un procedimiento uniforme o completamente satisfactorio que sea adecuado para la extracción de todos los compuestos fenólicos o una clase específica de sustancias fenólicas en materiales vegetales. Metanol, etanol, acetona, agua, acetato de etilo y, en menor medida, propanol, dimetilformamida, y sus combinaciones se utilizan con frecuencia para la extracción de compuestos fenólicos<sup>49</sup>.

De otro lado, en la extracción líquido – líquido de compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico, resulta eficaz el uso de acetato de etilo dos veces, juntando las fases orgánicas de cada caso, donde se encuentra gran cantidad de fenoles libres<sup>50</sup>. Este hecho fue evidenciado mediante pruebas preliminares de identificación cualitativa, las mismas que dieron positivo, como se muestra en el Tabla 3 y Anexo 3. Las reacciones de coloración pueden usarse para evidenciar la presencia de compuestos fenólicos siendo el cloruro férrico una prueba de identificación de compuestos fenólicos la cual se confirma con la presencia de una coloración azul negruzca y una de las más específicas es la reacción de Shinoda, de la que resultan coloraciones características según el tipo del núcleo del flavonoide<sup>34</sup>. En el anexo 3 se observa la reacción de cloruro férrico y Shinoda, en la cual se puede apreciar el cambio de coloración a azul negruzco para cloruro férrico y rojo ladrillo para Shinoda, con ello confirmando la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides en la fase de acetato de etilo que, por la característica del color, podría tratarse posiblemente de flavonoides de tipo isoflavonas, flavonas y flavonoles.<sup>38</sup>

A su vez, el análisis cromatográfica del extracto de acetato de etilo bajo luz UV, como se ve en la Figura 5 y Anexo 4, puso en evidencia fluorescencias color rojo, amarillo opaco, celeste y azul , típicos de compuestos fenólicos, los mismos que corresponden a la existencia de posibles compuestos fenólicos como los flavonoides; siendo las flavonas sin 5-OH libres responsables de los tonos celeste y azul, mientras que la presencia de flavonoles con un 3-OH libre y con/sin 5-OH libre representa la coloración roja y amarilla opaco<sup>51</sup>.

En el presente estudio al evaluar los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote” contra el daño de la mucosa gástrica inducido por etanol absoluto en la escala de Lacroix y Guillaume; la Figura 6, corresponde al

índice de ulceración gástrica observado en los tratamientos: basal, control, fármacos y compuestos fenólicos a diferentes dosis en cobayos. Se observa que el grupo control, que únicamente recibió el agente ulcerogénico, sin ningún tratamiento adicional, ha alcanzado valoraciones de lesión gástrica de hasta 4,5 puntos, lo que corresponde a ulceraciones grandes y medias predominantemente, según dicha escala. Con omeprazol, es evidente la protección de la mucosa gástrica alcanzó un índice de ulceración de 2,1 puntos pequeñas ulceraciones en la mucosa y ulceraciones medias, casi igual que el sucralfato que obtuvo un índice de ulceración de 2,4, similar al tratamiento con 4 mg/kg de fenoles (2,4 puntos). En contraste, los tratamientos con fenoles a 8,0 y 16,0 mg/kg, alcanzaron puntos, respectivamente de 1,1 y 0,9. Estas dos últimas puntuaciones resultaron ser estadísticamente similares (Anexo 9).

Villar del Fresno<sup>52</sup>, afirma que muchos compuestos fenólicos muestran actividad frente a la úlcera péptica reduciendo el índice de ulceración y la intensidad del daño mucosal. Este efecto puede ser mediado por distintos mecanismos: Gastroprotector, por activación de los mecanismos fisiológicos de defensa incrementado la cantidad y la calidad del mucus gástrico, al aumentar su contenido glicoprotéico, por estimulación de la síntesis de prostaglandinas endógenas, la acción vasoprotectora de los flavonoides implica una mejora en la microcirculación, lo que favorece el proceso de cicatrización y la neo formación de vasos, actividad antirradicalaria y antioxidante en la génesis de las lesiones ulcerosas.

Los taninos poseen efectos farmacológicos que son capaces de reaccionar con las proteínas salivares y glucoproteínas de la boca, por lo que la saliva pierde su poder lubricante y tiene la propiedad de generar un poder analgésico cuando son aplicados sobre heridas sangrantes<sup>53</sup>, por lo que puede tener efecto gastroprotector.

El etanol es un agente irritante muy potente, produce lesiones necrosantes en la mucosa gástrica como consecuencia de su efecto tóxico directo. Actúa reduciendo la secreción del bicarbonato y la producción de moco, alterando su composición glicoprotéica; así mismo disminuye el gradiente del pH ocasionando daño gástrico<sup>46</sup>.

Huamán et al.<sup>14</sup> determinó el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* L "achiote", en ratas a dosis de extracto de 200 y 400 mg/kg. Se provocó la injuria con alcohol al 96 %. En el estudio

histológico, se encontró mayor protección y menor migración de células proinflamatorias en los grupos que recibieron el extracto a 200 y 400 mg/kg. Sin embargo, los grupos controles y los que recibieron ranitidina presentaron grados de lesión considerable y un mayor incremento de migración de células proinflamatorias. En conclusión, el extracto hidroalcohólico de *Bixa orellana* L. presentó un efecto gastroprotector antiulceroso frente a la injuria con etanol al 96%, tanto a nivel macroscópico como microscópico.

La diferencia entre los tratamientos fue confrontado estadísticamente a través una prueba de Kruskal walis que es un ANOVA no paramétrico para variables ordinales para ello se hace una comparación de medianas usando esta prueba. Con una confiabilidad del 95 %. Siendo estas diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) (Anexo 8). Como se ve en el anexo 8, el estadístico de prueba nos dice que hay diferencias significativas en por lo menos un grupo, pero no nos dice quién es el que marca la diferencia. A simple vista, el grupo blanco es quien marca la diferencia junto con el grupo control.

Haciendo una comparación por pares con el estadístico Mann Whitney, podemos averiguar quiénes son los pares que son similares o diferentes. De acuerdo con nuestras sospechas y en función de la figura 6 (anexo 9). Al realizar una comparación entre los extractos y el grupo control se observa que los extractos son diferentes significativamente al control ( $p < 0,05$ ), es decir, todos los extractos tienen efecto gastroprotector, ya que están por debajo del control con puntuaciones menores de lesión, y son los que nos interesan estudiar de acuerdo con el objetivo. En la figura 6 se ve que los tratamientos se aproximan al blanco, y nos hace pensar que, tal vez son similares en efecto. Pues vemos que no lo son ( $p < 0,05$ ). Todos los extractos son diferentes al blanco, es decir, tienen efecto gastroprotector, porque tienen menos puntaje que el control, pero no tanto como el puntaje del blanco sin lesiones. Si comparamos los extractos con los fármacos de referencia, porque sospechamos que son similares, vemos que sólo el extracto de 4mg/kg es similar en efecto que los otros dos. ( $p > 0,05$ ). También vemos en la figura 6 que los extractos de 8 y 16mg/kg son similares. En efecto, lo son ( $p > 0,05$ ).

En la figura 7 según la escala de Lacroix y Guillaume, todos los tratamientos lograron porcentajes de inhibición de ulceración gástrica mayores a 47 %, resultando más importantes los compuestos fenólicos a 8,0 y 16,0 mg/kg, con 75,0 y 81,0 %, respectivamente, lo que demuestra, pues, su actividad gastroprotectora.

de este estudio se concluyó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" fue efectivo como agente gastroprotector en un modelo de inducción de úlceras gástricas por etanol 96°.

En conclusión, se puede afirmar que los extractos tienen efecto gastroprotector, siendo el de 4 mg/kg similar a los fármacos de referencia y los de 8 y 16 mg/kg estadísticamente similares.

Para la verificación mucho más objetiva del grado de protección gástrica de los tratamientos, se llevó a cabo el análisis histopatológico del tejido gástrico de cada cobayo. La Figura 8, muestra una fotografía de cada corte histológicos de una muestra representativa de cada grupo. Se puede observar el grupo blanco sin lesiones, la estructura normal de un tejido sano. Como era de suponerse, en el grupo control hubo pérdida de la mucosa, con evidentes zonas erosivas y edema severo en la submucosa y que alcanza discretamente la muscular de la mucosa. Con los fármacos, obviamente, la protección fue buena, tal es así que con omeprazol sólo hubo erosión superficial de epitelio, es decir, de leve a moderado, con sucralfato discreta erosión superficial de epitelio y un ligero edema de la submucosa. Con los compuestos fenólicos se puede evidenciar protección gástrica de manera dosis dependiente: a mayor dosis mayor efecto, siendo la mejor dosis la de 4,0 mg/kg, donde histológicamente sólo se observó discreto edema. Dicho sea de paso, en los estudios histopatológicos se observaron descamaciones y aumento de macrófagos en el grupo control, mientras que el grupo VI y VII (8 y 16 mg/kg de fenoles) presentó mayor protección que en el grupo de 4 mg/kg, donde se observaron solo descamación.

Aun cuando hayamos tenido buenos resultados con los compuestos fenólicos, queda la duda sobre el mecanismo de acción exacta y cómo es que se relacionan con ella. Muchos de los compuestos fenólicos actúan a través de diferentes mecanismos y exhiben actividad antiulcerogénica. Estudios reportan sobre los compuestos fenólicos que las relaciones estructura-actividad muestran que la presencia de un grupo hidroxilo en C-5 y C-7 dentro de las flavonas disminuye drásticamente su actividad gastroprotectora. Sin embargo, un grupo metoxilo en la posición C-7 parece mejorar la gastroprotección. Un doble enlace en C-2 y C-3 y un anillo intacto parecen necesarios para la actividad óptima. Se informó que una sustitución con un grupo metoxilo en diferentes posiciones dentro del núcleo de flavona, tal como la posición C-5 o C-7, o una sustitución de metilo en la

posición C-7, no afecta la potencia de la actividad gastroprotectora. Sin embargo, la sustitución con un grupo metoxilo o hidroxilo en las posiciones C-3, C-6 o C-8 reduce la actividad gastroprotectora de los compuestos.<sup>54</sup>

Todos los resultados obtenidos en este trabajo dan sustento a la conclusión de que los fenoles aislados de *Bixa orellana* L. “achiote” tienen actividad gastroprotectora en cobayos. Sin embargo, se requieren de estudios más minuciosos para precisar mejor dicha actividad.

## VI. CONCLUSIONES

1. Los compuestos fenólicos de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote”, tienen actividad gastroprotectora en “cobayos”, en el modelo de úlcera gástricas aguda inducida por etanol 96 %. A dosis de 4,0; 8,0 y 16,0 mg/kg.
2. Se identificó y caracterizó la presencia de los compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto obtenida de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote”, con el reactivo de cloruro férrico al 5 %, ensayo de Shinoda se observo las coloraciones positivas y en el análisis cromatográfico del extracto de compuestos fenólicos se evidenciaron por las fluorescencias rojo, amarillo, azul y celeste.
3. La dosis con mayor actividad gastroprotectora de los compuestos fenólicos en “cobayos”, en un modelo de úlcera gástrica aguda inducida por etanol 96 %, es la de 8,0 y 16 mg/kg con porcentaje de inhibición de 75,0 y 81,0 %, estadísticamente diferente al grupo control ( $p = 0,000$ ).
4. Según el estudio histopatológico se observa que los compuestos aislados de las hojas de *Bixa orellana* L. presenta efecto gastroprotector.





## VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar más estudios farmacológicos *in vivo* que demuestren con mayor precisión la actividad gastroprotectora de los fenoles de aislados de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote".
2. Elucidar la estructura química de los compuestos fenólicos de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" y ensayar su actividad gastroprotectora.
3. Desarrollar formas farmacéuticas a base de los compuestos fenólicos de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" y evaluar su actividad gastroprotectora.
4. Realizar estudios de toxicidad de los compuestos fenoles de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote".
5. Determinar otros parámetros de estudio como son índice de acidez, mucus gástrico, secreción de pepsina, para afianzar el trabajo realizado.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Soll A, Sleisender y Fordtran, eds. Peptic ulcer and its complications. En: Gastrointestinal and liver diseases. Philadelphia (Pennsylvania): W.B Saunders Company; 1998. Pp.670-673.
2. Yesilada E, Sezik E, Fujita T, Tanaka S, Tabata M. Screening of some Turkish medicinal plants for their antiulcerogenic activities. *Phytother Res* 1993; 7: 263-265.
3. 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* 1999; 67: 333-340.
4. Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Hanchar AJ. Cytoprotection by prostaglandins in rats: prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology* 1979; 77: 433-443.
5. Alarcón de la Lastra C, Martín MJ, Motilva V. Antiulcer and gastroprotective effect of quercetin. A gross and hystologic study. *Pharmacology* 1994; 48: 56-63.
6. Sthefania S. Evaluación de la actividad cicatrizante, en ratas albinas, de la combinación de los preparados galénicos de *Bixa orellana* L. (Achiote), *Ocimum campecheanum* Mill. (Albahaca de monte) y *Aloe vera* L. (Sábila). [Tesis de grado] Guatemala: UNSCG- facultad de ciencias químicas y farmacia; 2017.
7. Sepúlveda R, Ciro G, Zapata M. Extraction of phenolic compounds and antioxidant activity from leaves of *Bixa orellana* L. (achiote). *Rev Cubana de plantas medicinales. Cuba* [internet] 2016 [acceso 2019-04-8] 21(2). Disponible en: <http://scielo.sld.cu>
8. Ancheta H, Guzman S. Efecto citoprotector del extracto acuoso de hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) en úlceras gástricas inducidas por indometacina en un modelo de ratones. [Tesis de grado] El Salvador: UDJMD- facultad de ciencias de la salud; 2011.
9. Ganiyu O, Toyin L, Stephen A, Abayomi O. Inhibition of cyclophosphamide-induced oxidative stress in rat brain by polar and non-polar extracts of “annatto” *Bixa orellana* L. seeds. *Rev. Experimental and Toxicologic Pathology. Nigeria* [internet] 2011 [acceso 2019-04-8]63 (3). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.01.003>
10. Juárez S. Caracterização, extração e purificação por cromatografia de compostos de “urucum” *Bixa orellana* L. [Tesis de grado]. Tesis de Maestría. Universidad Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. 2005. [acceso 2018-03-9]; Disponible en: <https://repositorio.ufsc.br>
11. Barros H, Guiselda D, Domingues L, Lilian E. Identificación preliminar de los fitoconstituyentes y cuantificación de flavonoides totales en las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote”. [Tesis de grado] Trujillo: UNITRU – Farmacia y Bioquímica; 2013.
12. Guimet RR. Evaluación de la actividad Antioxidante y Determinación de polifenoles totales in vitro, de las hojas de ocho morfotipos de *Bixa Orellana* L.” [Tesis de grado] Lima: UNAP: Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2012. [acceso 2018-03-9]; Disponible en: <http://repositorio.unapikitos.edu.pe>
13. Ramírez FJM. Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) kuntze “Canchalagua” en ratas albinas. [Tesis de grado] Lima: UNMSM – Unidad de postgrado: Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2010.

14. Huamán O, Sandoval M, Arnao I y Béjar E. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa Orellana* L. "achote", en ratas. An Fac med. Perú. [internet] 2009 [acceso 2018-03-9]; 70(2):97 - 102. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe>
15. Arce R, Molina O, Morán F, Moreno L. Efecto protector del Aloe vera (sábila) en lesiones gástricas inducidas con etanol en ratas. Sociedad Científica de San Fernando. Lima, Perú. [internet] 2007 [acceso 2019-04-8] 02 (2): 71- 75. Disponible en: <https://www.redalyc.org/html/717/71712207/>
16. Huachaca L. Actividad gastroprotectora y antisecretora de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Juglans neotropica* Diels "nogal" [Tesis de grado]. Ayacucho- Perú: UNSCH-Facultad de ciencias de la salud; 2017
17. Córdova D. Actividad antiulcerosa de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza". [Tesis de grado]. Ayacucho- Perú: UNSCH facultad de ciencias de la salud; 2015
18. Palacios D. Efecto antiulceroso y antisecretor del extracto hidroalcohólico de las flores del *Spartium junceum* L. "retama". [Tesis de grado]. Ayacucho- Perú: UNSCH-facultad de ciencias de la salud; 2015
19. Quispe R. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". [Tesis de grado]. Ayacucho- Perú: UNSCH-Facultad de ciencias de la salud; 2015
20. Meneses L. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico del fruto de *Carica papaya* "papaya". [Tesis de grado]. Ayacucho- Perú: UNSCH-Facultad de ciencias de la salud; 2012
21. Mejía A. Plantas medicinales: botanica de interest medico. María Cristina Arango Mejía; 2006. 427 p.
22. Guzmán S. Efecto citoprotector del extracto acuoso de hojas de *Bixa orellana* (achiote) en úlceras gástricas inducidas por indometacina en un modelo de ratones [Internet]. 2011 [acceso 21-09-2018]. Disponible en: <http://webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual>.
23. Gómez F. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Universidad de Antioquia; 2007. 394 p.
24. Porras L, López. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Dep. de Ing. Química [Internet]. 2009 [acceso 5-10-2018]. Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf)
25. Aguilar E., Bonilla P. Actividad antioxidante e inmunológica de flavonoides aislados de hojas de *Smallanthus sonchifolius* (Yacón). Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú. Instituto de investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara", Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú Ciencia e Investigación. Lima – Perú; 2009.
26. Gimeno E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. OFFARM. Ámbito Farmacéutico nutrición. [internet] 2004. [Acceso 2018-03-16]; 23(6). Disponible en: <http://www.elsevier.es>.
27. Félix M. Estudio fitoquímico y determinación de las flavanonas y alcaloides de naturaleza indólica en hojas de *Perezia multiflora* (H. Et B) Less. Escorsonera. [Tesis de grado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
28. Casanova, G. Actividad antioxidante y antiulcerosa del extracto acuoso liofilizado de *Calceolaria cuneiformes* R.p. Sub sp. *Cuneiformes* "ayapata

- zapatum". [Tesis de grado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2011
29. Hoogesteger C. Uso de plantas medicinales. México: Editorial Árbol; 2007. p.11-14.
  30. Lifchitz. A. Plantas medicinales guía práctica de botánica universal. Buenos aires: editorial Kier.; 2006. p. 12 - 14.
  31. Mahabir P. Plantas medicinales Iberoamericanas. 1ra ed. Bogotá Colombia; 2005. p. 438 -439.
  32. Martinez C. Los Berros, Propiedades de los Berros Botanical-online [internet]. Los berros. México. 2017 [acceso 2018-06-16]. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/berros.htm>
  33. Forés R. Atlas de las plantas medicinales y curativas; la salud a través de las plantas. Madrid: Editorial Culturam; 2013.
  34. Evans W. Farmacognosia. 4a edición. México: Editorial Interamericana McGraw Hill.; 1991.
  35. Rang H., Dales M., Riter J. & Moore P. Farmacología. Elsevier; (5.a ed.). Madrid 2014: 367-372.
  36. Ramírez M., González A., Garay G. & Segovia C. Evaluación histopatológica de gastritis atrófica. Comparación de los sistemas Sidney y Olga. Rev. Med Inst Mex Seguro Soc; [internet] 2008 [acceso 2018-03-9]; 46(2): 135-139. Disponible en: <http://www.medigraphic.com>
  37. Harrison. Principios de medicina interna. 17a edición. México: Editorial Mc Graw Hill; 2008.
  38. Matarama M. Medicina interna, diagnóstico y tratamiento. La Habana: Editorial Ciencias Médicas.; 2005
  39. Villanueva J., López D. & Ávila F. Hemorragia digestiva alta en los Andes peruanos. Reporte de 115 casos observados en Huaraz. Rev. Gastroenterología Perú; [internet] 2008 [acceso 2018-03-15]; 16(2): 99-104. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe>
  40. Sinclair P. & Barkun A. Community-acquired pneumonia and acid-suppressive drugs: position statement. Can J Gastroenterol; [internet] 2006 [acceso 2018-03-15] 20(2):119-21. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
  41. Montes P., Salazar S. & Monge E. Cambios en la epidemiología de la úlcera péptica y su relación con la infección de Helicobacter pylori. Hospital Daniel Carrión. Rev. Gastroenterol. Perú; [internet] 2007 [acceso 2018-03-15]; 27(4): 382-388. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe>
  42. Farreras R. Medicina interna. Gastritis y gastropatía. 2009. Cap. 17. (16); 144-147.
  43. Sumbul S, Ahmad MA, Asif M y Akhtar M. Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An overview. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. [internet] 2011 [acceso 2018-10-7]; 3(3):361. Disponible en: <http://www.jpbonline.org/article>.
  44. Tenorio M. Flavonoides extraídos de la cascara de naranja tangelo (*Citrus reticulata* x *Citrus paradisi*) y su aplicación como antioxidante natural en el aceite vegetal sacha inchi (*Plukenetia volubilis*). Perú (2016) Scientia Agropecuaria 7 (4): 419 – 431

45. Hernández S, Fernández C, Baptista L. Metodología de la investigación. 4<sup>a</sup> Edición. México DF: McGraw-Hill Interamericana; 2006.
46. CYTED-RIVAPLAMED. Métodos farmacológicos para la validación de plantas medicinales. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo; 2001.pág. 65-69.
47. Miranda M CA. Manual de Prácticas de Laboratorio, Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos; 2000.
48. Izquierdo H, Israel A.; Estudio comparativo de cuatro métodos de extracción de compuestos fenólicos de bayas de *Vitis vinífera* L.; repositorio académico de Univ. De Chile. [Internet]. 2011 [acceso 2018-10-10]. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/111142>
49. Naczki M, Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. J Chromatogr A. [Internet]. 2004 [acceso 2018-10-10];1054(1-2):95-111. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com>
50. Cabrera-Soto ML, Salinas-Moreno Y, Velázquez-Cardelas GA, Espinosa Trujillo E. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. Agrociencia [Internet]. 2009 [acceso 2018-10-18]; 43(8). Disponible en: <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=30215547005>.
51. Bravo S, Acuña C. Evaluación fitoquímica y determinación de flavonoides en hojas de *Ficus benjamina* L. [Internet]. 2015 [acceso 2018-11-10];28 (66). Disponible en: <http://revistas.lamolina.edu.pe/index>.
52. Villar del Fresno, A. "Farmacognosia general". Editorial Síntesis Farmacia. España. 1999.
53. Kuklinski, CI. Farmacognosia Estudio de las Drogas y Sustancia Medicamentosa de Origen Natural. Primera edición. Ediciones Omega S.A. España. 2000.
54. Beserra FP, Rozza AL, Vieira AJ, Sérgio Gushiken LF, Pellizzon CH. Antiulcerogenic Compounds Isolated From Medicinal Plants. Stud Nat Prod Chem [Internet] 2016 [acceso 2018-11-10]; 47:215-34. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com>

## **ANEXOS**





Anexo 1: Certificado de identificación botánica de *Bixa orellana* L. "achiote".  
Ayacucho 2018.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
"SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"

**C E R T I F I C A**

Que, el Bachiller en Farmacia y Bioquímica, Sr. David Luisin, CAMPOS BERROCAL, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

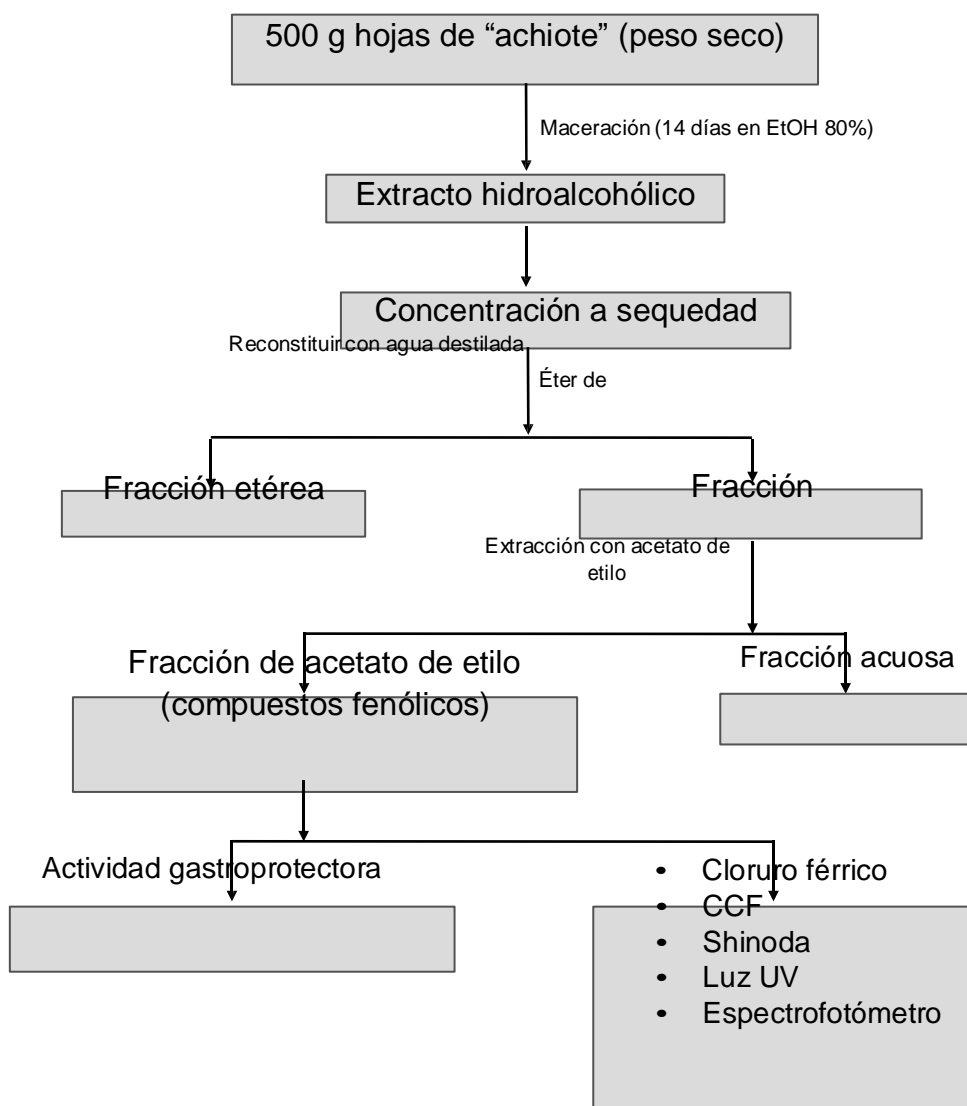
DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	DILLENIIDAE
ORDEN	:	VIOLALES
FAMILIA	:	BIXACEAE
GENERO	:	<i>Bixa</i>
ESPECIE	:	<i>Bixa orellana</i> L.
N.V.	:	"achiote"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 9 de Setiembre del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
*Laura Rocasime Medina*  
JEFE

Anexo 2: Flujograma del proceso de extracción de los compuestos fenólicos.



Anexo 3: Extracción e identificación cualitativa de los compuestos fenólicos de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho 2018.



A



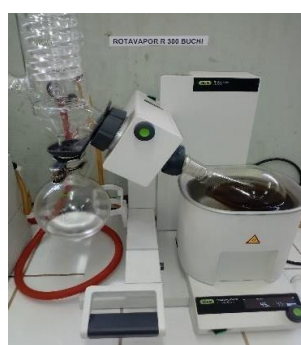
B



C



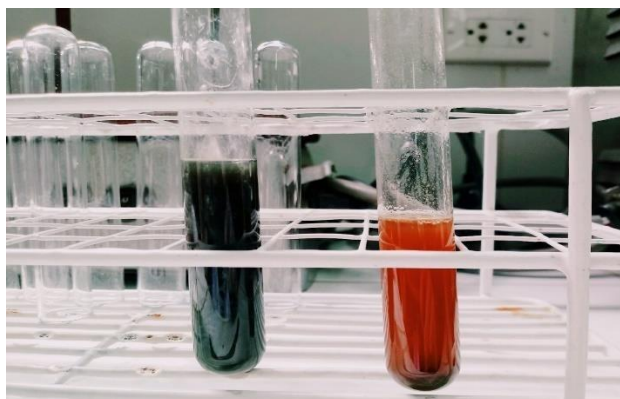
D



E



F



G

A, Muestra seca y molida; B, extracto hidroalcohólico en proceso de reducción; C, extracción líquido – líquido con éter de petróleo; D, extracción líquido – líquido con acetato de etilo; E, concentración al vacío; F, compuesto fenólico obtenido; G, reacciones de  $\text{FeCl}_3$  (azul negruzco) y Shinoda (rojo).

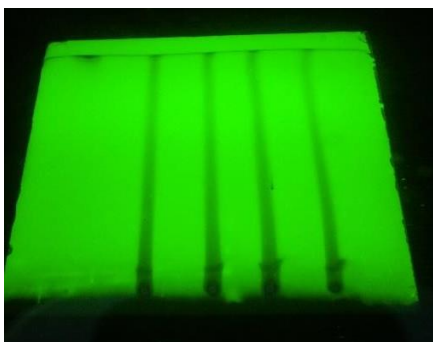
Anexo 4: Separación cromatográfica de los compuestos fenólicos de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho 2018



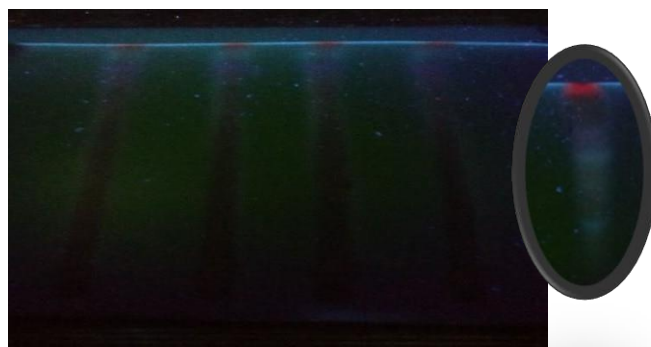
**A**



**B**



**C**



**D**



**E**

**A**, sembrado de compuestos fenólicos en la placa cromatográfica; **B**, cubeta cromatográfica conteniendo sistema de solventes y placa con muestra; **C**, fluorescencias vistas bajo luz UV a 254 nm; **D**, fluorescencias vistas bajo luz UV a 365 nm; **E**, revelado de la placa con vapores de amoníaco y  $\text{FeCl}_3$  al 1%.

Anexo 5: Etapas de la evaluación de la actividad gastroprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" en cobayos. Ayacucho 2018.



**A**



**B**



**C**



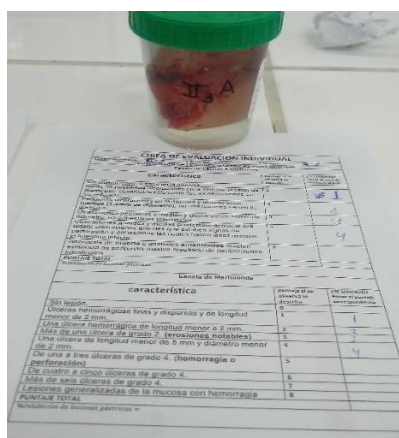
**D**



**E**



**F**



**G**

**A**, mantenimiento en ayunas de los cobayos; **B**, pesaje de los cobayos para calcular dosis a administrar; **C**, preparación de la dosis; **D**, administración de tratamientos; **E**, laparotomía; **F**, corte y extensión del estómago; **G**, valoración según las escalas de lesión y conservación de los tejidos en formol.



Anexo 6: Matriz de variables de estudio. Ayacucho 2018.

Tratamiento	Lacroix
Basal	0,0
Basal	0,0
Basal	0,0
Basal	0,0
Basal	0,0
Basal	0,0
Basal	0,0
Basal	0,0
Control	4,0
Control	5,0
Control	4,0
Control	5,0
Control	5,0
Control	4,0
Control	4,0
Control	5,0
Omeprazol	2,0
Omeprazol	2,0
Omeprazol	2,0
Omeprazol	2,0
Omeprazol	3,0
Omeprazol	2,0
Omeprazol	2,0
Omeprazol	2,0
Sucralfato	2,0
Sucralfato	2,0
Sucralfato	3,0
Sucralfato	3,0

Tratamiento	Lacroix
Sucralfato	3,0
Sucralfato	0,0
Sucralfato	3,0
Sucralfato	3,0
Fenoles 4 mg/kg	2,0
Fenoles 4 mg/kg	2,0
Fenoles 4 mg/kg	3,0
Fenoles 4 mg/kg	3,0
Fenoles 4 mg/kg	3,0
Fenoles 4 mg/kg	2,0
Fenoles 4 mg/kg	2,0
Fenoles 4 mg/kg	2,0
Fenoles 8 mg/kg	2,0
Fenoles 8 mg/kg	1,0
Fenoles 8 mg/kg	1,0
Fenoles 8 mg/kg	0,0
Fenoles 8 mg/kg	1,0
Fenoles 8 mg/kg	1,0
Fenoles 8 mg/kg	2,0
Fenoles 16 mg/kg	1,0
Fenoles 16 mg/kg	1,0
Fenoles 16 mg/kg	1,0
Fenoles 16 mg/kg	2,0
Fenoles 16 mg/kg	1,0
Fenoles 16 mg/kg	1,0
Fenoles 16 mg/kg	0,0
Fenoles 16 mg/kg	1,0

Anexo 7: Porcentaje de inhibición de la ulceración según la escala de Lacroix Ayacucho 2018.

Tratamiento	Puntaje	Promedio	Inhibición (%)
Control	36	4,5	0,0
Omeprazol	17	2,1	52,8
Sucralfato	19	2,4	47,0
Fenoles 4,0 mg/kg	19	2,4	47,0
Fenoles 8,0 mg/kg	9	1,1	75,0
Fenoles 16,0 mg/kg	7	0,9	80,6



Anexo 8: ANOVA de Kruskal- Wallis del índice de ulceración según la escala de Lacroix. Ayacucho 2018.

Estadísticos de Prueba <sup>a,b</sup>		
Hipótesis		Índice ulcerogénico de Lacroix
El índice ulcerogénico es diferente en los grupos experimentales	Chi-cuadrado	43,305
	gl	6
	Sig. asintótica	0,000
a. prueba de Kruskal Wallis		
b. variable de agrupación: tratamiento		

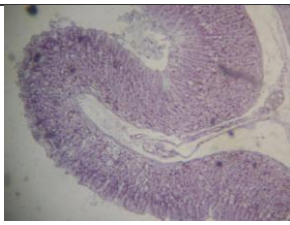
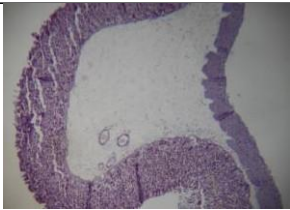
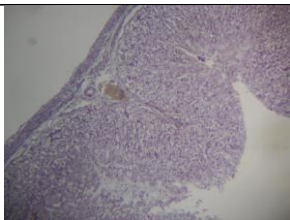
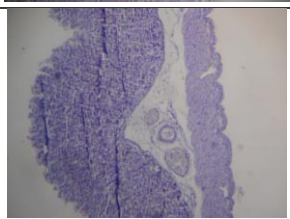
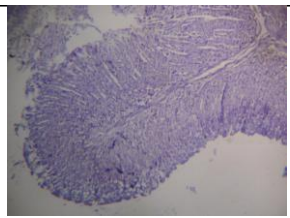
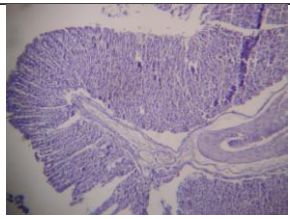
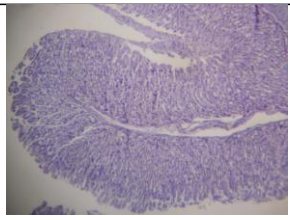
Anexo 9: ANOVA de Mann Whitney comparación de grupos del índice de ulceración según la escala de Lacroix. Ayacucho 2018.

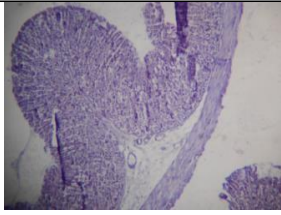
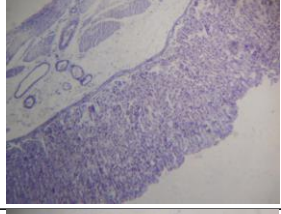
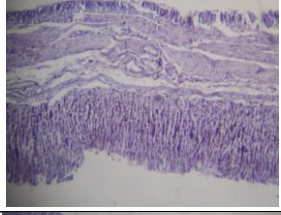
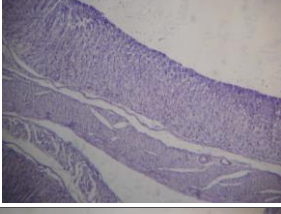
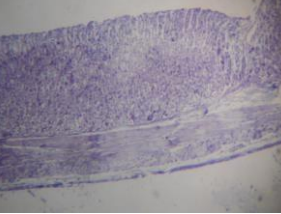
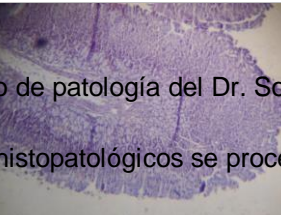
<b>Comparación de grupos</b>	U de Mann-Whitney	Z	Sig. asintótica (bilateral)	Significación exacta [2*(sig. unilateral)]
Control vs extracto 4 mg/kg	,000	-3,475	<b>,001</b>	,000 <sup>b</sup>
Control vs extracto 8 mg/kg	,000	-3,467	<b>,001</b>	,000 <sup>b</sup>
Control vs extracto 16 mg/kg	,000	-3,363	<b>,001</b>	,000 <sup>b</sup>
Blanco vs extracto 4 mg/kg	,000	-3,664	<b>,000</b>	,000 <sup>b</sup>
Blanco vs extracto 8 mg/kg	4,000	-3,303	<b>,001</b>	,002 <sup>b</sup>
Blanco vs extracto 16 mg/kg	4,000	-3,207	<b>,001</b>	,004 <sup>b</sup>
omeprazol vs extracto 4 mg/kg	21,500	-1,356	<b>,175</b>	,279 <sup>b</sup>
omeprazol vs extracto 8 mg/kg	10,500	-2,486	<b>,013</b>	,021 <sup>b</sup>
omeprazol vs extracto 16 mg/kg	6,500	-2,719	<b>,007</b>	,009 <sup>b</sup>
Sucralfato vs extracto 4 mg/kg	26,500	-,648	<b>,517</b>	,574 <sup>b</sup>
Sucralfato vs extracto 8 mg/kg	9,500	-2,457	<b>,014</b>	,015 <sup>b</sup>
Sucralfato vs extracto 16 mg/kg	7,500	-2,719	<b>,013</b>	,014 <sup>b</sup>
Extracto 8mg/kg vs extracto 16mg/kg	25,000	-,416	<b>,677</b>	,779 <sup>b</sup>

a. Variable de agrupación: TRATAMIENTO

b. No corregido para empates.

Anexo 10: Análisis histopatológico de los tejidos estomacales de cobayos, observación de la citoestructura del estómago.

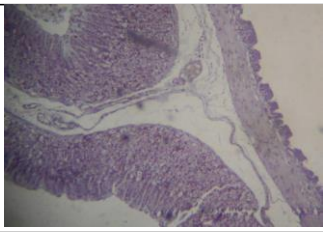
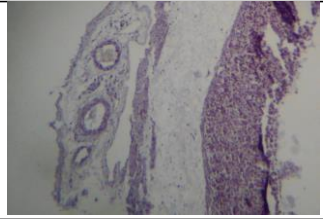
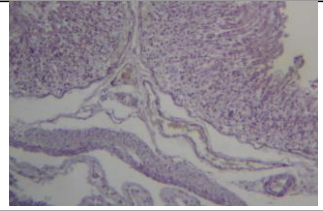
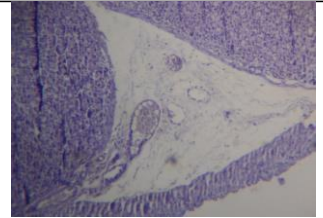
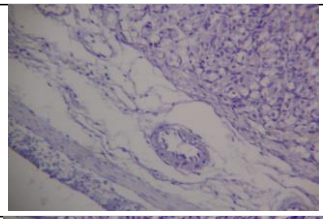
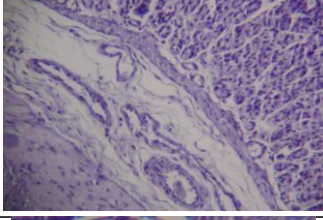
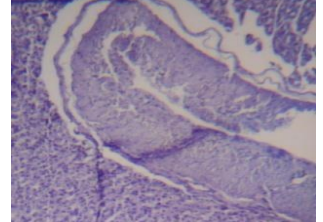
Grupo	Corte	Observación
Blanco		Pared gástrica normal con pliegue estomacal, se observa la mucosa ordenada y la submucosa con arterias normales.
Control		Se evidencia un severo edema al nivel del a submucosa y descamación de la mucosa, hasta llegar a la muscular de la mucosa.
Omeprazol		Descamación de la mucosa, submucosa normal no se evidencia edema.
Sucralfato		Mucosa normal, ligero edema en la submucosa.
4 mg/kg n°1		Ligera descamación de la mucosa, no se evidencia edema.
4 mg/kg n° 2		Descamación de la mucosa, no se evidencia edema.
4 mg/kg n°3		Descamación de la mucosa, no se evidencia edema en ningún lugar.

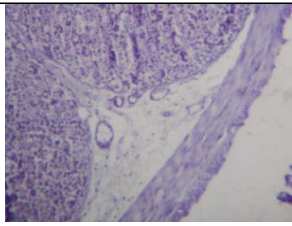
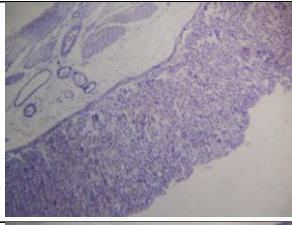
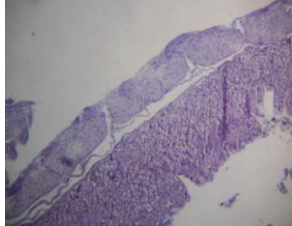
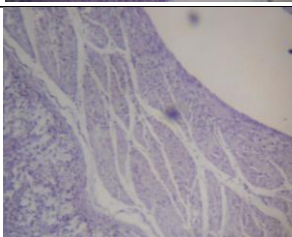
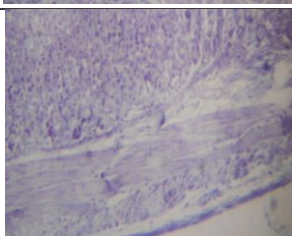

8 mg/kg n°1		Citoarquitectura ordenada y normal ligero edema en la submucosa
8 mg/kg n°2		Citoarquitectura ordenada y normal, ligero edema en la submucosa.
8 mg/kg n°3		Citoarquitectura ordenada y normal, no se evidencia edema.
16 mg/kg n°1		Mucosa ordenada y normal
16 mg/kg n°2		Mucosa ordenada y normal, submucosa normal, músculos normales
16 mg/kg n°3		Mucosa normal sin descamaciones.

Fuente: Laboratorio de patología del Dr. Solís.

Todos los análisis histopatológicos se procesaron con la técnica de hematoxilina – eosina

Aneo 11: Análisis histopatológico de los tejidos estomacales de cobayos, observación de la submucosa.

Grupo	Corte	Observación
Blanco		Submucosa normal
Control		Submucosa edematizada, se percibe restos celulares en esa zona.
Omeprazol		Ligero edema en la submucosa y musculatura del estómago.
Sucralfato		Ligero edema de la submucosa.
4 mg/kg N°1		Ligero edema en la submucosa
4 mg/kg N° 2		Ligero edema en la submucosa
4 mg/kg N°3		Ligero edema en la submucosa

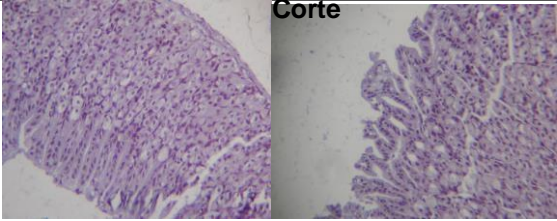
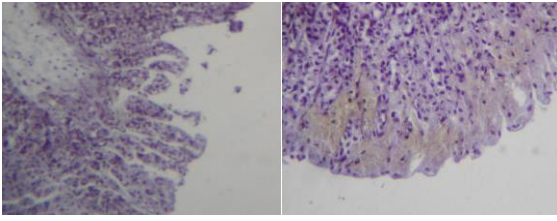
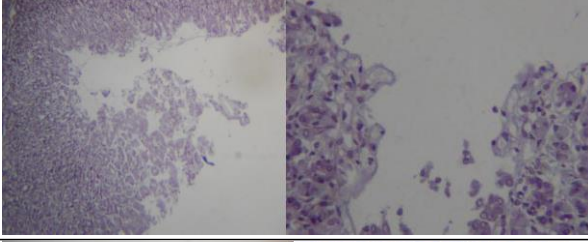
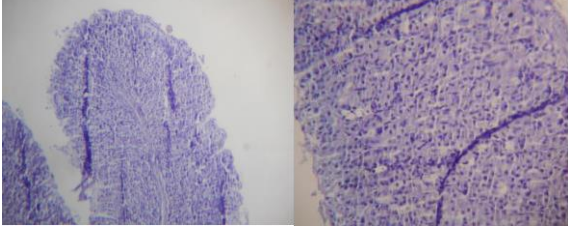
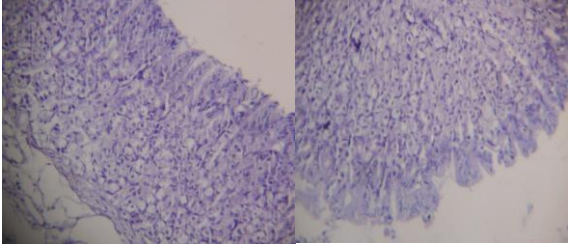
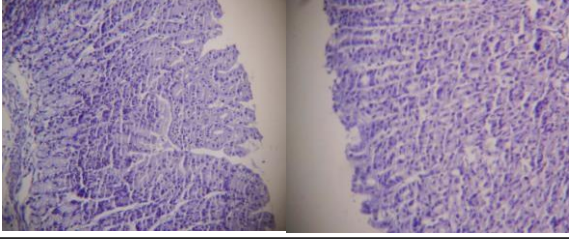
8 mg/kg N°1		Submucosa normal
8 mg/kg N°2		Submucosa normal
8 mg/kg N°3		Submucosa normal
16 mg/kg N°1		Submucosa normal
16 mg/kg N°2		Submucosa normal
16 mg/kg N°3		Submucosa normal

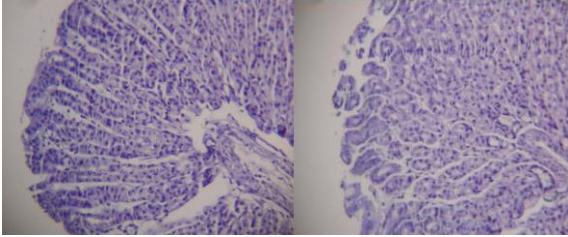
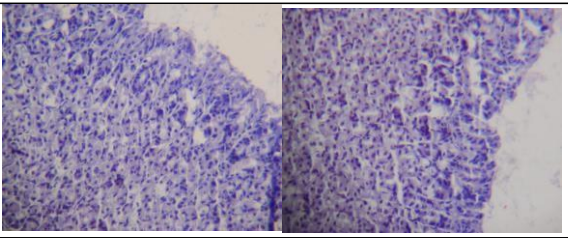
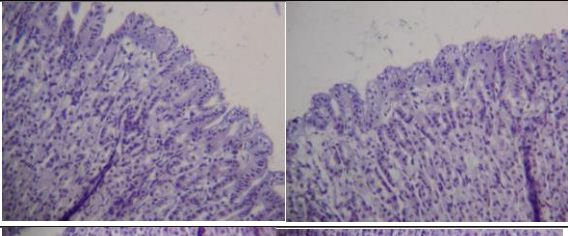
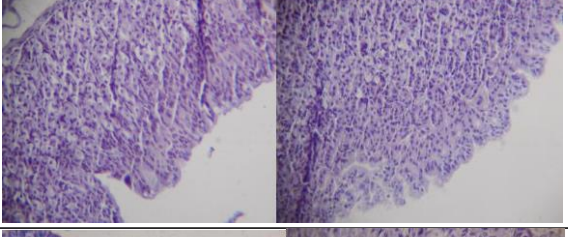
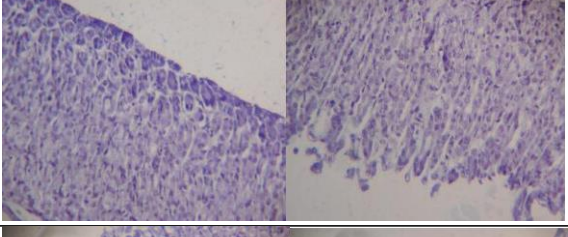
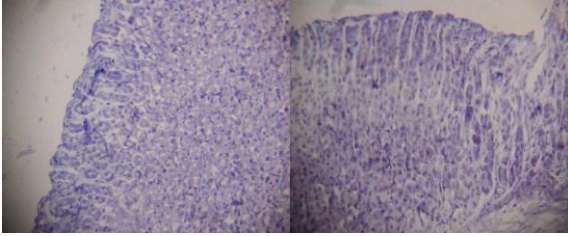
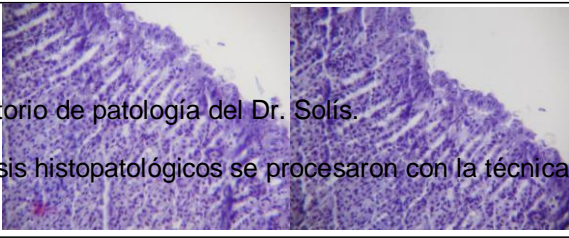
Fuente: Laboratorio de patología del Dr. Solís.

Todos los análisis histopatológicos se procesaron con la técnica de hematoxilina – eosina



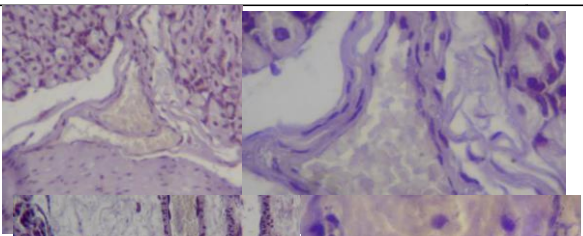
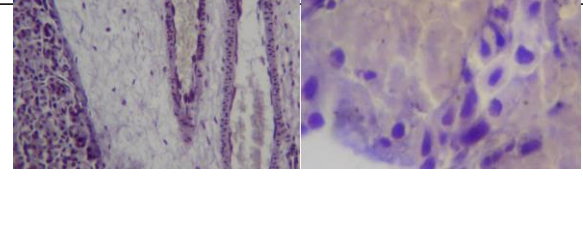
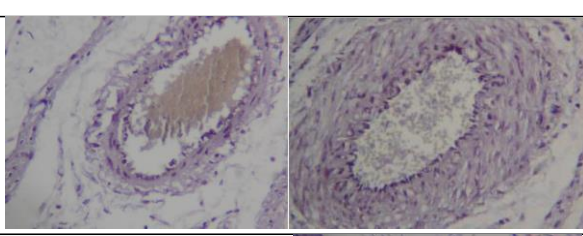
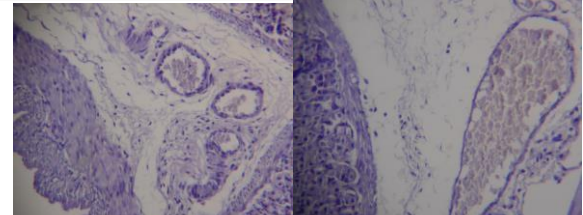
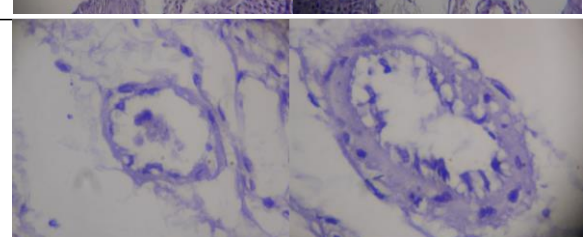
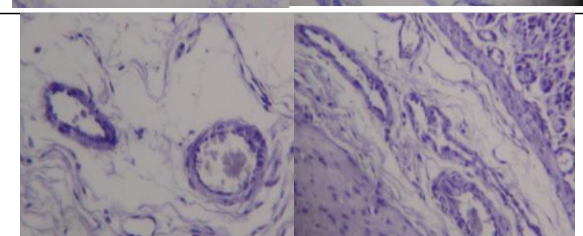

Anexo 12: Análisis histopatológico de los tejidos estomacales de cobayos, observación de la mucosa estomacal.

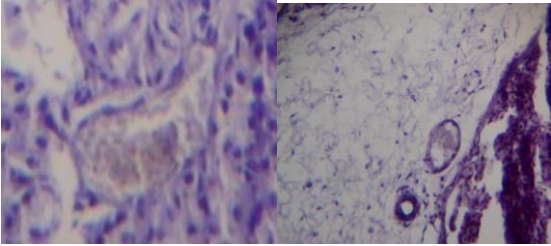
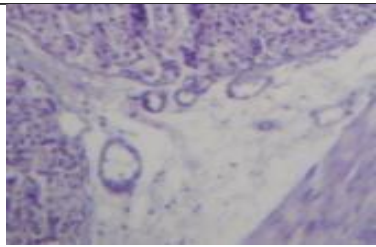

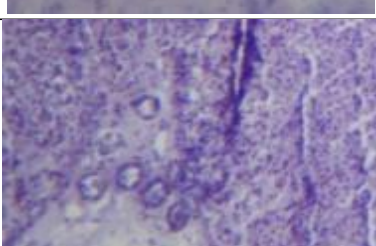
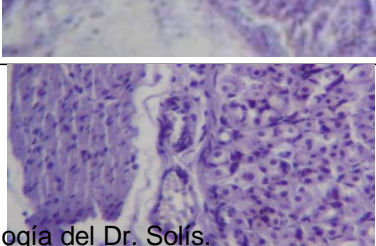
Grupo	Corte	Observación
Blanco		<p>Mucosa estomacal ordenada, se observa células cilíndricas con pliegues compactados.</p>
Control		<p>Mucosa con descamaciones severas que llegan a la capa muscular de la mucosa, se evidencia tinción producto de células sanguíneas destruidas.</p>
Omeprazol		<p>Células cilíndricas desordenadas, descamación de la mucosa que no llega a la musculatura de la mucosa</p>
Sucralfato		<p>Ligera descamación de la mucosa, pero se observa las células cilíndricas ordenadas y compactadas.</p>
4 mg/kg N°1		<p>Ligera descamación de la mucosa células cilíndricas aun ordenadas.</p>
4 mg/kg N° 2		<p>Mucosa con ligera descamación,</p>

4 mg/kg N°3		Ligera descamación de la mucosa.
8 mg/kg N°1		Mucosa con pérdida de moco y ligera descamación
<del>8 mg/kg N°2</del>		<del>Mucosa intacta y células cilíndricas ordenadas.</del>
8 mg/kg N°3		Mucosa normal y células cilíndricas ordenadas y compactadas.
16 mg/kg N°1		Mucosa normal
16 mg/kg N°2		Mucosa normal
16 mg/kg N°3		Mucosa normal
<p>Fuente: Laboratorio de patología del Dr. Solís.</p> <p>Todos los análisis histopatológicos se procesaron con la técnica de hematoxilina - eosina</p>		



Anexo 13: Análisis histopatológico de los tejidos estomacales de cobayos, observación de las arterias en la submucosa.

Grupo	Corte	Observación
Blanco		<p>Vasos sanguíneos normales y llenos de células sanguíneas.</p>
Control		<p>Severa dilatación de los vasos sanguíneos e incluso destrucción de eritrocitos, liberando hemoglobina.</p>
Omeprazol		<p>Dilatación de los vasos sanguíneos</p>
Sucralfato		<p>Ligera dilatación de los vasos sanguíneos.</p>
4 mg/kg N°1		<p>Dilatación de los vasos sanguíneos</p>
4 mg/kg N° 2		<p>Dilatación de los vasos sanguíneos.</p>
		

<p>4 mg/kg N°3</p>		<p>Leve dilatación de los vasos sanguíneos.</p>
<p>8 mg/kg N°1</p>		<p>Vasos sanguíneos ligeramente dilatados</p>
<p>8 mg/kg N°2</p>		<p>Vasos sanguíneos ligeramente dilatados.</p>
<p>16 mg/kg N°1</p>		<p>Vasos sanguíneos normales</p>
<p>16 mg/kg N°2</p>		<p>Vasos sanguíneos normales</p>
<p>Fuente: Laboratorio de patología del Dr. Solís.</p> <p>Todos los análisis histopatológicos se procesaron con la técnica de hematoxilina - eosina.</p>		

Anexo 14: Matriz de consistencia

TÍTULO: Efecto gastroprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote” en *Cavia porcellus* “cobayo”. Ayacucho 2018.

Autor: DAVID LUISIN CAMPOS BERROCAL

Problema	Objetivos	Hipótesis	Marco teórico	Variables	Metodología						
¿Tendrá efecto gastroprotector los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” en <i>Cavia porcellus</i> “cobayo”?	<p><b>General:</b> Evaluar el efecto gastroprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” en <i>Cavia porcellus</i> “cobayo”.</p> <p><b>Específicos:</b> •Caracterizar e identificar los compuestos fenólicos aislados obtenidos de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. •Determinar la dosis con mayor efecto gastroprotector de los compuestos fenólicos obtenidos de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. • Realizar análisis histopatológicos de la citoarquitectura del estómago extirpados.</p>	Los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” tiene efecto gastroprotector en <i>Cavia porcellus</i> “cobayo”.	Antecedentes del estudio Aspectos botánicos de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” Composición química Úlcera péptica Patogenia de la úlcera gástrica Efecto gastroprotector Compuestos fenolicos	<p><b>Independiente:</b> Los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Indicadores: Dosis de 4; 8 y 16 mg/kg</p> <p><b>Dependiente:</b> Efecto gastroprotector Indicadores Índice de Ulceración Gástrica y porcentaje de inhibición de úlcera gástrica.</p>	<p><b>Tipo de investigación</b> Básica – experimental.</p> <p><b>Población</b> Hojas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” que crece en el distrito de Ayna, provincia La Mar a 620 msnm.</p> <p><b>Muestra</b> 4 kg de hojas frescas de <i>Bixa orellana</i> L “achiote”, que se recolecta en el distrito de Ayna, provincia La Mar a 620 msnm.</p> <p><b>Animales de experimentación</b> 56 <i>Cavia porcellus</i> “cobayo” machos adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), adultos entre 400 - 500 g de peso.</p> <p><b>Obtención del extracto hidroalcohólico</b> <b>Pruebas cualitativas</b> <b>Cromatografía en capa fina (CCF)</b> <b>Análisis espectral</b> <b>Diseño experimental</b> El diseño por aplicar será el diseño con posprueba únicamente y grupo de control.</p> <table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>RGn</td> <td>Xn</td> <td>On</td> </tr> <tr> <td>RGc</td> <td>--</td> <td>Oc</td> </tr> </table> <p><b>Evaluación del efecto gastroprotector en <i>Cavia porcellus</i> “cobayos”. Se empleará el modelo experimental descrito por Ramirez F., con algunas modificaciones.</b></p> <p><b>ANÁLISIS DE DATOS</b> Los datos serán procesados utilizando el paquete estadístico SPSS (statistical package for social sciences), versión 24.0, año 2016. Se aplicará el análisis de varianza (ANOVA) y la postprueba subconjuntos homogéneos (HSDTukey). Se considera significativa una p&lt;0,05, con intervalo de confianza al 95%. Se determinará la media y desviación estándar de los valores individuales obtenidos para los animales de cada grupo.</p>	RGn	Xn	On	RGc	--	Oc
RGn	Xn	On									
RGc	--	Oc									