

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN

CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y

BIOQUÍMICA



Actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la
raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara"

Ayacucho – 2010

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. ALEX RUMER, AYALA TINEO

AYACUCHO – PERÚ

2011

DEDICATORIA

*A mis Padres: Dionisio y Victoria
por darme la vida, amor, enseñanzas
y sobre todo por su abnegado apoyo
para lograr mis metas.*

*A mis adorados hermanos:
Arturo, Josiel y Carlos
por su cariño y apoyo.*

*A Luz Pilar, por darme
Tu tiempo y ser mi inspiración.*

AGRADECIMIENTO

Un especial agradecimiento a mi *alma mater* la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por ser la casa de la sabiduría y esperanza de la región.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, en especial a la Escuela Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, que permitieron formarme profesionalmente día a día.

A los docentes de la E.F.P. De Farmacia y Bioquímica, Mg. Q.F. Edwin C. Enciso Roca; Q. F. José M. Diez Macavilca; Mg. Q.F. Enrique Aguilar Felices; Q.F. Edgar Cárdenas Landeo; Mg. Q.F. Marco R. Arones Jara.

Un agradecimiento especial a la Q.F: Magali J. Vicente Sánchez. y a todas las personas por su apoyo en la realización de este trabajo de investigación.

A todos mis familiares, amigos y amigas en especial a Luis y Edwin por enseñarme el valor de la verdadera amistad, la confianza y el apoyo.

ÍNDICE

RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Antecedentes	3
2.2 Aspectos botánicos	4
2.3 Aspectos farmacológicos y químico	5
2.4 Ulcera	6
2.5 Drogas antiulcerosas	7
III. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1 Ubicación	12
3.2 Materiales	12
3.3 Métodos	13
3.4 Diseño experimental	20
3.5 Análisis estadístico	20
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	28
VI. CONCLUSIONES	34
VII. RECOMENDACIONES	35
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	38

Actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara” Ayacucho - 2010

AUTOR : Bach. Alex Rumer, AYALA TINEO.

ASESORES : Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA.

: Mg. Q.F. Edwin Carlos ENCISO ROCA.

RESUMEN

En la presente investigación se determinó la actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara” en cobayos mediante el método de Lee, que se basa en la producción de úlcera gástrica aguda inducida por etanol absoluto, en los laboratorios del Área Académica de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de junio a noviembre del 2010; se utilizaron cobayos machos de 550 a 650 g y como tratamiento, concentraciones de 100 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg del extracto hidroalcohólico, agua destilada como control y ranitidina 50 mg como patrón.

El tamizaje fitoquímico reportó la presencia de: taninos y fenoles, flavonoides, saponinas; triterpenos y esteroides; azúcares y glicósidos.

Según la escala de Marhuenda se encontró mayor protección a 250 mg/Kg y 500 mg/Kg respectivamente. En cuanto al estudio del contenido gástrico, el extracto a dosis 500 mg/kg mostró mejores resultados con pH 4,7805, volumen 0,62 mL y peso 0,6 mg respectivamente.

En conclusión, la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”, llegó a proteger la mucosa frente al daño inducido por etanol absoluto.

Palabras clave. *Hypseocharis bilobata* Killip, Actividad antiulcerosa

I. INTRODUCCIÓN

Hypseocharis bilobata Killip "pacha tara", de la familia Oxalidaceae, es una planta herbácea, acaule, que crece a ras del suelo entre los 3,500 a 3,800 msnm, cuya raíz principal es abultada, por lo general de forma cónica y de consistencia fibrosa: 70% en volumen y 75% en peso promedio del total de la planta. Es empleada por los pobladores altoandinos, para la cura de úlceras estomacales, para la tos, como antiespasmódico y para la cicatrización de heridas cortantes (Romero, 1994).

No obstante su amplio uso en la medicina tradicional, se han realizado pocos estudios tendientes a comprobar las actividades farmacológicas atribuidas, y en consecuencia, que orienten a una adecuada utilización con fines terapéuticos. El estudio realizado por (Romero, 1994). Refiere propiedades antiespasmódicas y citoprotectoras.

En nuestro país el uso de plantas medicinales con atributos antiulcerosos es muy difundido, y por ello se ha llevado a cabo diferentes estudios sobre su acción farmacológica; como ejemplo tenemos a la *Baccharis genistelloides* "kimsa

cuchus” (Castro, 2002), *Bixa orellana* “achiote” (Huamán y col., 2009), y entre otros.

La úlcera péptica o úlcera gástrica es un deterioro necrótico de la mucosa digestiva que se extiende más allá de la mucosa muscular, el cual es causado por la secreción del efecto del ácido y la pepsina sobre las células epiteliales de la mucosa. Clásicamente ésta se encuentra al nivel del estómago o a nivel de duodeno (Martín, 2007).

El cráter de la úlcera con frecuencia está rodeado por una porción de mucosa inflamada pero íntegra, lo cual sugiere que la gastritis constituye una lesión predisponente para el desarrollo de la úlcera gástrica (Huamán y col, 2009).

Por lo expuesto anteriormente y rescatando la información tradicional de las plantas medicinales, con el fin de hacer posible su integración a la medicina científica, que se tiene en Ayacucho, se realizó la investigación de la especie *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”, como agente antiulceroso usando el extracto en concentraciones de; 100 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg. Los objetivos del presente trabajo fueron:

Objetivo General:

- Evaluar la actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”

Objetivos Específicos:

- Realizar el Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”
- Determinar la dosis del *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara” que muestra una mejor actividad antiulcerosa.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

Las plantas medicinales constituyen una estrategia alternativa en la búsqueda de agentes terapéuticos nuevos. Tanto la búsqueda bibliográfica y la información popular sirven de base para la indicación de la actividad farmacológica (Lapa, 2001).

Hoy en día la ciencia moderna, estudiando los efectos terapéuticos de las plantas medicinales, está precisando, comparando y clasificando las diversas propiedades, para el tratamiento de las enfermedades que afectan a la población (Arango, 2006).

Actualmente existen muchos fármacos para el tratamiento de la úlcera péptica, como son los antiácidos, los antisecretores y los citoprotectores. Sin embargo, este padecimiento sigue teniendo un alto índice de morbilidad y mortalidad (López, 2005).

Lo que indica que las herramientas terapéuticas con las que se cuenta en la actualidad no constituyen una garantía de solución del cuadro patológico en

todos los casos, lo que justifica el que se busquen nuevas alternativas terapéuticas (Arango, 2006).

Dentro de los antecedentes de trabajo, en la determinación del efecto antiulceroso de la planta medicinal aplicado a los cobayos podemos señalar aspectos cercanos del *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara” que se realizaron en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

En la ciudad de Ayacucho, en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga se realizó el estudio botánico, fenológico, fitoquímico y farmacológico de la *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara” (Romero, 1994).

Es empleada y difundida de manera popular con mayor frecuencia en las zonas andinas, se utiliza como inhibidor de la producción de la úlcera gástrica en la mucosa estomacal (De la Cruz y col., 2007).

En la Facultad de Ciencias Biológicas se realizó la evaluación de la actividad citoprotectora gástrica de *Baccharis genistelloides* “kimsa kuchu” en dicho trabajo se evaluaron parámetros como pH por el método volumétrico, proteínas totales, volumen y peso del moco (Castro, 2002).

La Facultad de Medicina de la UNMSM evaluó el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa Orellana* “achiote” en animales de experimentación, inducidos con etanol 96% en dicho trabajo se realizaron con la Escala de Maruenda llegando a la conclusión que dicho extracto producía una protección gástrica (Huamán y col., 2007).

2.2 ASPECTOS BOTÁNICOS DE *Hypseocharis bilobata* Killip. “pacha tara”

2.2.1 CLASIFICACIÓN SISTEMÁTICA:

La determinación botánica se realizó según el sistema de clasificación de Engler y Prantl, modificado por Melchor en 1904.

Clasificación sistemática de la especie:

- ❖ División : Antophyta (Angiospermae)
- ❖ Clase : Dicotiledoneae
- ❖ Sub Clase : Archyclamideas
- ❖ Orden : Geraniales
- ❖ Familia : Oxalidaceae
- ❖ Género : *Hypseocharis*
- ❖ Especie : *Hypseocharis bilobata* Killip.
- ❖ Nombre vulgar : “pacha tara”

Fuente: certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* (2010). (ANEXO 9).

2.2.2 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

Hábito y forma de vida: Planta herbácea perenne, arrosetada, de raíz pivotante desarrollada, bulbosa; hojas basales numerosas compuestas, glabras de color verde intenso; flores blancas solitarias y vistosas. Crece al ras del suelo de 6 a 20 cm de alto. (De la Cruz y col., 2007).

Área de origen: Planta nativa de las zonas alto andinas.

2.3 ASPECTOS FARMACOLÓGICOS Y QUÍMICOS DE *Hypseocharis bilobata* Killip

2.3.1 COMPUESTOS QUÍMICOS DE *Hypseocharis bilobata* Killip

Los compuestos químicos reportados de la *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”, en el estudio, son los siguientes:

Flavonoides, compuestos fenólicos y taninos, azúcares reductores, triterpenos y esteroides, saponinas y glicósidos cardiotónicos (Romero, 1994). No se reportan elucidación estructural de alguno de sus metabolitos.

2.3.2 PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS DE *Hypseocharis bilobata* Killip

En la ciudad de Ayacucho en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga se realizó el estudio botánico, fenológico, fitoquímico y farmacológico de la “pacha tara”, dándose como resultado del estudio farmacológico el efecto antiespasmódico en ileón aislado de ratas además de un ligero efecto citoprotector (Romero, 1994).

2.3.3 USOS, PREPARACIÓN EN LA MEDICINA TRADICIONAL PERUANA

Muy estimada para curar dolores de estómago, para lo cual se toma en infusión de la raíz; también se usa para la cicatrización de heridas cortantes y para el alivio de las úlceras y gastritis (De la Cruz y col., 2007).

2.4 ÚLCERA

La fisiopatología de la enfermedad por ácido péptico puede considerarse como un desequilibrio entre los factores agresivos (ácido, pepsina, *Helicobacter pylori*)

y las defensas locales de la mucosa constituidas por la secreción de bicarbonato, moco y prostaglandinas.

Entre los tipos de úlcera tenemos: úlcera péptica (úlcera gástrica y duodenal). Cuando esta lesión se localiza en el estómago se denomina úlcera gástrica y cuando lo hace en la primera porción del intestino delgado se llama úlcera duodenal (Goodman y Gilman, 1996).

2.5 DROGAS ANTIULCEROSAS

2.5.1 Drogas bloqueantes histamínicas H2

Compiten por la histamina de forma reversible y muy selectiva a nivel del receptor H2. Consiste en inhibir la secreción ácida a nivel gástrico, siendo muy escasas sus acciones en otros territorios. La potencia antisecretoria varía bastante con los diferentes antagonistas H2, pero todos inhiben la secreción ácida basal, la estimulada por secretagogos (Gastrina, colinomiméticos, Histamina) e inducida por estímulos fisiológicos como los alimentos, la distensión gástrica etc. No afecta la concentración de pepsina en la secreción gástrica, pero al reducir el volumen total de jugo gástrico, la secreción absoluta de pepsinógeno está disminuida y su activación reducida por el aumento en el pH intragástrico (Velázquez, 1992).

Los receptores H2 se localizan principalmente en la membrana de las células parietales de la mucosa gástrica, en células musculares lisas de los vasos, en células miocárdicas y del nódulo sinusal, en el SNC, en diversos leucocitos y en los propios mastocitos y basófilos en donde se comportan como autorreceptores (Durán y Gonzalo, 1995).

Ranitidina

Descripción:

Ranitidina es un antagonista de los receptores H₂ de la histamina, se caracteriza por presentar un anillo furano, lo cual sugiere que la presencia de este anillo es indispensable para que la histamina y los antagonistas H₂ interactúen y compitan por el mismo receptor. La ranitidina muestra un efecto cicatrizante sobre la mucosa gastrointestinal, protegiéndola de la acción irritante del ácido acetilsalicílico y de otros fármacos anti-inflamatorios no esteroideos. (Ruza y García, 2003).

Mecanismo de acción:

Es un análogo de la histamina y actúa selectiva y competitivamente bloqueando a los receptores de la histamina H₂ a nivel de la membrana basolateral de las células secretoras parietales del estómago. Este bloqueo inhibe una cascada de reacciones incluyendo la activación de la adenilciclase, que disminuye las concentraciones de AMPc. El AMPc a nivel de la célula parietal es esencial para el adecuado funcionamiento de la bomba ATPasa de hidrógeno y potasio, y por tanto, la secreción ácida (Ruza y García, 2003).

Farmacocinética:

La ranitidina se puede administrar por vía oral o parenteral. La administración intramuscular muestra una biodisponibilidad del 90-100% en comparación con la misma dosis intravenosa, mientras que por vía oral, la biodisponibilidad es del 50-60% debido a que el fármaco experimenta un metabolismo de primer paso. La absorción digestiva de la ranitidina no es afectada por los alimentos.

El fármaco se distribuye ampliamente en el organismo, encontrándose niveles significativos del mismo en el líquido cefalorraquídeo y en la leche materna. Los efectos inhibidores sobre la secreción gástrica de ácido duran entre 8 y 12 horas. La ranitidina se metaboliza parcialmente en el hígado y se excreta a través de la orina y en las heces, parte en forma de metabolitos, parte en forma de fármaco sin alterar. Después de una dosis intravenosa, aproximadamente el 70% de la dosis se excreta en la orina sin alterar. La semivida del fármaco es de 2 a 3 horas, aumentando hasta las 5 horas en los pacientes con insuficiencia renal (aclaramiento de creatinina < 35 ml). La secreción renal de la ranitidina se lleva a cabo por secreción tubular y por filtración glomerular.

2.5.2 Inhibidores de la Bomba de Protones (IBP)

Los IBP inhiben la secreción del ácido gástrico al bloquear irreversiblemente la H, K ATPasa de las células parietales, resultando en un profundo y largo efecto antisecretor independiente del estímulo desencadenante de la producción ácida, y sin consecuencias en cuanto al volumen total del jugo gástrico, la secreción de pepsina encuentra el factor intrínseco. Tampoco modifican la motilidad gastrointestinal. Entre ellos se encuentran omeprazol, lansoprazol, esomeprazol, pantoprazol y rabeprazol (Bravo y Marhuenda, 2005).

2.5.3 Antiácidos

Su actuación se basa en neutralizar el ácido y elevar el pH gástrico, reduciendo el efecto lesivo. La pepsina, dependiente del pH.

Están compuestos por hidróxido de aluminio y magnesio y, menos frecuente, por bicarbonato de sodio o carbonato de calcio, reaccionan con el HCl para formar cloruros, agua y dióxido de carbono, neutralizando de esta manera al ácido. Los

cambios en el pH pueden desencadenar ciertas interacciones de carácter menor, ya que raramente la reducción en la absorción del fármaco alcanza el 20%.

Su utilidad se limita a cuadros en lo que predominen síntomas relacionados con una hiper secreción acida y/o reflujo gastroesofágico y, en concreto, episodios leves y poco frecuentes de pirosis. Proporcionan alivio inmediato en los síntomas, pero sus efectos son pocos persistentes.

En pacientes con insuficiencia renal pueden producirse intoxicaciones por magnesio y aluminio. Las sales de aluminio pueden ocasionar depleción de fosfatos, desarrollándose un síndrome similar a osteomalacia (Bravo y Marhuenda, 2005).

2.5.4 Protectores de la mucosa

Actualmente se dispone de sucralfato y dosmalfato. El primero es una sal de aluminio sulfatada, un derivado glúcido. Su polimerización en el estómago genera una sustancia altamente viscosa cargada negativamente con capacidad de unirse a los restos catiónicos, localizándose sobre la superficie ulcerada. De este modo, se cubre y protege del ataque ácido -péptico. Dosmalfato es un fármaco con una estructura compleja de tipo eterósido: sales de aluminio sulfatadas y unido a una molécula de naturaleza flavónico, la diosmina. Su mecanismo, además de la capacidad polimerizado anteriormente descrita, se amplía con una actividad estimulante de la síntesis de prostaglandinas en la mucosa y con la acción antioxidante que proporciona el resto flavónico.

La utilidad de ambas moléculas se dirige al tratamiento de las lesiones pépticas en general, pero especialmente en las inducidas por AINE.

Los efectos secundarios no son graves ni frecuentes: estreñimiento molestias abdominales o flatulencia que se evite siguiendo un régimen alimenticio con alto contenido de fibra y elevada ingestión de alimentos (Bravo y Marhuenda, 2005).

2.5.5 Prostaglandinas

Actúan sobre los receptores prostaglandínicos de las células parietales gástricas, bloqueando la secreción ácida inducida por cualquier estímulo bioquímico.

Se utilizan mayoritariamente en la prevención de úlceras por AINE, teniendo acción protectora a dosis bajas y acción antiulcerosa a dosis altas (Bravo, 2005).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Farmacognosia, Toxicología y Farmacología, del Área Académica de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de junio a noviembre del 2010.

3.2 MATERIALES

3.2.1 POBLACIÓN

Raíces de la plantas de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara” que fueron recolectadas en el poblado de Mayupampa, distrito de Chiara, departamento de Ayacucho, ubicado a 3500 m.s.n.m.

3.2.2 MUESTRA

Se recolectó 1200 g de raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara” muestreadas aleatoriamente en horas de la mañana (10:00 am). Se

seleccionaron las plantas que no estaban dañadas ni maltratadas una vez recolectadas fueron limpiadas, secadas y guardadas en bolsas de tela de color oscuro, siendo trasladadas a los laboratorios del área académica de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH en la ciudad de Ayacucho, una parte fue enviada para su identificación botánica al Herbarium Huamangensis del laboratorio de botánica de la UNSCH.

3.2.3 MATERIAL BIOLÓGICO

30 cobayos de 550-650 g machos, que fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) – Ayacucho. Y transportados a los Laboratorios del área académica de Farmacia y Bioquímica de la UNSCH y tuvieron un tiempo de adaptación de 7 días, a una temperatura de ambiente con dieta balanceada y agua *ad libitum*.

3.3 MÉTODOS

3.3.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA RAÍZ DE *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”

La muestra seca y molida fue macerada en frascos de color ámbar por una semana aproximadamente en alcohol 70°; éste cubrió a la muestra por 1 cm de diferencia. Durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el solvente se distribuya homogéneamente en la muestra.

3.3.2 PREPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA RAÍZ DE *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”

La extracción hidroalcohólica fue realizada por maceración luego filtrada.

El filtrado se concentró a presión reducida hasta la eliminación del solvente, en el rotavapor, obteniéndose el extracto seco. En seguida se prepararon concentraciones de: 100 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg. De la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara".

3.3.3 PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR EL TAMIZAJE FITOQUÍMICO (Miranda y Cuellar, 2000)

Ensayo de Dragendorff: Permite reconocer la presencia de alcaloides, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realizó el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia(+), turbidez definida(++), precipitado coposo(+++).

Ensayo de Mayer: Proceda de la forma escrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Luego se añade una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 o 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa opalescencia(+), turbidez definida(++), precipitado coposo(+++).

Ensayo de Baljet: Permite reconocer presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, al extracto se le añade 1 mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente.

Ensayo de Borntrager: Permite conocer la presencia de quinonas, redissolver el extracto en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de NaOH al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su posterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo: coloración rosada(++), coloración roja(+++).

Ensayo de Lieberman- Burchard: Permite reconocer la presencia de triterpenos y/o esteroides, redissolver el extracto en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

1. Rosado- azul muy rápido.
2. Verde intenso- visible aunque rápido.
3. Verde oscuro- negro-final de la reacción.

Ensayo de catequinas: Permite reconocer la presencia catequinas. Para ello, tome de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel de filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelina a la luz UV, indica un ensayo positivo.

Ensayo de resinas: Para detectar este tipo de compuestos, se adicionó 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indicó un ensayo positivo.

Ensayo de Fehling: Permite reconocer la presencia de azúcares reductores. Para ello, se redissuelve en 1 - 2 mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño maría 5 – 10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.

Ensayo de la espuma: Permite reconocer la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpénica. El extracto se diluye 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5 – 10 minutos.

Un ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2mm de altura y persiste por más de 2 minutos.

Ensayo del cloruro férrico: Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos. Si el extracto se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto se le adiciona 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. Un ensayo positivo puede dar la siguiente información general.

Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.

Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.

Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

Ensayo de la ninhidrina: Permite reconocer la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua, se mezcla con 2 mL de solución al 2% de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5-10 minutos en baño maría. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla una coloración azul violácea.

Ensayo de Shinoda: Permite reconocer la presencia de flavonoides. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.

El ensayo se considera positivo, cuando al alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos.

Ensayo de Kedde: Permite reconocer la presencia de glicósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto en etanol se mezcla con 1 mL del reactivo y se deja reposar durante 5 – 10 minutos. Un ensayo positivo es en el que se desarrolla una coloración violácea, persistente durante 1-2 horas.

Ensayo de antocianidinas: Permite reconocer la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calientan 2 mL del extracto etanólico 10 min. Con 1 mL de HCl conc. Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo (Miranda y Cuellar, 2000).

3.3.4 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIULCEROSA (Cytel, 1995)

Fundamento: El etanol absoluto al igual que otros agentes irritantes potentes como ácidos fuertes (HCl), bases fuertes (NaOH), soluciones hipertónicas (NaCl 25%), agua hirviendo, etc. Produce lesiones necrosantes en la mucosa gástrica, como consecuencia de su efecto tóxico directo

Estos productos individualmente reducen la secreción de bicarbonato y la producción de moco, alterando su composición glicoprotéica. Así mismo, disminuyen la gradiente de pH a través de la capa mucosa y desestabilizan las membranas lisosomales de las células glandulares, promoviendo su rotura y dando lugar, en consecuencia, a la liberación de hidrolasas ácidas, que por diversos mecanismos producen la lesión hística.

Esta acción citoprotectora tiene lugar a través de diferentes vías, a dosis no antsecretoras, por lo que es independiente de la acción que puedan tener sobre la secreción clorhidrogénica.

La administración de una sola dosis de etanol absoluto produce, si el vaciado del estomago del animal es completo, una serie de lesiones que ocupan en 30 a 40 % de la superficie total de la mucosa, con bandas hemorrágicas necróticas fundamentalmente localizadas en la zona del corpus del estomago. Este método es prácticamente reproducible en el 100% de los casos.

Método: El método que se usó fue propuesto por Lee, que se basa en el fundamento de úlcera gástrica aguda inducida por etanol absoluto.

Test de Ulceración: Es la medida del número de úlceras, hemorragias, líneas e inflamaciones, inducida con etanol absoluto al cobayo.

Procedimiento

- Los animales se mantuvieron en ayunas durante 24 horas, antes de comenzar con la experiencia dejándolos únicamente con agua *ad libitum*.
- Los productos (agua, ranitidina y los extractos) fueron administrados vía oral.
- Transcurrida ½ hora se administró el agente necrosante (Etanol 96°). En una proporción de 1 mL/100 g de peso de animal.
- Trascurrido 1 hora, de la administración del etanol, los animales fueron sacrificados por desnucamiento.
- Inmediatamente se les efectuó laparotomía en el tercio medio de la línea abdominal extrayéndose el estómago que es abierto por la curvatura mayor.
- En seguida se lavó cuidadosamente con una corriente suave de agua.
- Acto seguido se extendió los estómagos sobre una tabla de tecnopor mediante alfileres.

Finalmente se observa las úlceras formadas y se procedió a su valoración.

Los datos obtenidos fueron sometidos mediante la escala de Marhuenda:

- 0: sin lesión.

- 1: úlceras hemorrágicas, líneas dispersas y en longitud menor de 2 mm.
- 2: una úlcera hemorrágica, línea de longitud menor a 2 mm.
- 3: más de una úlcera de grado dos.
- 4: una úlcera de longitud menor de 5 mm y diámetro menor de 2 mm.
- 5: de una a tres úlceras de grado cuatro.
- 6: de cuatro a cinco úlceras de grado cuatro.
- 7: más de seis úlceras de grado cuatro.
- 8: lesiones generalizadas de la mucosa con hemorragia. .

Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración del lote control, según la siguiente expresión:

$$\% \text{ inhibición} = (IU_C - IU_P / IU_C) \times 100$$

Donde:

IU_C = índice de ulceración medio del lote control.

IU_P = índice de ulceración medio del lote problema o patrón.

3.3.5 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS A EVALUAR

a). pH. (Método pH-metro)

b). Volumen y peso del moco

Una vez lavado los estómagos, el moco gástrico se recogió mediante suave raspado de la superficie mucosa con una fina espátula e inmediatamente se

determino el pH, luego es homogenizado en 4 ml de agua destilada. El peso del raspado (g) se obtiene por diferencia entre el peso de los 4 ml antes y después de depositar el moco.

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño empleado fue aleatorio con cinco tratamientos y cinco repeticiones para cada tratamiento de la siguiente forma.

- Lote 1 (lote control): tratado únicamente con el vehículo, agua destilada.
- Lote 2 (lote patrón): tratado con el fármaco patrón, ranitidina 100 mg/kg de peso.
- Lote 3 (lote problema 1): tratado con extracto a una dosis de 100 mg/Kg.
- Lote 4 (lote problema 2): tratado con extracto a una dosis de 250 mg/Kg.
- Lote 5 (lote problema 3): tratado con extracto a una dosis de 500 mg/Kg.

3.5 ANÁLISIS DE DATOS

Con los datos obtenidos en la evaluación de: % de inhibición, pH, volumen y peso de moco y el contenido gástrico, se calculó la media +/- desviación estándar y se representó en gráficos de barra de error, donde se expresa la concentración de muestra versus el % de inhibición de la formación de úlceras.

Los resultados fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA); para el estudio se utilizó un $p < 0,01$ y/o $p < 0,05$, para lo cual se usó el software SPSS, versión 15,0. La comparación entre varios lotes se realizó mediante la prueba multidimensional de Duncan.

IV. RESULTADOS

Cuadro N° 01: Metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”. Ayacucho - 2010.

TIPO DE ENSAYO	TIPO DE METABOLITO SECUNDARIO	EHRHb
Catequinas	Catequinas	-
Shinoda	Flavonoides	+++
FeCl ₃	Comp. Fenólicos, Taninos	+++
Ninhidrina	Aminoácidos	-
Benedict	Azúcares Reductores	+++
Lieberman - Burchard	Triterpenos y esteróides	+++
Bortrager	Quinonas	-
Baljet	Lactonas y Cumarinas	+
Espuma	Saponinas	+++
Resinas	Resinas	-
Mayer	Alcaloides	-
Kedde	Glicósidos Cardiotónicos	+++

Leyenda:

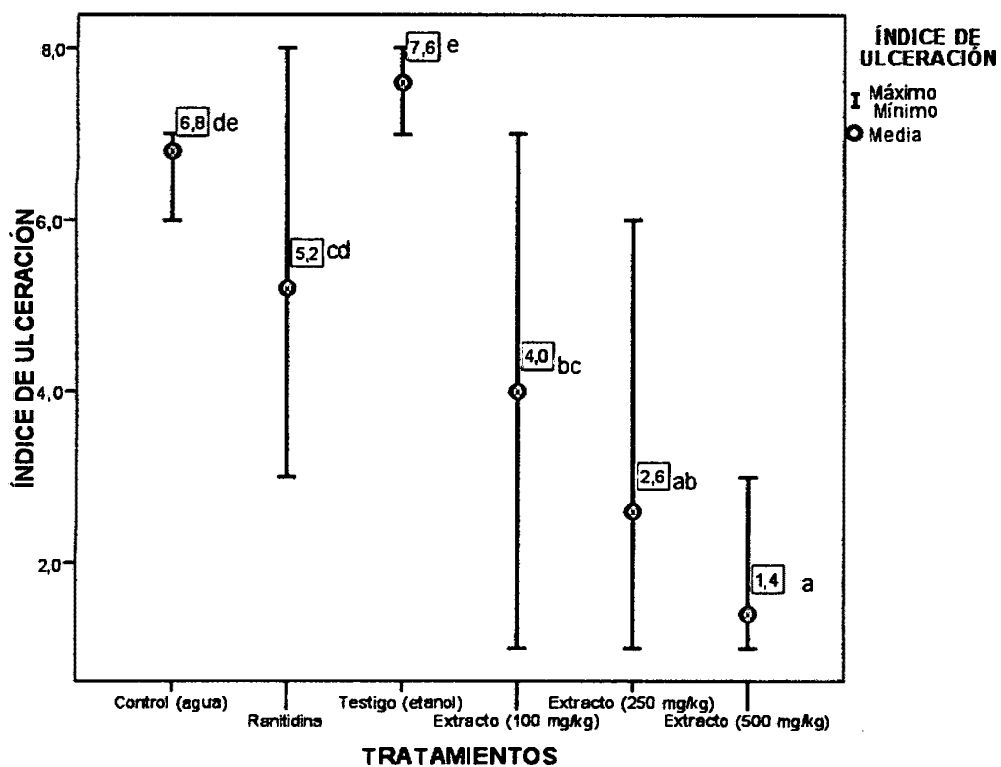
EHRHb Extracto Hidroalcohólico de la Raíz de *Hypseocharis bilobata*

+++ Abundante

++ Moderado

+ Leve

- Ausente



a, b, c, d, e: rangos asignados por el test de Duncan ($\alpha=0,05$)

Gráfico 1.- Valor promedio del índice de ulceración gástrica en cobayos, según la escala de Marhuenda, en la Actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara". Ayacucho –2010.

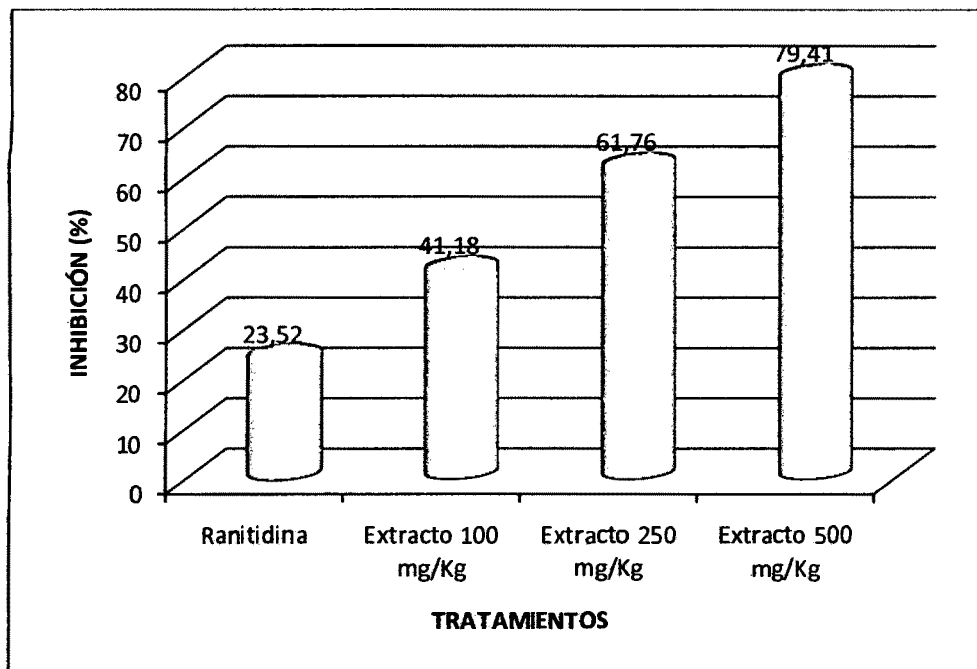
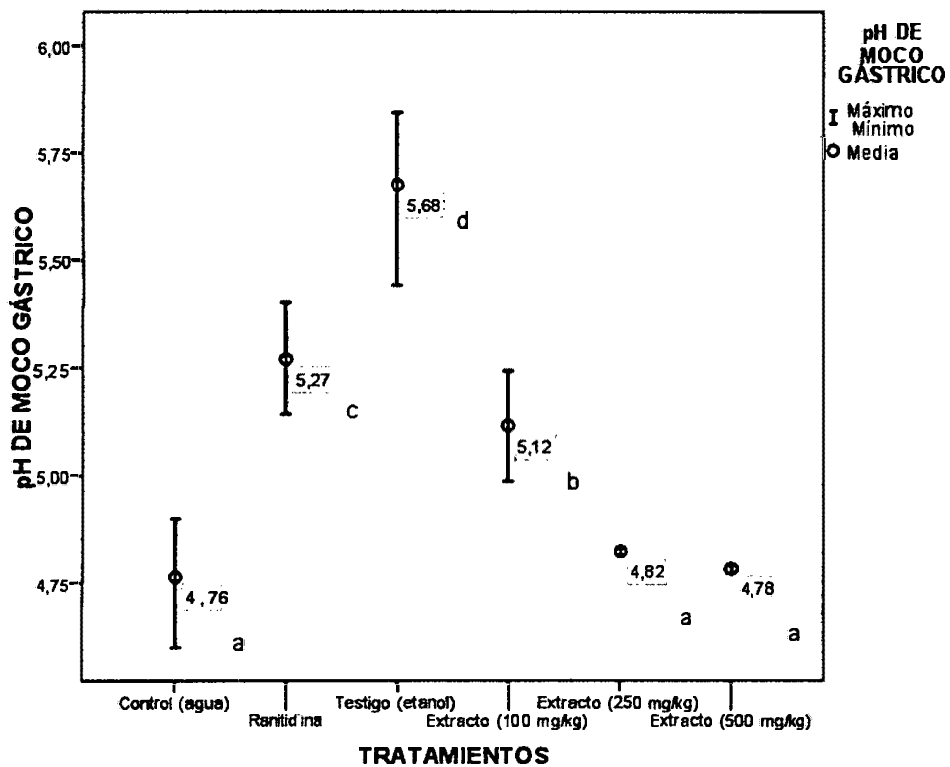
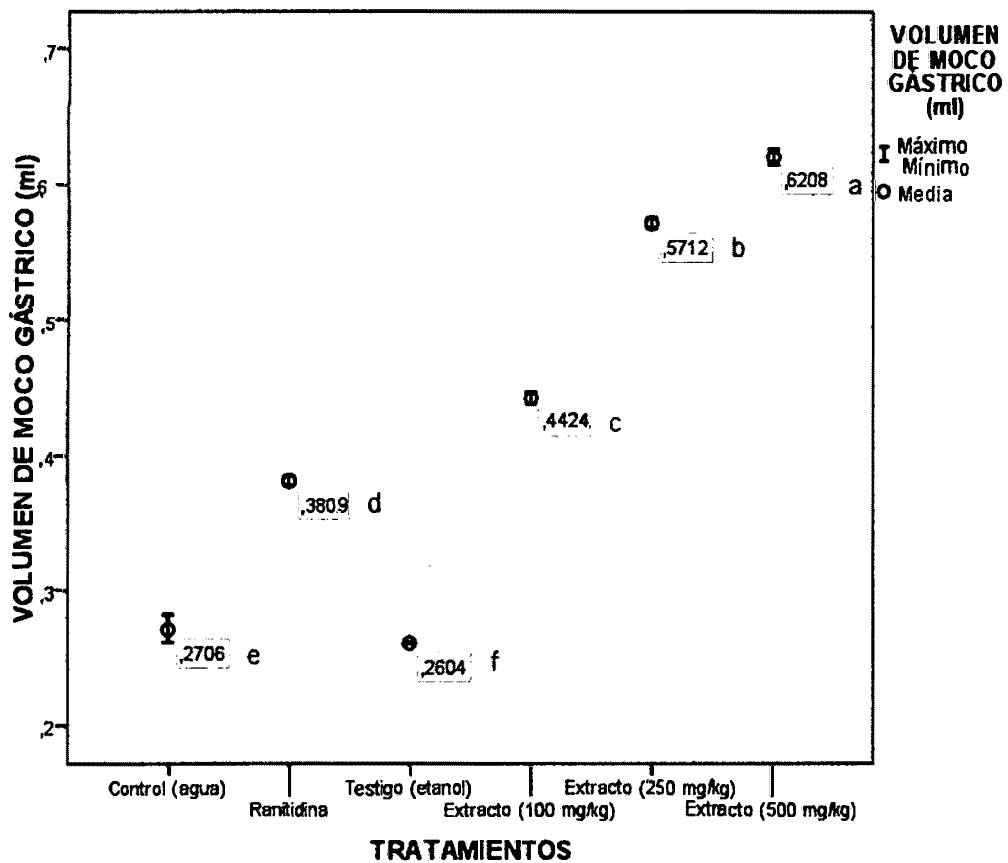


Grafico Nº 2: Porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración de tres concentraciones de la raíz del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara” y ranitidina. Ayacucho – 2010.



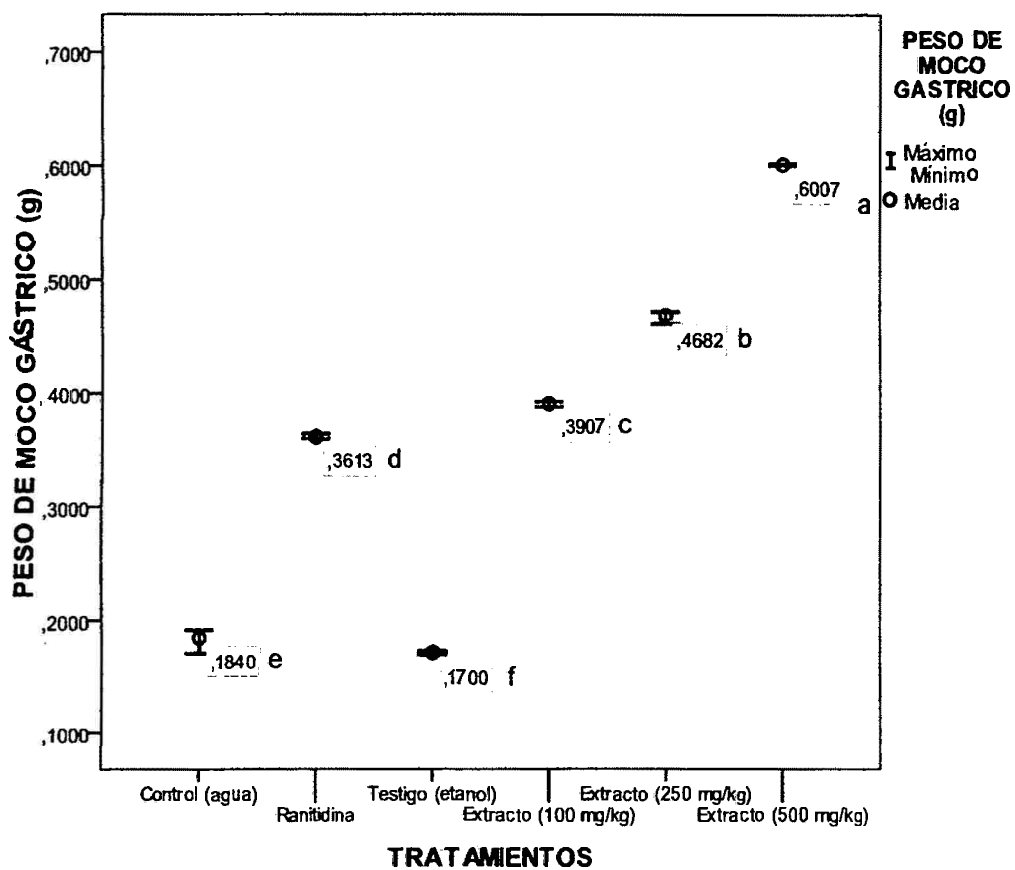
a, b, c, d : rangos asignados por el test de Duncan ($\alpha=0,05$)

Gráfico 3.- Actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara" determinada mediante el pH gástrico en cobayos. Ayacucho - 2010.



a, b, c, d, e, f: rangos asignados por el test de Duncan ($\alpha=0,05$)

Gráfico 4.- Actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara" determinada mediante el volumen de moco gástrico en cobayos. Ayacucho - 2010.



Nota al pie

a, b, c, d, e, f: rangos asignados por el test de Duncan ($\alpha=0,05$)

Gráfico 5.- Actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara" determinada mediante el peso del moco gástrico. Ayacucho-2010.

V. DISCUSIÓN

Los metabolitos secundarios presentes en las plantas poseen efectos beneficiosos que el hombre hasta la fecha sigue investigando, con la finalidad de darle aplicación farmacológica, con los criterios científicos correspondientes. Muchos de estos compuestos son solubles en soluciones alcohólicas (metanol o etanol), como son: terpenos, saponósidos, ácidos fenólicos, flavonoides y taninos, con los cuales se ha comprobado su efecto gastroprotector, antisecretor, cicatrizante, antiinflamatorio, inhibidor de la migración de células inflamatorias y actividad antirradicalaria (Villar, 1999).

Existen evidencias, en medicina popular, que las raíces del género *Hypseocharis* (Oxalidaceae). eran usadas por los pobladores de la Puna de Salta y Jujuy (Argentina), como antiinflamatorias y para curar heridas, donde las raíces crudas tiene un sabor amargo y astringente, con lo cual se relacionaría su actividad antiulcerosa (Slanis y Grau, 2001).

El cuadro Nº 01 del *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara", muestra la presencia de metabolitos secundarios como: Taninos y fenoles, flavonoides, saponinas; triterpenos y esteroides; azúcares y glicósidos. Lo que más destaca de la marcha fitoquímica es la presencia de taninos y flavonoides, siendo el

resultado un precipitado de una coloración azul (negruzca), y de color anaranjado intenso respectivamente. La principal acción y uso de los taninos es como astringentes; debido a su capacidad para precipitar proteínas, de la piel, proteínas salivales, etc. Por sus propiedades astringentes se usan como cicatrizante (Kuklinski, 2003). Dentro de los flavonoides sería la presencia de quercetina posiblemente un metabolito secundario que coadyuve a la acción de cicatrización ya que existe referencias de plantas cicatrizantes como el árnica, el cual posee flavonoides como la quercetina, luteolina, iridictiol (Kuklinski, 2003). Además se ha comprobado que muchos de estos compuestos tienen acción protectora de la mucosa gástrica, como es el caso de la rutina y la quercetina, los cuales son considerados protectores celulares contra los rayos ultravioleta, virus, hongos, entre otros (Huamán y col., 2009).

La quercetina es un flavonoide que ha sido aislado de la especie *Bidens pilosa* y al que se han reportado efectos antiulceroso y antisecretor (Álvarez, 1998). Estos datos sugieren que los flavonoides presentes en *Hypseocharis bilobata* podrían ser principios activos responsables de la actividad antiulcerosa mostradas por el extracto estudiado.

En el presente estudio al evaluar el extracto hidroalcohólico de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara” (anexo N° 1), contra el daño mucosal inducido por etanol, En el gráfico N° 1 se observa diferentes índices de ulceración, mayor en el control y el testigo y menor en los tres extractos de la planta (ver anexo N° 11). Al realizar el ANVA (anexo N° 3) se halló diferencia entre los tratamientos ($p < 0.05$) y al realizar la comparación de medias (anexo N° 4) se halló que el tratamiento que mayor índice de ulceración presentó fue el testigo, seguido del control, mientras que los de menor índice de ulceración presentaron fueron las tres concentraciones del extracto, 500, 250 y 100 mg/kg respectivamente.

También podemos observar en el anexo N° 2 nos muestra los porcentajes de inhibición en la inducción de úlcera gástrica (% IIUG), en los que se puede observar que a dosis crecientes los % IIUG, también se incrementa (ver gráf. N°2), alcanzando una capacidad máxima de 79,41% cuando se usa 500 mg/kg de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara", sin diferenciarse de la dosis de 250 mg/Kg. Se puede asimismo notar en el anexo N° 12-b, que el patrón ranitidina mostró menor capacidad de inhibición al presentar úlceras hemorrágicas, líneas de longitud menor a 2 mm e inflamaciones, a comparación de los extractos, con un 23,52% de inhibición.

El tratamiento con ranitidina no produjo incremento significativo del grupo tratado, en la mucosa gástrica, lo cual concuerda con lo encontrado por Álvarez (Álvarez, 1998), quien administró el fármaco vía intraduodenal y orogástrica, respectivamente, a una dosis de 50 mg/kg de peso. Lo que concuerda con el resultado de esta investigación.

La ranitidina, a dosis de 100 mg/kg, fármaco utilizado en el tratamiento de las úlceras, no demostró ser efectivo frente a la formación de lesiones gástricas producida por el etanol al 96%; este resultado también ha sido encontrado por otros autores (Álvarez, 1998).

El análisis de varianza (ANVA) del anexo N° 3, se observa la diferencia altamente significativa entre los tratamientos aplicados y realizada la comparación de medias (anexo N° 4), de la actividad antiulcerosa muestra que a mayor concentración menor es el índice de la ulceración.

Además de la secreción de moco, existen otros factores defensivos de la mucosa gástrica, como son el flujo sanguíneo y la presencia de bicarbonato en el moco, que neutraliza la acción de los iones H⁺ del medio gástrico. Todos ellos

son mecanismos diferentes al de la inhibición de la secreción ácida, como lo realiza la ranitidina (Sandoval y col., 2002).

En el gráfico N° 3 se observa la variación del pH, donde, existen diferentes valores de pH, menor en el control y las concentraciones 250 y 500 mg/kg del extracto de la planta y mayores valores en ranitidina, etanol y la concentración 100. Al realizar el ANVA (anexo N° 3) se halló diferencia entre los tratamientos ($p < 0.05$), al realizar la comparación de medias (anexo N° 5) se halló que el tratamiento que presentó mayores valores de pH fueron el testigo seguida de la ranitidina, mientras que los menores valores fueron hallados en el tratamiento de control y los extractos 500 y 250.

Castro menciona que en la evaluación de la actividad citoprotectora gástrica de *Baccaris genistelloides* que el pH más bajo encontrado fue de 4.86 siendo este en la dosis que mejor protegió frente a la injuria, en razón que los compuestos citoprotectores poseen un rango de pH que se encuentra entre 3 y 4. Encontrándose también en esta investigación el pH más bajo (4,7805) a una dosis de 500 mg/Kg de extracto de pacha tara. (Villar, 1999) menciona que muchos flavonoides muestran actividad frente a la úlcera péptica, reduciendo el índice de ulceración y la intensidad del daño mucosal, que es mediado por distintos mecanismos, contribuyendo en su efecto antiulceroso, evitando la agresión de los hidrogeniones y la activación de la pepsina. Estos valores de pH encontrados en esta investigación se debieran al comportamiento de los flavonoides presentes en el extracto de pacha tara, debido a que ellos, como ya señaló Villar, contribuirían al aumento de pH para ejercer su acción antiulcerosa.

En el gráfico N° 4, existen diferentes volúmenes del moco gástrico, menor en el control y ranitidina y mayor en los tres extractos de la planta. Al realizar el ANVA (anexo N°3) se halló diferencia entre los tratamientos ($p < 0.05$) y al realizar la

comparación de medias (anexo N° 6) se halló que el tratamiento con mayor volumen de moco gástrico fue los extractos de la planta (500, 250 y 100 mg/kg), mientras que los tratamientos con menores valores fue el testigo seguido del control.

La disminución o carencia de moco, así como la disminución del flujo circulatorio, producen un efecto de retrodifusión de H⁺ al tejido, provocando irritación y ulceración y, cuando hay protección, dilución, taponamiento o eliminación del exceso de acidez, no hay daño tisular o éste es mínimo (Espugles y col., 1997).

Algunos autores han reportado una disminución en la producción de *mucus* gástrico posterior a la administración oral de etanol (Álvarez, 1998), en el presente estudio hemos corroborado este hallazgo y hemos observado que una dosis de 250 mg/kg y 500 mg/Kg, el extracto no solamente inhibió de forma significativa la depleción de *mucus* gástrico producida por etanol, sino que también la secreción de mucus fue mayor que la observada en estómago de cobayos blancos que no fueron dañados por etanol. Este hecho puede estar relacionado con una recuperación en la cantidad de mucus inducida por el extracto.

En el gráfico N° 5, existen diferentes pesos del moco gástrico, menor en el control y ranitidina, y mayor en los tres extractos de la planta. Al realizar el ANVA (anexo N° 3) se halló diferencia entre los tratamientos ($p < 0.05$) y al realizar la comparación de medias (anexo N° 7) se halló que el tratamiento con mayor peso de moco gástrico fue los extractos de la planta (500, 250 y 100 mg/kg), mientras que los tratamientos con menores valores fue el testigo seguido del control.

La protección de la mucosa gástrica frente a la secreción de ácido y otros agentes exógenos consiste en distintos mecanismos como: secreción de moco, secreción de bicarbonato, barrera epitelial, flujo sanguíneo de la mucosa y la

síntesis de prostaglandinas (Espugles y col., 1997). El incremento de la cantidad de moco, tal como se logra con la dosis 500 mg/Kg del extracto de pacha tara, es considerado como un mecanismo de defensa, debido a que este aumentaría la barrera de protección mucosa, además de secreción de moco y bicarbonato y restos celulares, inhibiendo la acción agresiva de la pepsina, la retrodifusión de los hidrogeniones y otros agentes irritantes, permitiendo la rápida formación de la mucosa gástrica.

La acción farmacológica de la inducción de formación de moco gástrico como parte del mecanismo que favorece la regeneración del tejido irritado o ulcerado, ha sido también estudiado; esta acción mucoprotectora ha sido demostrada en el uso de los antiácidos $Al(OH)_3$, *Mylanta II*, el cual, entre sus acciones, revela un incremento luminal de prostaglandinas E2, estimulación a células de la mucosa en las que se observó mayor vacuolización, evidencia de una mayor actividad secretora y mayor actividad mitótica (Sandoval y col., 2002).

Las prostaglandinas también tienen un rol muy importante en la actividad de la mucosa gástrica. Diversos estudios muestran la actividad protectora de las prostaglandinas, como la PGE1, PGE2, PGF2, mediante la inducción de formación de moco (Sandoval y col., 2002).

En conclusión, a partir de nuestras condiciones experimentales, *Hypseocharis bilobata* "pacha tara", posee principios antiulcerosos que protegen contra el daño de la mucosa gástrica inducido por etanol absoluto, a través de una inhibición de la secreción de ácido y pepsina (atenuación de los factores agresivos) y de una estimulación de la secreción de mucus (potenciación de factores defensivos). Es probable que este efecto antiulceroso sea debido en parte a la presencia de flavonoides y taninos en el extracto, aunque tampoco puede descartarse la acción de otros compuestos también presentes en la planta.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara" posee actividad antiulcerosa en las úlceras agudas.
2. El tamizaje fitoquímico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara" demostró poseer: taninos y fenoles, flavonoides, saponinas; triterpenos y esteroides; azúcares y glicósidos.
3. El extracto hidroalcohólico de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara" a 500 mg/kg demostró mejor actividad antiulcerosa.

VII. RECOMENDACIONES

1. Profundizar el estudio de la actividad antiulcerosa del *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara" con el fin de afianzar los resultados obtenidos en el presente estudio.
2. Realizar otras pruebas farmacológicas del *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara" para obtener un perfil farmacológico de esta especie.
3. Realizar investigaciones sobre la posible acción farmacológica como cicatrizante ya que también se le atribuye esta propiedad por poseer metabolitos secundarios responsables de esta acción.
4. Aislar los metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara" para su mejor estudio y posible desarrollo de tecnología de una forma farmacéutica.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Álvarez, A.** 1998. Actividad antiulcerosa de un extracto etanólico de *Bidens pilosa* L.var *radiata* Schult, en ratas. Red cubana plant med.
2. **Arroyo, J., Rojas, J. y Chenguayen, J.** 2004. "Manual de modelos experimentales de farmacología". Primera Edición. Perú.
3. **Arango, M.** 2006. "Plantas medicinales" botánica de Interés Médico. Medicina indígena Colombiana 437 pag.
4. **Bravo, L., Marhuenda, E.** 2005. "Manual de Farmacoterapia" Elsevier España .S.A.
5. **Castro, Y.** 2002. Evaluación de la actividad citoprotectora gástrica de *Baccharis genistelloides* "kimsa kuchu" tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico.
6. **Cyted,** 1995. Manual de técnicas de investigación. Revista Iberoamericana de Ciencia y Tecnología.
7. **De la Cruz, J., Aucasime, L., Ramirez, A.** 2006. Plantas medicinales alto andinas de la zonas de Ayacucho – Huancavelica. Ayacucho.
8. **Durán, J., Gonzalo, M.** 1995. "Los antihistamínicos H1 en las enfermedades alérgicas" editor Universidad de Sevilla. Volumen 52 de Serie Medicina. España
9. **Espugles, J., Marinez-Cuesta M., Moreno L., Calatayud S., Beltrán B,** 1997. Mecanismos defensivos de la mucosa gástrica: Bases funcionales y actuación farmacológica. Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina, Universidad de Valencia. Procesos en Gastroenterología. 20 (4): 50-61. España.
10. **Goodman, A. y Gilman.** 1996. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. McGraw- Hill Interamericana
11. **Huamán, O., Sandoval, M., Arnao, I., Béjar, E.** 2009. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa*

- orellana* (achiote), en ratas. An Fac med. 2009;70(2):97-102
12. **Huamán, O., Arnao, I., Béjar, E., Sandoval, M.** 2007. Efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa Orellana* (achiote), en la secreción gástrica de ratas. Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina, UNMSM, Lima, Perú. An Fac med. 2007(2):97-102.
 13. **Kuklinski, C.** 2003. "Farmacognosia; estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural". Primera Edición. Editorial Omega S.A. España.
 14. **Lapa, J.** 2001. Métodos farmacológicos para la validación de plantas medicinales. Cytel.
 15. **López, A., Moreno, L.** 2005. Manual de farmacología: Guía para el uso racional del medicamento. Editor: 363 páginas. Elsevier España.
 16. **Miranda y Cuellar, M.** 2000. "Métodos de Análisis de Drogas y Extractos", Universidad de la Habana; Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba
 17. **Martin, H.** 2004. "Gastroenterología" Edición Elsevier España
 18. **Romero, M.** 1994. Estudio botánico, fenológico, fitoquímico y farmacológico de la pacha tara. Informe de investigación. Instituto de investigación en ciencias Biológicas. UNSCH.
 19. **Ruza, F., García, S.** 2003. Tratado Cuidados Intensivos Pediátricos 3a edi. Editor: Capitel Editores, España.
 20. **Sandoval, M., Ayala, S., Oré, R., Arrollo, J.** 2002. Inducción de la formación de moco gástrico por sangre de grado (*crotón paladostigma*). An Fac Med. 63(4); 251-6.
 21. **Slanis, A., Grau, A.** 2001. El género *HypseGocharis* (oxalidaceae) en la Argentina. Instituto de botánica Darwinion (IBODA). Buenos Aires Argentina año/vol. 39, numero 3-4 pp. 342-352.
 22. **Velázquez, M.** 1992. Farmacología. Edit. Interamericana- McGraw-Hill, España.
 23. **Villar, A.** 1999. Farmacognosia General. Madrid: Editorial Síntesis. España. Pag.335

IX. ANEXOS

ANEXO Nº 1

Cuadro Nº 2: cuantificación del índice de ulceración por efecto del tratamiento con dosis del extracto de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”, Ayacucho 2010.

TRATAMIENTO	ESCALA DE MARHUENDA	ÍNDICE DE ULCERACIÓN
Control (agua)	6: de cuatro a cinco úlceras de grado cuatro. 7: más de seis úlceras de grado cuatro.	6,80
Testigo (etanol)	7: más de seis úlceras de grado cuatro. 8: lesiones generalizadas de la mucosa con hemorragia.	7,60
Patrón (ranitidina)	3: más de una úlcera de grado dos. 4: una úlcera de longitud menor de 5 mm y diámetro menor de 2 mm. 8: lesiones generalizadas de la mucosa con hemorragia.	5,20
Dosis 100	1: úlceras hemorrágicas, líneas dispersas y en longitud menor de 2 mm. 3: más de una úlcera de grado dos. 4: una úlcera de longitud menor de 5 mm y diámetro menor de 2 mm. 5: de una a tres úlceras de grado cuatro. 7: más de seis úlceras de grado cuatro.	4,00
Dosis 250	1: úlceras hemorrágicas, líneas 2: una úlcera hemorrágica, línea de longitud menor a 2 mm. 3: más de una úlcera de grado dos. 6: de cuatro a cinco úlceras de grado cuatro.	2,60
Dosis 500	1: úlceras hemorrágicas, líneas 3: más de una úlcera de grado dos.	1,40

ANEXO N° 2

Cuadro N° 3: Porcentaje de inhibición de la inducción de úlcera gástrica por efecto de la aplicación de dosis crecientes de extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara" Ayacucho 2010

DOSIS mg/Kg	% IIUG
100	41,18
250	61,76
500	79,41
Ranitidina	23,52

ANEXO N°3

Cuadro N° 4.- Estadísticos descriptivos de la actividad antiulcerosa de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* "pacha tara", ranitidina, un control y un testigo, determinada mediante cuatro características gástricas en cobayos. Ayacucho – 2010.

Descriptivos

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
ÍNDICE DE ULCEPACIÓN	Control (agua)	5	6,80	,447	,200	6,24	7,36	6	7
	Ranitidina	5	5,20	2,588	1,158	1,98	8,41	3	8
	Testigo (etanol)	5	7,60	,548	,245	6,92	8,28	7	8
	Extracto (100 mg/kg)	5	4,00	2,238	1,000	1,22	6,78	1	7
	Extracto (250 mg/kg)	5	2,80	2,074	,827	,29	5,17	1	6
	Extracto (500 mg/kg)	5	1,40	,894	,400	,29	2,51	1	3
	Total	30	4,60	2,711	,495	3,50	5,61	1	8
pH DE MOCO GÁSTRICO	Control (agua)	5	4,784000	,1161034	,0516230	4,618339	4,908181	4,6000	4,9000
	Ranitidina	5	5,269100	,1082801	,0475289	5,137136	5,409064	5,1420	5,4000
	Testigo (etanol)	5	5,675120	,1803633	,0851331	5,438753	5,911487	5,4410	5,8429
	Extracto (100 mg/kg)	5	5,116920	,1180513	,0527841	4,970340	5,263500	4,8878	5,2421
	Extracto (250 mg/kg)	5	4,823620	,0073591	,0032811	4,814482	4,832758	4,8158	4,8316
	Extracto (500 mg/kg)	5	4,782100	,0078384	,0035054	4,772387	4,791833	4,7714	4,7906
	Total	30	5,071810	,3487098	,0838854	4,941800	5,202020	4,6000	5,8429
VOLUMEN DE MOCO GÁSTRICO (ml)	Control (agua)	5	,270580	,0072001	,0032700	,261640	,279520	,2614	,2814
	Ranitidina	5	,380880	,0025745	,0011513	,377683	,384057	,3774	,3842
	Testigo (etanol)	5	,280440	,0005585	,0002502	,259745	,261135	,2600	,2811
	Extracto (100 mg/kg)	5	,442400	,0035828	,0016022	,437852	,446848	,4382	,4468
	Extracto (250 mg/kg)	5	,571220	,0033380	,0014928	,567075	,575385	,5678	,5753
	Extracto (500 mg/kg)	5	,820760	,0051101	,0022853	,814415	,827105	,8148	,8267
	Total	30	,424377	,1395582	,0254787	,372285	,476489	,2600	,8267
PE SODEMOCO GÁSTRICO (g)	Control (agua)	5	,184020	,0085324	,0038158	,173426	,194614	,1702	,1898
	Ranitidina	5	,361300	,0017607	,0007874	,359114	,363486	,3599	,3642
	Testigo (etanol)	5	,170020	,0011323	,0005084	,168814	,171426	,1684	,1716
	Extracto (100 mg/kg)	5	,380700	,0018672	,0008798	,388257	,393143	,3879	,3924
	Extracto (250 mg/kg)	5	,486220	,0039801	,0017710	,463383	,473137	,4614	,4716
	Extracto (500 mg/kg)	5	,600720	,0008301	,0002818	,598938	,601502	,6000	,6014
	Total	30	,362497	,1540844	,0281318	,304881	,420033	,1684	,6014

ANEXONº4

Cuadro N° 5.- Comparación de medias mediante Duncan para la actividad antiulcerosa (índice de ulceración) de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara", ranitidina, un control y un testigo, determinada mediante tres características gástricas en cobayos. Ayacucho – 2010.

ÍNDICE DE ULCERACIÓN

Duncan^a

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Extracto (500 mg/kg)	5	1,40				
Extracto (250 mg/kg)	5	2,60	2,60			
Extracto (100 mg/kg)	5		4,00	4,00		
Ranitidina	5			5,20	5,20	
Control (agua)	5				6,80	6,80
Testigo (etanol)	5					7,60
Sig.		,275	,205	,275	,149	,464

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica= 5,000.

ANEXON°5

Cuadro N° 6.- Comparación de medias mediante Duncan para la actividad antiulcerosa (pH del moco gástrico) de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”, ranitidina, un control y un testigo, determinada mediante tres características gástricas en cobayos. Ayacucho – 2010.

pH DE MOCO GASTRICO

Duncan^a

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa= 0.05			
		1	2	3	4
Control (agua)	5	4,764000			
Extracto (500 mg/kg)	5	4,782100			
Extracto (250 mg/kg)	5	4,823620			
Extracto (100 mg/kg)	5		5,116920		
Ranitidina	5			5,269100	
Testigo (etanol)	5				5,675120
Sig.		,435	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica= 5,000.

ANEXON°6

Cuadro N° 7.- Comparación de medias mediante Duncan para la actividad antiulcerosa (volumen del moco gástrico) de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara", ranitidina, un control y un testigo, determinada mediante tres características gástricas en cobayos. Ayacucho–2010.

VOLUMEN DE MOCO GÁSTRICO (ml)

Duncan^a

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para $\alpha = 0.05$					
		1	2	3	4	5	6
Testigo (etanol)	5	,26044 0					
Control (agua)	5		,27058 0				
Ranitidina	5			,38086 0			
Extracto (100 mg/kg)	5				,44240 0		
Extracto (250 mg/kg)	5					,57122 0	
Extracto (500 mg/kg)	5						,62076 0
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

ANEXO N°7

Cuadro N° 8.- Comparación de medias mediante Duncan para la actividad antiulcerosa (peso del moco gástrico) de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip "pacha tara", ranitidina, un control y un testigo, determinada mediante tres características gástricas en cobayos. Ayacucho – 2010.

PESO DE MOCO GÁSTRICO (g)

Duncan^a

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa= 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Testigo (etanol)	5	,170020					
Control (agua)	5		,184020				
Ranitidina	5			,361300			
Extracto (100 mg/kg)	5				,390700		
Extracto (250 mg/kg)	5					,468220	
Extracto (500 mg/kg)	5						,600720
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

ANEXON°8

Cuadro N° 9.- Análisis de varianza (ANVA) de la actividad antiulcerosa (índice de ulceración, pH, volumen del moco y peso del moco gástrico) de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Hypseocharis bilobata* Killip “pacha tara”, ranitidina, un control y un testigo, determinada mediante tres características gástricas en cobayos. Ayacucho – 2010.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
ÍNDICE DE ULCERACIÓN	Inter- grupos	144,000	5	28,800	9,988	,000
	Intra- grupos	69,200	24	2,883		
	Total	213,200	29			
pH DE MOCO GÁSTRICO	Inter- grupos	3,226	5	,645	51,573	,000
	Intra- grupos	,300	24	,013		
	Total	3,526	29			
VOLUMEN DE MOCO GÁSTRICO (mi)	Inter- grupos	,564	5	,113	6220,6 37	,000
	Intra- grupos	,000	24	,000		
	Total	,565	29			
PESO DE MOCO GÁSTRICO (g)	Inter- grupos	,688	5	,138	8501,2 81	,000
	Intra- grupos	,000	24	,000		
	Total	,689	29			

ANEXON°9

Certificado de Identificación Botánica



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. **Alex Rumer**, AYALA TINEO, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de Engler y Prantl, modificado por Melchior, y es como sigue:

DIVISIÓN	:	ANTOPHYTA (ANGIOSPERMAE)
CLASE	:	DICOTILEDONEAE
SUBCLASE	:	ARCHYCLAMIDEAS
ORDEN	:	GERANIALES
FAMILIA	:	OXALIDACEAE
GENERO	:	Hypseocharis
ESPECIE	:	<i>Hypseocharis bilobata Killip.</i>
N.V.	:	"pacha tara".

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

Ayacucho, 13 de Agosto del 2010



Herbarium Huamangensis

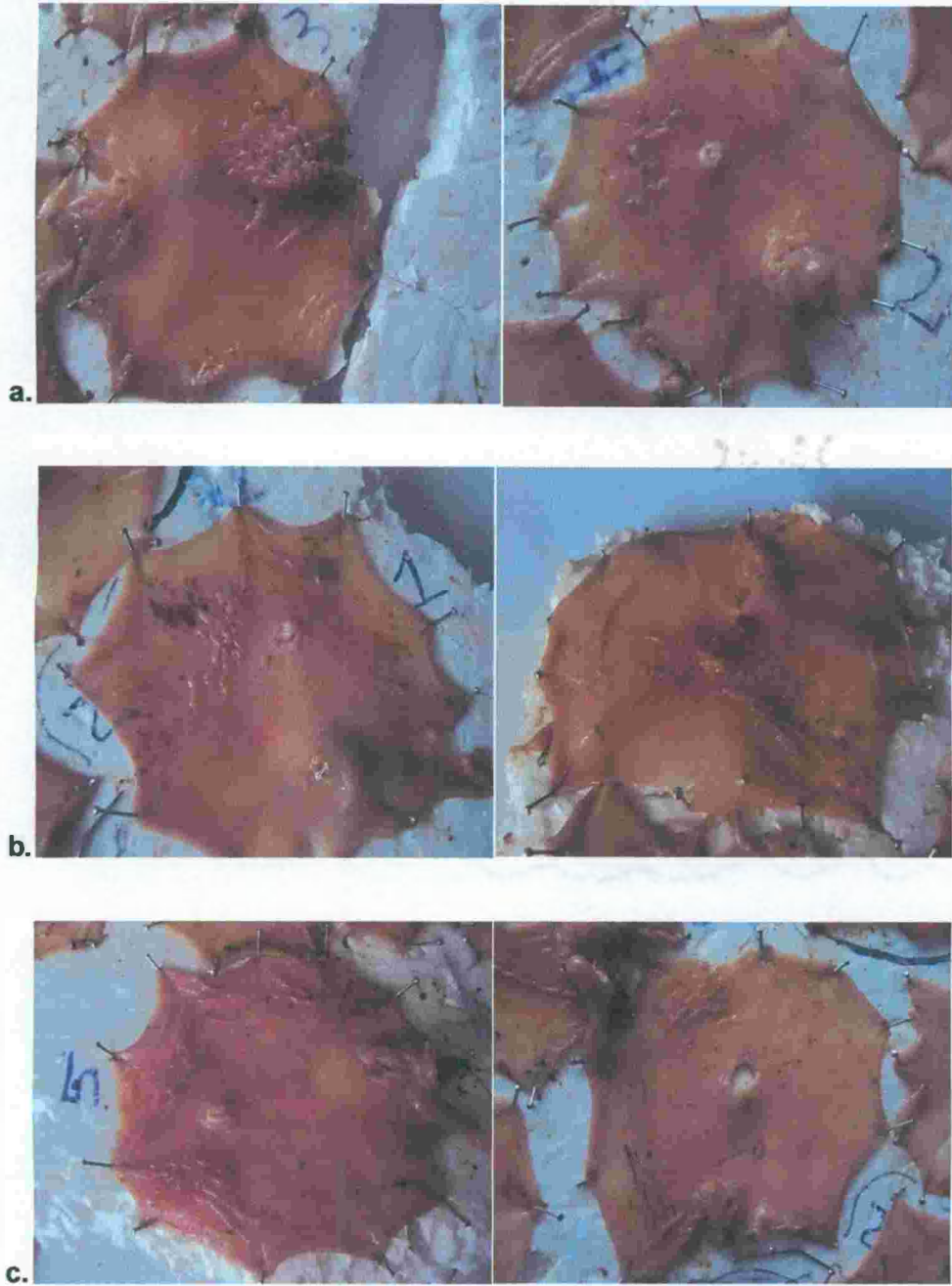
Blga. Laura AUCASIME MEDINA
Jefe

ANEXO N° 10



Fotografías en la etapa de recolección de *Hypseocharis Bilobata* Killip
“pacha tara”, comunidad de Mayupampa – Chiara.

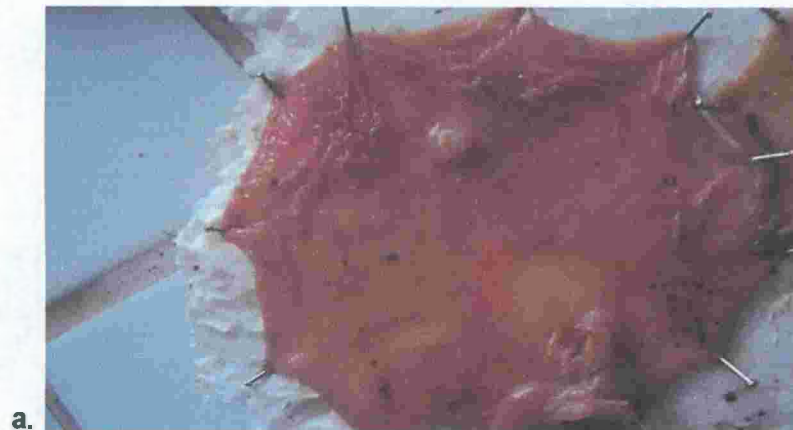
ANEXO Nº 11



Fotografías de los estómagos tratados con el extracto

Leyenda: estómagos extraídos (a) con tratamiento de dosis de 500 mg/Kg. (b) con tratamiento 250 mg/Kg y (c) con 100mg/Kg del extracto.

ANEXO N° 12



168681



Fotografías de los estómagos con ulcera gástrica de cobayos

Leyenda: Estómagos extraídos (a) Blanco, tratado con agua. (b) Control, tratado con ranitidina. (c) Testigo, solo etanol.

ANEXO Nº 13



Imagen del investigador y los estómagos aislados de cobayos

ANEXO Nº 13

MATRIZ DE CONSISTENCIA

ALUMNO: Alex Rumer Ayala Tineo

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPOTESIS	VARIABLES E INDICADORES	DISEÑO METODOLÓGICO
Actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara" de <i>Hipseocharis bilobata</i> "pacha tara" Ayacucho – 2010.	¿Tendrá actividad antiulcerosa el extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hipseocharis bilobata</i> "pacha tara"?	<p>OBJETIVO GENERAL: Evaluar la actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara"</p> <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS: - Realizar el Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara" - Determinar la dosis del <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara" que muestra una mejor actividad antiulcerosa.</p>	<p>-Antecedentes -Clasificación taxonómica -Descripción Botánica de <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara" - Distribución Geográfica - Propiedades y usos Medicinales</p>	El extracto etanólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara" posee actividad antiulcerosa.	<p>Variable Independiente: Extracto hidroalcohólico de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara".</p> <p>Indicador: Concentración 100 mg/Kg de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara"</p> <p>Concentración 250 mg/Kg de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara"</p> <p>Concentración 500 mg/Kg de la raíz de <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara"</p> <p>Variable Dependiente: Actividad antiulcerosa.</p> <p>Indicadores: Número de úlceras en la mucosa gástrica, Índice de ulceración, Peso y volumen de moco gástrico, pH del moco gástrico.</p>	<p>Tipo de estudio: Básico experimental</p> <p>Definición de la población y muestra</p> <p>Procedimiento para la recolección de muestra.</p> <p>Preparación del extracto hidroalcohólico de <i>Hypseocharis bilobata</i> "pacha tara"</p> <p>Diseño Experimental: Determinación de la actividad antiulcerosa: El método a utilizar esta propuesto por Lee, que se basa en el fundamento de úlcera gástrica aguda inducida por etanol absoluto.</p> <p>Análisis de datos: Serán evaluados estadísticamente mediante análisis de varianza.</p>

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R. D. N° 055 – 2011 – FCB – D

Bachiller: Alex Rumer Ayala Tineo

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día Viernes veinticinco de marzo del año dos mil once, en auditorio N.- 01 del patio de la Higuera de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, reunidos el Jurado de sustentación de Tesis, presididos por el Magister José Manuel Diez Macavilca en representación del Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas quien además es miembro Asesor, con la presencia de los docentes miembros Magister Enrique Aguilar Felices; Magister Edgar Cárdenas Landeo, y el Magister Aldo Tinco Jayo como cuarto Jurado calificador. Actuando como secretaria Docente la Magister Maricela López Sierralta, para administrar la Tesis: Actividad antiulcerosa del extracto hidroalcohólico de la raíz del *Hypseocharis bilobata* "pacha tara" Ayacucho - 2011 presentado por el bachiller Alex Rumer Ayala Tineo, quien pretende optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

El presidente (e) inicia el acto de sustentación solicitando a la Secretaria Docente la revisión de la documentación en mesa y de lectura de la Resolución Decanal N° 055 – 2011 – FCB – D e instruyendo al sustentante sobre la exposición y el tiempo requerido, no mayor a cuarenta y cinco minutos, cediendo la palabra al expositor.


Luego de la exposición del trabajo de investigación en el tiempo correspondiente, el presidente (e) da inicio a la segunda etapa del acto de la sustentación en la que, los miembros del Jurado calificador realiza las observaciones, aclaraciones y preguntas que crean correspondiente.

Inicia su participación el profesor Edgar Cárdenas Landeo recomendando al sustentante la exposición del trabajo y no la mera lectura de las diapositivas, que debía presentarse en diagramas, figuras, fotos y no solo texto, además los resultados deben ir discutiéndose durante la exposición y no presentar la discusión como lectura posterior al resultado, luego realizo preguntas adicionales

Luego participaron los docentes Aldo Tinco Jayo, Enrique Aguilar y finalmente José Diez Macavilca en su calidad de Asesor, quien posteriormente solicitó al sustentante y público en general que abandone el auditorium para que el Jurado calificador pueda deliberar y realizar su calificación como sigue:

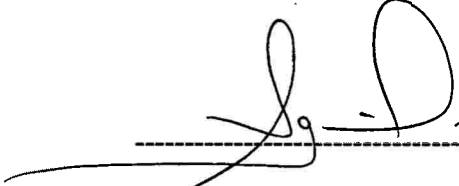
JURADO CALIFICADOR	EXPOSICIÓN	RESPUESTA A PREGUNTAS	PROMEDIO
Mg. José Diez Macavilca	17	17	17
Mg. Enrique Aguilar Felices	16	16	16
Mg. Edgar Cárdenas Landeo	15	16	16
Mg. Aldo Tinco Jayo	15	16	16

De la calificación emitida, el sustentante obtuvo la calificación promedio de DIECISÉIS (16) de lo cual dan fé los miembros, firmando al pie de la presente. Culmina el acto de sustentación siendo las cinco y cincuenta de la tarde.



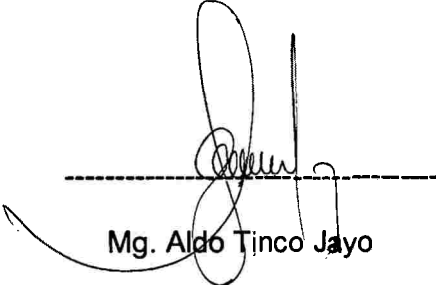
Mg. José Diez Macavilca

Presidente (a)



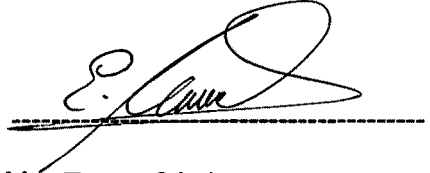
Mg. Enrique Aguilar Felices

Miembro



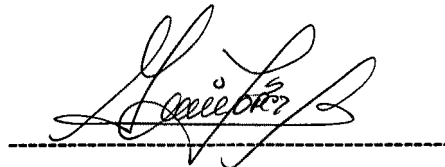
Mg. Aldo Tinco Jayo

Miembro



Mg. Edgar Cárdenas Landeo

Miembro



Mg. Maricela López Sierralta

Secretaria Docente