

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN  
CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE  
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de  
las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote"  
Ayacucho 2014

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO  
PRESENTADO POR EL:  
Bach. QUISPE RUA, Wilber

AYACUCHO-PERÚ

2015

*A mis familiares por el apoyo y sacrificio que me brindaron para lograr mi aspiración de ser excelente Profesional.*

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, *Alma Máter*, del saber universal por haberme acogido durante cinco años y darme lo necesario para mi vida profesional, y de esta manera retribuir en la sociedad.

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

A mi asesor: Dr. Johnny Aldo, TINCO JAYO, por su apoyo permanente en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A los profesores de la EFP de Farmacia y Bioquímica quienes con sus amplios conocimientos me formaron y guiaron en mi formación profesional.

A todas aquellas personas que me brindaron su apoyo, sugerencias y consejos durante la ejecución del presente trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Aspectos botánica de <i>Bixa orellana</i> L."achiote".	4
2.3. Propiedades y usos medicinales.	6
2.4. Anatomía y fisiología del estómago.	8
2.5. Úlcera.	8
2.6. Tratamiento.	13
2.7. Omeprazol.	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1. Ubicación.	16
3.2. Materiales.	16
3.3. Recolección y procesamiento del material vegetal.	16
3.4. Procedimiento experimental.	18
3.5. Parámetros evaluados.	20
3.6. Análisis de datos.	21
IV. RESULTADOS	22
V. DISCUSIÓN	28
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	38
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXOS	42

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho – 2014.	23

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página.
Figura 1.	La estructura química de la quercetina y la (+) catequina. 7
Figura 2.	Índice de ulceración gástrica en cobayos según la escala de Marhuenda por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho – 2014 24
Figura 3.	Porcentaje de inhibición de úlceras gástricas por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho – 2014. 25
Figura 4.	pH del contenido gástrico por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho – 2014. 26
Figura 5.	Volumen del contenido gástrico por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho – 2014. 27

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página.
Anexo 1. Certificado de la identificación taxonómica de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote"	43
Anexo 2. Esquema de procedimientos metodológico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho-2014.	44
Anexo 3. Protocolo del análisis físico-químico cualitativo en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho-2014.	45
Anexo 4. Etapa de recolección de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho-2014.	46
Anexo 5. Extracto concentrado seco de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho-2014.	47
Anexo 6. Administración oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" para determinación de la actividad antiulceroso Ayacucho-2014.	48
Anexo 7. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho-2014.	49
Anexo 8. Muestras de estómagos tratados con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho-2014.	50
Anexo 9. Porcentaje de inhibición de la inducción de úlcera gástrica por efecto de la aplicación de dosis crecientes del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho – 2014.	51
Anexo 10. Lesiones gástricas en el extendido del estómago tratados con agua destilada y etanol Ayacucho – 2014.	52
Anexo 11. Estómagos tratados con omeprazol y etanol Ayacucho – 2014.	53
Anexo 12. Estómagos tratados con etanol y 100 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho – 2014.	54
Anexo 13. Estómagos tratados con etanol y 200 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" Ayacucho – 2014.	55

Anexo 14.	Estómagos tratados con etanol y 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” Ayacucho – 2014.	56
Anexo 15.	Volumen, pH e IU, por la administración de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” Ayacucho-2014.	57
Anexo 16.	Comparacion de medias mediante la prueba de Tukey del índice de ulceración de los tratamientos administrados de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” Ayacucho-2014.	58
Anexo 17.	Analisis de varianza del índice de ulceración, pH y volumen del contenido gástrico de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> “achiote”, omeprazol, etanol y un basal; en cobayos. Ayacucho-2014.	59
Anexo 18.	Comparacion de medias mediante la prueba de Tukey de pH de los tratamientos administrados de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” Ayacucho-2014.	60
Anexo 19.	Comparacion de medias mediante la prueba de Tukey de los volúmenes de los tratamientos administrados de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” Ayacucho-2014.	61
Anexo 20.	Grupo I: se observan la conservación de la citoarquitectura del tejido gástrico.	62
Anexo 21.	Grupo II: se observa descamación de células epiteliales, con escasa presencia de células inflamatorias en región mucosa y evidentes zonas erosivas.	63
Anexo 22.	Grupo III: se observa la conservación de la citoarquitectura del tejido gástrico, sin presencia de células inflamatorias.	64
Anexo 23.	Grupo IV: se observa poca descamación epitelial, con ligeras zonas erosivas, con ausencia de células inflamatorias.	65
Anexo 24.	Grupo V: se observa discreta descamación en zona apical y ausencia de filtración de células inflamatorias en la submucosa.	66
Anexo 25.	Grupo VI: se observa la conservación de la citoarquitectura del tejido gástrico, sin presencia de células inflamatorias.	67

## RESUMEN

La úlcera es la pérdida de sustancia o tejido. Úlcera péptica, gástrica o doudenal. Pérdida gástrica o doudenal por diversos agentes: físicos, químicos, biológicos, psicológicos. El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de identificar los metabolitos secundarios, determinar el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote", y el análisis anatomopatológico de las úlceras inducidas por etanol absoluto; la investigación se desarrolló en los laboratorios de Farmacología y Farmacognosia 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. Se usaron 30 cobayos machos de la raza nativa adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA)-Ayacucho con un peso promedio de 550 g a 650 g, las hojas de *Bixa orellana* L. fueron recolectados del pueblo de Balsamuyoc del distrito de Sivia, provincia Huanta, región Ayacucho. La ulceración gástrica fue inducida según la técnica propuesta por Lee. Los animales fueron distribuidos en 6 grupos: (I) basal con agua; (II) control con etanol 96%; (III) patrón con omeprazol 20 mg/kg; (IV) con *Bixa orellana* L. a 100 mg/kg; (V) a 200 mg/kg; (VI) a 400 mg/kg; con 5 animales cada grupo. Los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico fueron: flavonoides, taninos, alcaloides, fenoles, triterpenoides y esteroides. Los porcentajes de inhibición de úlceras fueron de 90,91% para el extracto de 400 mg/kg el cual posee acción similar con el omeprazol con un 95,45%. En cuanto al estudio del contenido gástrico, el extracto a dosis de 400 mg/kg mostró un mejor resultado con pH de 3,24; volumen de contenido gástrico 2,2 ml. En el estudio histológico, se encontró mayor protección y la ausencia de células proinflamatorias a dosis de 400 mg/kg y los que recibieron a dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg se encontró poca descamación epitelial con ligeras zonas erosivas y ausencia de células proinflamatorias. Sin embargo, los grupos controles presentaron una descamación de células epiteliales con escasa presencia de células proinflamatorias en la región mucosa. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote", tiene efecto antiulceroso frente al daño inducido por etanol absoluto.

**Palabras clave:** *Bixa orellana* L., efecto antiulceroso.

## I. INTRODUCCIÓN

*Bixa orellana* L. "achiote", pertenece a la familia Bixaceae; es una planta originaria de América tropical, se cultiva extensamente en todas las regiones tropicales del mundo, pero la mayor producción se concentra en los países de América y Caribe: Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Perú, Costa Rica, República Dominicana y Jamaica en altitudes de 0 a 1200 msnm, prefiere suelos arenosos y arcillosos.<sup>1</sup>

El achiote, o urucú, como se conoce en Brasil, se cuenta entre una de las primeras plantas domesticadas por los indios de esa región, probablemente con fines ceremoniales.<sup>2</sup>

En el Perú, la *Bixa orellana* se encuentra en la parte montañosa de los Departamentos de Amazonas, Cusco, Ayacucho y San Martín. Se usa ampliamente en la medicina tradicional en las regiones montañosas y hay pocos estudios sobre sus diferentes propiedades farmacológicas.<sup>3</sup>

La *Bixa orellana* achiote es uno de las plantas a las que se atribuye efectos antiulceroso, pero su uso se encuentra limitado a la zona de la selva alta, siendo el efecto antiinflamatorio y refrescante del estómago los más conocidos en dicha región.<sup>4</sup>

Dentro de los variados usos que puede tener la planta de achiote se pueden mencionar Insecticida repelente: Los nativos fueron los primeros en aprovechar el achiote, no solo para pintarse el cuerpo, sino también para ahuyentar a los mosquitos y otras plagas y para preservarse de los efectos negativos del clima.<sup>5</sup>

En las zonas de cultivo, los pobladores refieren el conocimiento ancestral medicinal de las hojas para tratar las enfermedades del hígado y del estómago como antiulceroso. Dicho conocimiento Fitoterapéutico prevalece nuestros días, con riesgo de perderse, debido a la transculturalización de nuestros nativos. Los estudios realizados por Li, Alvarado y Juárez refieren propiedades diuréticos, antidiarrea, antivenérea, hipoglucemiante y antiinflamatorio prostático.<sup>3</sup> La úlcera es una lesión en forma de herida más o menos profunda, desde la capa superficial

hasta las *muscularis mucosae* formando un cráter rodeado de un infiltrado inflamatorio.<sup>6</sup>

Es una solución de continuidad de la mucosa de mas de 3 a 5 mm de diametro mayor, que alcanza en profundidad hasta la muscular que cicatriza por reparación de las tunicas subyacentes y por regeneración atípica de esta, con formación de cicatriz.<sup>7</sup>

La úlcera duodenal se caracteriza por la presencia de una úlcera crónica o aguda, de forma redondeada, ovalada o lineal. Los pacientes con úlcera duodenal generan en promedio más ácido que los testigos, en particular por la noche (secreción basal). La úlcera gástrica es una ruptura localizada, no neoplásica de la continuidad de la mucosa, que se extiende a través de la túnica o capa muscular de la mucosa de la pared estomacal.<sup>6</sup>

Actualmente en nuestro país se utiliza las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" para el tratamiento de inflamación prostática y, la infusión, para el tratamiento de la gastritis y úlcera, aunque esta última forma de tratamiento es poca difundida y tan solo se limita a la región de la selva alta. Es por ello que resulta de gran interés su estudio fitoquímico, farmacológico y toxicológico y considerar las características que debe poseer todo fitomedicamento, como ser seguro, eficaz y de calidad. En este sentido la planta puede ser un candidato importante como alternativa, sin embargo es necesario confirmar y estudiar sus posibilidades, por lo que en el presente trabajo de investigación se tienen como objetivos:

**Objetivo general:**

Evaluar el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote".

**Objetivos específicos:**

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Bixa orellana* L. "achiote".
- Determinar la concentración con mayor efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote", comparado con omeprazol.
- Realizar el análisis anatomopatológico de las úlceras inducidas por etanol absoluto.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

Se realizó un estudio sobre el efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* "achiote", en la secreción gástrica de ratas. Encontrando un incremento de GS-NP en 133 y 168% ( $p < 0,01$ ), a las dosis de 100 y 200 mg/kg, y la producción de moco, en 39,4% y 44,9%, respectivamente, a las dosis de 200 y 400 mg/kg ( $p < 0,01$ ). Sin embargo, solo en el grupo que recibió la dosis de 400 mg/kg de peso se produjo un descenso de pH de forma significativa ( $p < 0,05$ ). Por otro lado, la acidez total a la dosis de extracto 100, 200 y 400 mg/kg presentaron un incremento de 62,3%, 58,2% y 166,6%, respectivamente ( $p < 0,01$ ).<sup>4</sup>

Se realizó un estudio del efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* "achiote", en ratas.

Se realizó un estudio fitoquímico encontrando compuestos fenólicos, tales como flavonoides y taninos, terpenos y alcaloides. El tratamiento con el extracto a dosis de 200 y 400 mg/kg, 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.<sup>3</sup> Se realizó la actividad antimalárica de un extracto hidroalcohólico de *Bixa orellana* L., *in vitro* e *in vivo*; el extracto exhibió un valor de concentración inhibitoria media de 11,6 ug/ml, concentración citotóxica media de 60,2 ug/ml e índice de selectividad de 5,1; la administración subcutánea del extracto a la dosis de 500 mg/kg causó una reducción de  $50,3 \pm 5,8\%$  de la parasitemia en los animales infectados en comparación con la observada en los controles. El tamizaje fitoquímico fue consistente con la detección de triterpenoides y/o esteroides, alcaloides, compuestos lactónicos, compuestos fenólicos, taninos y flavonoides.<sup>8</sup>

En el estudio de *Bixa orellana* "achiote", se realizó análisis fitoquímica encontrando compuestos como los flavonoides: Flavonas, Antocianidinas y sesquiterpenlactonas; los cuales fueron separados por CCF. En ratas normoglucémicas se halló disminución de glucosa sanguínea; empleando diversas dosis del extracto acuoso por vía oral, se demostró la eficacia hipoglucémica, y una mayor eficiencia con la dosis más alta. La curva de glucosa en la sangre mostró que el efecto hipoglucémico de achiote se prolongó durante las doce horas de evaluación. Sin embargo, la reducción más significativa de la glucosa en sangre se realizó dos horas después de las drogas de administración. Achiote no evitó la pérdida de peso que es característica de la diabetes mellitus descompensada.<sup>9</sup>

En el trabajo de investigación del extracto acuoso atomizado de hojas de *Bixa orellana*, se comprobó las propiedades cicatrizantes y antiinflamatoria, por aplicación local en animales de experimentación, lo que indicaría en su composición química posee metabolitos secundarios a los que se atribuyen dichas propiedades regenerativas de tejidos.<sup>10</sup>

Se realizó un estudio sobre ensayos de toxicidad aguda en ratones, el extracto metanólico de las hojas en dosis hasta de 4000 mg/kg, no produjo efectos tóxicos dentro del tiempo de evaluación.<sup>11</sup>

Se realizó un estudio de citotoxicidad y efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* "achiote", se aprecia la CL<sub>50</sub> a una exposición de 24 horas 93,1623 p.p.m. y una CL<sub>50</sub> a 48 horas de exposición de 47,9850 p.p.m. este dato nos confirma, que el tiempo de exposición frente a una sustancia trae consigo una mayor susceptibilidad, así como el incremento de riesgo a ciertas sustancias pudiendo llegar a la muerte en exposiciones largas.

Los valores del efecto antipirético fueron de 40; 43,75 y 85% respectivamente para los extractos 300, 600 y 900 mg/kg y como fármaco patrón paracetamol a 20 mg/kg, encontrándose que a una dosis a 900 mg/kg del extracto hidroalcohólico presenta el mejor efecto antipirético.<sup>12</sup>

## **2.2. Aspectos botánica de *Bixa orellana* L."achiote".**

### **2.2.1. Origen e historia**

Es una planta originaria de América tropical, se cultiva extensamente en todas las regiones tropicales del mundo, pero la mayor producción se concentra en los países de América latina en altitudes de 0 a 1200 msnm, prefiere suelos arenosos y arcillosos. Pero la mayor producción se concentra en los Países de: Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Perú, Costa Rica, República Dominicana y Jamaica.<sup>1</sup>

El achiote, o urucú, como se conoce en Brasil, se cuenta entre una de las primeras plantas domesticadas por los indios de esa región, probablemente con fines ceremoniales.<sup>2</sup>

En el Perú, la *Bixa orellana* se encuentra en la parte montañosa de los Departamentos de Amazonas, Cusco, Ayacucho y San Martín. Se usa ampliamente en la medicina tradicional en las regiones montañosas y hay pocos estudios sobre sus diferentes propiedades farmacológicas.<sup>3</sup>

La *Bixa orellana* "achiote" es uno de las plantas a la que se atribuye efectos antiulceroso, pero su uso se encuentra limitado a la zona de la selva alta, siendo el efecto antiinflamatorio y refrescante del estómago los más conocidos en dicha región.<sup>4</sup>

### 2.2.2. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de la *Bixa orellana* L "achiote".

<b>División</b>	:Magnoliophyta
<b>Clase</b>	:Magnoliopsida
<b>Sub clase</b>	:Dilleniidae
<b>Orden</b>	:Violales
<b>Familia</b>	:Bixaceae
<b>Género</b>	:Bixa
<b>Especie</b>	: <i>Bixa orellana</i> L.
<b>Nombre vulgar</b>	:"achiote"

**Fuente:** Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* a cargo de la Blga. Laura Aucasime Medina de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH.

### 2.2.3. Descripción botánica.

Es un árbol pequeño, de tres a seis metros de alto aproximadamente, de copa redonda y aspecto frondoso, de hojas simples, grandes, largamente pecioladas, estipuladas, de color verde pardo con algunas vetas rojizas y de borde liso, de disposición alterna y palminervias. Inflorescencias en panículas terminales, sus flores son hermafroditas, actinomorfas, bisexuales y pentámeras, sépalos y pétalos libres, imbricados y caedizos, los pétalos de color blanco o rosado, vistosas, numerosos estambres libres; ovario súpero, bicarpelar, unilocular, conteniendo numeroso óvulos de placentación parietal, fruto cápsula de color rojo oscuro que a la madurez, se abre en 2 valvas provista de numerosos apéndices flexibles de color rojo, pardo. Semillas ovoides lisas con testa carnosa, color rojo o anaranjado.

La cual contiene una sustancia colorante roja intensa compuesto por 2 tipos de colorantes: la bixina de color rojo y la orellina de color amarillo, además aceites volátiles y aceites grasos. Se propaga mediante semillas, estacas o injertos.<sup>13</sup>

## **2.3. Propiedades y usos medicinales**

### **2.3.1. Usos en la medicina tradicional**

Dentro de los variados usos que puede tener la planta de achiote se pueden mencionar insecticida repelente. Los nativos fueron los primeros en aprovechar el achiote, no solo para pintarse el cuerpo, sino también para ahuyentar a los mosquitos y otras plagas y para preservarse de los efectos negativos del clima.<sup>10</sup>

En las zonas de cultivo, los pobladores refieren el conocimiento ancestral medicinal de las hojas para tratar las enfermedades del hígado y del estómago como antiulceroso. Dicho conocimiento fitoterapéutico prevalece en nuestros días, con riesgo de perderse, debido a la transculturalización de nuestros nativos.

Los estudios realizados por Li, Alvarado y Juárez refieren propiedades diuréticos, antidisentérica, antivenérea, hipoglucemiante y antiinflamatorio prostático.<sup>3</sup>

En el estudio fitoquímico del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* se identificó los metabolitos con mayor cantidad de compuestos fenólicos, tales como taninos, flavonoides(quercetina) y en menor proporción terpenos y alcaloides.<sup>3</sup>

### **2.3.2. Composición química**

En las hojas encontramos bixaganeno, ishwarano (aceite esencial) entre otros mono y sesquiterpenos; flavonoides: 7-bisulfato de epigenina, 7-bisulfato de lutiolina, 8-bisulfato de hipolaetina, glucósido de apigenina, bisulfato de apigenina, hipolaetina, entre otros como: flavonas, antocianidinas y sesquiterpenlactonas; carotenoides: bixina, norbixina, orellina,  $\beta$ -caroteno, criptoxantina, luteína; vitaminas (A,B y C); proteínas; azúcares; celulosa; grasas; calcio, fierro y fósforo; diterpenos: geraniol, alcaloides, ácido gálico, farnesilacetona y ácido alfitólico.<sup>14</sup>

#### **2.3.2.1. Flavonoides**

Los flavonoides tienen una estructura química muy definida. De manera general son moléculas que tienen dos anillos bencénicos unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, los autores los denominan simplemente como compuestos C6C3C6.

Los flavonoides son pigmentos naturales, presentes en los vegetales, que brindan protección al organismo de daños producidos por agentes oxidantes, el organismo humano no produce estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben de

obtenerse mediante la alimentación o por medio de suplementos, se encuentran ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. La quercetina y la catequina son los flavonoides que presentan una mayor actividad antioxidante, debido a sus propiedades estructurales.

La quercetina presenta un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en la posición 3 del anillo C, mientras que la catequina posee un grupo –OH en la posición 3 del anillo C, dicha estructura hace que ejerzan una acción inhibitoria contra los radicales hidroxilo y superóxido, que son los principales inductores de la peroxidación de lípidos.

La capacidad antioxidante de los flavonoides ha sido reconocida en diversos estudios, ya que estos compuestos pueden unirse a las enzimas transportadores de hormonas y al DNA.

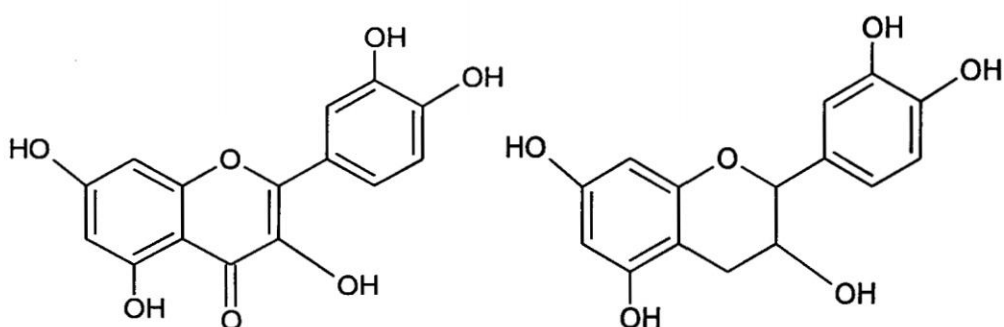


Figura 1: La estructura química de la quercetina y la (+) catequina.

Además pueden quelar iones metálicos, catalizar el transporte de electrones y depurar los radicales libres. Debido a su mecanismo de acción de estos fitoquímicos se han podido usar en patológicas como la diabetes *mellitus*, cáncer, cardiopatías, infecciones virales y úlceras. Se ha demostrado que protegen de la fotooxidación a la vitamina E en la membrana celular, inhiben la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), por lo que evitan la formación de ateroma y reducen la citotoxicidad de las LDL.<sup>15</sup>

Presenta actividad terapéutica como gastroprotector y antisecretor el primero actúa incrementando la cantidad y calidad de mucosa gástrico esto al aumentar su contenido glicoproteico; en la acción vasoprotectora que implica una mejor microcirculación, lo que favorece el proceso de cicatrización y la neoformación de vasos. El segundo actúa; disminuyendo la secreción de pepsina y bloqueando la actividad enzimática de histidin-carboxilasa, que cataliza la síntesis de histamina.<sup>6</sup>

### **2.3.2.2. Taninos**

El término "tanino" involucra a un grupo diverso de compuestos fenólicos, solubles en agua, capaces de unirse a proteínas, dando como resultado la formación de complejos solubles e insolubles; pueden dividirse, según su estructura química, en taninos condensados, taninos hidrolizables y florotaninos.<sup>16</sup>

Están constituidos por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica, que son capaces de combinarse con las proteínas de la piel, evitando su putrefacción y convirtiéndola en cuero. Generalmente son amorfas; solubles en agua para dar disoluciones coloidales; solubles en álcalis diluidos, alcohol, acetona y glicerina. Actúa como curtidor de la piel que se intercalan entre las fibras de colágeno y adquieren una gran resistencia frente al agua, el calor y se convierte en cuero, otra de sus actividades es la precipitación de macromoléculas, que son capaces de reaccionar con las proteínas salivares y glucoproteínas de la boca, por lo que la saliva pierde su poder lubricante, hace que las capas superficiales sean menos permeables y protejan a las capas subyacentes, de ahí su empleo en uso externo como cicatrizante que favorece la regeneración, se usa en el tratamiento de quemaduras y tiene un poder analgésico.<sup>6</sup>

### **2.4. Anatomía y fisiología del estómago**

El estómago, está fijo por sus dos extremos, la unión gastroesofágica y la unión gastroduodenal; presenta tres capas de fibras musculares lisas; una capa externa longitudinal, una media circular y una interna oblicua.

El estómago está tapizado interiormente por dos tipos de mucosa de carácter glandular, que se pliegan para formar arrugas y determinados accidentes mucosas. En los dos tercios proximales, la mucosa del fundus presenta glándulas que contienen células parietales, productoras del ácido y células principales, productoras de pepsina. La mucosa del antro, situado en el tercio distal, presenta glándulas que contienen células productoras de mucina y células productoras de gastrina. La superficie de ambos tipos de mucosa está formada por células secretoras de moco.<sup>17</sup>

### **2.5. Úlcera**

Es una lesión en forma de herida más o menos profunda, desde la capa superficial hasta las *muscularis mucosae* formando un cráter rodeado de un infiltrado inflamatorio<sup>6</sup>. Una úlcera se define como una ruptura en la piel o en las membranas de la mucosa acompañada con pérdida de tejido superficial, desintegración y necrosis del tejido epitelial. Una úlcera se diferencia de una erosión por la profundidad

de la penetración; las erosiones son más superficiales y no afectan a la capa muscular de la mucosa.<sup>18</sup>

## **2.5.1. Enfermedades de la mucosa gástrica**

### **2.5.1.1. Úlcera péptica**

La úlcera péptica sigue siendo uno de los tres causas más comunes de hemorragia del tubo digestivo. Los factores de riesgo asociado al sangrado de la úlcera son: La edad avanzada, uso de analgésicos antiinflamatorios no esteroideos, presencia de *H. pylori* así como el consumo de alcohol y tabaco. La enfermedad ácido péptica, es una enfermedad que se caracteriza por la presencia de una lesión mayor de 5 mm más o menos en general única y localizada a nivel de la mucosa del estómago o del duodeno. Dicha lesión consiste en una solución de continuidad de la mucosa que se extiende en profundidad a través de la capa muscular de la mucosa y que permanece en función de la actividad ácido-péptica.<sup>19</sup>

Es una enfermedad que comprende un grupo de afecciones ulcerativas localizadas en el estómago y/o duodeno que requiere ácido y pepsina para su formación.<sup>20</sup>

#### **2.5.1.1.1. Úlcera duodenal**

Se caracteriza por la presencia de una úlcera crónica o aguda, de forma redondeada, ovalada o lineal. Los pacientes con úlcera duodenal son hipersecretores en un 30 – 50%. Además es importante considerar la hipersecreción por que, no hay úlcera duodenal sin hipersecreción. Las cráteres duodenales se producen generalmente dentro del bulbo, o en la primera porción del duodeno en un 90% y un 10% son post bulbares, aproximadamente la mitad de todas las úlceras duodenales se encuentran en la pared anterior. Se presenta en el duodeno, cuando hay un desequilibrio entre el balance de la secreción ácida-péptica y por la resistencia de la mucosa por la otra parte. Los pacientes con úlcera duodenal generan en promedio más ácido que los testigos, en particular por la noche( secreción basal).

#### **Sintomatología.**

El síntoma de la úlcera duodenal sin complicaciones es el dolor epigástrico, el dolor puede describirse como sordo, quemante o agudo, como una vaga molestia con sensación de hambre. El dolor característico ocurre después de comer y usualmente mejora con los alimentos o antiácidos. En la mitad de pacientes se observan síntomas de reflujo. A menudo el vómito se produce cuando el dolor es severo y con frecuencia, alivia los síntomas.<sup>6</sup>

Muchos pacientes describen una úlcera duodenal como un dolor típicamente nocturno que les despierta de madrugada.<sup>21</sup>

#### **2.5.1.1.2. Úlcera gástrica**

Es una ruptura localizada, no neoplásica de la continuidad de la mucosa, que se extiende a través de la túnica o capa muscular de la mucosa de la pared estomacal. Estos pacientes con úlcera gástrica usualmente secretan una menor cantidad de ácido que los sujetos normales, tanto en condiciones basales, como después de la estimulación.

Generalmente se observa en los pacientes con una gastritis difusa, que podría contribuir a la formación de la úlcera. La mayoría de los pacientes con úlcera gástrica experimentan el reflujo del contenido duodenal, incluyendo sales biliares, hacia el estómago. Se ha demostrado experimentalmente que las sales biliares provocan alteraciones de la barrera mucosa, inducen lesiones en la mucosa y conducen a la difusión retrograda de hidrogeniones. Por lo tanto, el reflejo gástrico de las sales biliares podría ser el factor responsable de las lesiones mucosas y la pepsina. La mucosa alterada secreta una menor cantidad de ácido, pero es menos resistente al ácido y la pepsina.

#### **Sintomatología.**

Son similares a la duodenal con pequeñas diferencias, el dolor no mejora con los alimentos, por el contrario se agrava. Una úlcera gástrica puede ser silenciosa y manifestarse por una complicación, hemorragia o perforación, puede haber pérdida de peso en un 40%, anorexia e intolerancia por los alimentos.<sup>6</sup>

#### **2.5.2. Causas de la úlcera péptica**

Las causas de la úlcera péptica son múltiples y probablemente es el fenómeno final de una serie de posibles desequilibrios entre los factores que tienden a agredir la mucosa y la capacidad de esta para defenderse de la agresión. Esos factores potencialmente lesivos pueden ser endógenos, como el propio ácido, la pepsina y las sales biliares, o exógenos, como la colonización por *helicobacter pylori*, el consumo de AINEs.

Los hábitos personales también influyen en la formación de la úlcera, como el consumo de café, el tabaco, gaseosas, alcohol y el estrés, todo esto se asocian con un mayor riesgo de úlcera, por el contrario la leche y el té ha reducido el riesgo. Se valora la posible función de *helicobacter pylori* en el desarrollo de úlcera y se seleccionan agentes terapéuticos, al igual que en el caso de las úlceras gástricas.<sup>6</sup>

##### **2.5.2.1. Alcohol etílico.**

El alcohol es la sustancia psicoactiva más utilizada en el mundo después de cafeína. Su acción afecta virtualmente a todos los órganos del cuerpo, pero su

principal efecto se ejerce sobre el SNC. También se tiene el concepto de que el alcohol es un veneno citoplasmático que causa la muerte de un cierto número de células (neuronas) en cada exposición, ya que tiene la propiedad de ser deshidratante y precipitar las proteínas del citoplasma, siendo capaz de lesionar las células con las que se pone en contacto. La ingesta moderada no acarrea riesgos directos para los diferentes sistemas fisiopatológicos, pero su consumo excesivo o crónico a largo plazo se asocia a numerosos procesos degenerativos e inflamatorios del SNC, además del resto de tejidos como hígado, corazón, músculo esquelético, páncreas o tracto gastrointestinal.

#### **Mecanismo de acción.**

La complejidad y la multitud de los efectos que produce en los sistemas neuronales el etanol depende de la simplicidad de su estructura química. El grupo hidroxilo (OH) favorece la formación de puentes de hidrógeno con aceptores o donadores de electrones de proteínas o cabezas polares de las membranas fosfolipídicas.

Esta formación de puentes de hidrógeno hace al etanol soluble en agua y mediante estos puentes de hidrógeno puede modificar la organización de las moléculas de agua en la matriz extracelular alterando también la solvencia de los ligandos o de los iones que interactúan con las proteínas receptoras. Además, el otro extremo final de la molécula del etanol contiene un grupo lipofílico que puede interactuar con dominios no polares. Por tanto, y al contrario de lo que se cree, el etanol tiene baja solubilidad en lípidos. Se localiza en la región de las cabezas polares y muy poco entre los lípidos de membranas neuronales.

Estas propiedades físico químicas favorecen las fuerzas de interacción del etanol con sustratos biológicos. La genética molecular muestra evidencias de la interacción del etanol con sitios específicos localizados en proteínas de membrana.<sup>22</sup>

#### **Metabolismo.**

Su degradación metabólica es esencialmente por oxidación hepática en un 90-98% y un 2-10% puede ser eliminado por vías accesorias como son el riñón y el pulmón. La mayor parte de alcohol se transforma en acetaldehído por la acción de tres enzimas: Alcohol deshidrogenasa (ADH), el sistema oxidativo microsomal del etanol (MEOS) y el sistema catalasa-peroxidasa.<sup>23</sup>

#### **Toxicidad.**

El alcohol etílico es tóxico para la mayoría de los tejidos del organismo. Su consumo crónico y excesivo se ha asociado al desarrollo del síndrome de dependencia al alcohol, también numerosas enfermedades inflamatorias y degenerativas.

El alcohol etílico es tóxico para el organismo, pero consumido de forma esporádica y a dosis bajas, sus efectos son rápidamente reversibles. Dosis elevada sobre tubo digestivo dan lugar a trastornos de la motilidad esofágica, aparición de reflujo gastroesofágico con todas sus posibles consecuencias, gastritis, trastornos de vaciado gástrico y diarreas.<sup>24</sup>

### **2.5.3. Mecanismos defensivos de la barrera mucosa**

Los factores que participan en este proceso son la secreción de moco y bicarbonato, el flujo sanguíneo de la mucosa gástrica y la capacidad de regeneración celular frente lesión de la mucosa.<sup>6</sup>

#### **Secreción de moco y bicarbonato.**

El moco es una capa de gel viscoso, elástico, adherente y transparente, que cubre toda la mucosa gastroduodenal constituido por glucoproteínas en un 5% y agua en un 95% y secretados por las células epiteliales de la superficie, la función del moco es proteger la integridad de las células de la superficie; lubricar la mucosa e hidratarla mediante la retención de agua y atrapar el bicarbonato para que quede en el interior de la capa de moco, neutralizando la retrodifusión de  $H^+$ . El bicarbonato proviene del intercambio electro neural con ácido clorhídrico en la membrana luminal de las células epiteliales de la superficie. Por cada ion  $H^+$  secretado por la célula parietal, una molécula de  $CO_2$  proveniente de la circulación sanguínea se convierte en bicarbonato. La capa de moco - bicarbonato crea, por tanto, un gradiente de pH desde el medio ácido luminal hasta la neutralidad en la superficie epitelial de la mucosa.<sup>6</sup>

#### **Flujo sanguíneo de la mucosa gástrica.**

El flujo sanguíneo de la mucosa gástrica es superior al de muscular. Contribuye en proporcionar oxigenación celular, soporte energético, aporta bicarbonato a la capa mucosa, diluye los agentes necrosantes que penetran en ella y lo arrastra a la circulación sistémica. Cuando se reducen los niveles de adenosintrifosfato(ATP), disminuye la resistencia de la barrera, así sucede con las denominadas úlceras de estrés.<sup>6</sup>

#### **Restitución celular.**

Tiene la capacidad de reparar el epitelio dañado de la superficie, en un periodo corto. Este proceso se debe a la migración de las células vecinas, hacia las zonas lesionadas. La restitución celular es independiente de la división celular, probablemente requiere que la lámina esté sana. Este proceso exige un flujo sanguíneo adecuado es inhibido ante la presencia masiva de ácido.<sup>6</sup>

## **Prostaglandinas.**

Las prostaglandinas son hormonas locales de origen lipídico que tienen importante significación patológica, si bien incompletamente definidas. Las prostaglandinas son ácidos cíclicos no saturados, que tienen su origen en el ácido graso esencial llamado linoléico, que por reacción se convierte en araquidónico y este en prostanoico para llegar a prostaglandina.<sup>25</sup>

Las prostaglandinas se sintetizan en la mucosa gastroduodenal y juegan un papel clave en el mantenimiento de la integridad de la mucosa (citoprotección). Se ha descubierto que hay varias prostaglandinas endógenas capaces de estimular la producción de mucina, aumentar la secreción de bicarbonato, incrementar el flujo sanguíneo de la mucosa y favorecer los procesos de transporte celular.

Además de estas acciones citoprotectoras, algunas prostaglandinas, en dosis más elevadas, inhiben la secreción de ácido clorhídrico.<sup>26</sup>

### **2.6. Tratamiento**

El objetivo del tratamiento es conseguir el alivio rápido de síntomas, promover la cicatrización de la lesión y evitar la recaída, anulando la posibilidad que se desarrollen complicaciones. El tratamiento con fármacos antisecretores resulta muy eficaz ya que consigue el alivio de los síntomas y la cicatrización de las lesiones.

El tratamiento de mantenimiento con antagonistas de los receptores H<sub>2</sub> de la histamina, a la mitad de la dosis utilizada en el tratamiento de cicatrización reduce significativamente las recaídas ulcerosas.

El tratamiento farmacológico se clasifica de la siguiente manera:

- **Inhibidores de la secreción ácida:** como (antagonistas del receptor H<sub>2</sub> de la histaminas, inhibidores de bomba de protones, anticolinérgicos).
- **Neutralizantes de la secreción ácida:** antiácidos(bicarbonato de sodio, hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio).
- **Antisecretores y protectores de la mucosa:** como (sales de bismuto coloidal, sucralfato, análogos de la prostaglandinas, acexamato de zinc).<sup>6</sup>
- **Erradicadores del *helicobacter pylori*:** Están la triple terapia de erradicación (7 días) inhibidor de la bomba de protones + claritromicina 500mg/12h + amoxicilina1g/12h o metronidazol 500 mg/12h.<sup>20</sup>

#### **2.6.1. Los inhibidores de bomba de protones**

La identificación de la estimulación de la adenosina trifosfatasa por el hidrógeno y potasio de las células parietales y el reconocimiento del rol prominente del *Helicobacter pylori* en la patogénesis de la úlcera gastroduodenal han liderado una nueva

revolución en la comprensión y tratamiento de esta enfermedad. Se establece que el omeprazol, lanzoprazol y pantoprazol participan de una estructura común, tienen un mismo modo de acción: inhiben la secreción gástrica por unirse covalentemente a la bomba de protones  $H^+/K^+ATPasa$ , pero cada uno difiere en la farmacocinética y farmacodinamia, influencia por alimentos y antiácidos, eficacia clínica y potenciales interacciones por drogas, metabolismo, efectos específicos sobre enzimas hepáticas y unión covalente a la bomba de protones de la célula parietal vía la producción de enlaces covalentes de disulfide.<sup>27</sup>

## **2.7. Omeprazol**

Debido a que el omeprazol desde su comercialización en diferentes países se ha convertido en uno de los medicamentos antiulcerosos más utilizados y que hasta ahora existían escasos ensayos clínicos controlados y un número insuficiente de enfermos para sustentar las indicaciones adecuadas del omeprazol. El omeprazol es un derivado bencilimidazólico sustituido, con alta potencia y selectividad en su acción inhibitoria de la secreción ácida gástrica, tanto basal como estimulada, en animales y el hombre, constituye el primer elemento de una serie de nuevos fármacos antiulceroso cuyo mecanismo único de actuación para reducir la secreción ácida es la inhibición de la enzima hidrógeno/potasio adenosina trifosfatasa o ( $H^+/K^+$ )  $ATPasa$  gástrica; su selectividad de acción se basa en que sólo actúa sobre la enzima de origen gástrica.

La actuación de la bomba de protones se produce en la fase final común de los procesos secretores gástricos, de lo que se infiere que el omeprazol puede reducir la acidez intragástrica, independientemente de la naturaleza del estímulo primario. La inhibición de la acidez gástrica es un potente indicador de la utilidad terapéutica de los fármacos antiulceroso y, por tanto, se considera que el omeprazol es una herramienta importante en el tratamiento de las úlceras pépticas.

Es un polvo blanco o blanquecino, cristalino que funde a  $155^{\circ}C$  con descomposición posee carácter básico débil y es libremente soluble en lípidos, etanol y metanol y muy poco soluble en agua. La estabilidad de la sustancia está en función del pH: se degrada rápidamente en medio ácido, pero permanece prácticamente estable en condiciones alcalino.

### **Mecanismo de acción**

La bomba de protones es una enzima que utiliza la energía liberada por el metabolismo del ATP para extraer protones a través de la membrana, intercambiándolos por iones potasio.

Está constituido por dos subunidades: la alfa, de 111.000 Dalton que cataliza la hidrólisis de ATP y transporta los iones, y la beta, más pequeña y con función desconocida hasta ahora.

En estados no secretores, la enzima está contenida en vesícula celulares citoplasmáticas carentes de potasio; las membranas vesiculares son impermeables a los iones potásicos por lo que la bomba está inactiva. La activación de las células parietales mediante el estímulo adecuado, altera las membranas vesiculares y dirige la enzima hacia los canalículos secretores de la membrana plasmática de las células parietales con lo que se expone al contacto con los iones potasio extracelulares y, a consecuencia del incremento asociado de la permeabilidad de la membrana al potasio, las células son capaces de segregar ácido hasta conseguir un pH de 1,0.

Existen al menos tres tipos de estimulación: colinérgica o vagal, histaminérgica, por lo que cualquier antagonista individual de uno o más de los tres tipos de receptores bloqueara parcialmente la secreción ácida. Por último, la inhibición de la bomba de protones gástrica, que constituye la fase terminal de la secreción de ácido clorhídrico por las células parietales debe bloquear la secreción ácida gástrica en mayor proporción.

El omeprazol es una base débil lipofílica con un pK de 4,0. A un pH de aproximadamente 7, el omeprazol no presenta carga eléctrica y es altamente liposoluble, por lo que puede atravesar las membranas celulares con facilidad. Cuando alcanza la célula parietal, atraviesa la membrana celular por difusión pasiva; en los canalículos secretores de estas células en fase activa, el fármaco está expuesto a pH menor de 2,0 a partir del cual el omeprazol se ioniza por un proceso de protonación, originando una molécula activa estable a pH ácido llamado sulfenamida que no es lipofílica y cuya carga positiva le impide atravesar la membrana de la célula parietal, siendo acumulado y concentrado en el canalículo.

El omeprazol como tal, es inactivo pero en medio ácido, al pasar a la forma activa sulfenamida, reacciona formando una unión covalente mediante los grupos sulfhidriilo (tiol) de los radicales de la cisteína de la superficie extracelular de su subunidad alfa y la H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>- ATPasa, inhibiendo la actividad de esta última de forma irreversible. Esta acumulación es esencial para el efecto del omeprazol, pues permite conseguir un efecto prolongado.<sup>28</sup>

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Ubicación**

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Farmacología y Farmacognosia de la escuela de la formación profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, del departamento de Ayacucho ubicado a 2750 m.s.n.m., se realizó dicha investigación durante los meses de noviembre de 2013 a abril del 2014.

#### **3.2. Materiales**

##### **3.2.1. Población**

Plantas de la especie de *Bixa orellana* L. "achiote" fueron recolectados en el pueblo de Balsamuyoc del distrito de Sivia ubicado a 350 m.s.n.m., provincia de Huanta, región Ayacucho, el mes de diciembre de 2013.

##### **3.2.2. Muestra**

Dos kilogramos de hojas de *Bixa orellana* L. "achiote", fueron recolectadas en horas de la mañana.

Se seleccionaron las hojas que no estaban dañadas, ni maltratadas y aparte se recolectó una rama de esta planta con hojas y flores íntegras para su identificación botánica se dio en el *Herbarium Huamangensis* a cargo de la Bga. Laura Aucasime Medina de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

##### **3.2.3. Material biológica**

Se utilizó 30 cobayos con un peso aproximado de 550-650 g machos de la raza nativa, procedente del Instituto Nacional de Investigación Agraria -Ayacucho.

#### **3.3. Recolección y procesamiento del material vegetal.**

##### **3.3.1. Recolección de muestra**

Se recolectaron las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" en horas de mañana seleccionando las hojas en buen estado antes de floración.<sup>29</sup>

### **3.3.2. Lavado y secado**

El lavado de las hojas se realizó con abundante agua, procediendo a una desinfección con gota de hipoclorito de sodio al 1% en un balde de agua por 5 minutos para eliminar microorganismos, cuya presencia puede ser una causa de contaminación posterior; en seguida lavado para eliminar hipoclorito de sodio residual se utilizó abundante agua.

El secado se realizó solamente de las muestras íntegras, durante dos semanas a una temperatura ambiente, bajo ventilación y sombra, sobre papel kraft para mantener sus propiedades químicas y farmacológicas.

### **3.3.3. Molienda**

Una vez seca la muestra se procedió a molienda, empleando un molino de metal.

### **3.3.4. Obtención del extracto acuoso.**

#### **3.3.4.1. Maceración del extracto hidroalcohólico de las hojas**

Se utilizó dos kg de muestra molida, fue vertido en un frasco color ámbar con etanol al 80%, se dejó macerar por 14 días. Se procedió a la filtración con sistema al vacío utilizando papel whatman, se concentró en baño maría a una temperatura de 50°C y finalmente se dejó en una estufa a 40°C.

#### **3.3.4.2. Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios**

Se realizó las reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico.<sup>30</sup>

**Ensayo de dragendorff:** Para reconocer la presencia de alcaloides, al extracto se le añadió una alícuota de ácido clorhídrico concentrado (calentó suavemente y se dejó 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 naranja (+++).

**Ensayo de baljet:** Para reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, al extracto se le añadió 1 ml del reactivo, un ensayo positivo es cuando aparece una coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente.

**Ensayo de Lieberman burchard:** Para reconocer la presencia de triterpenos y/o esteroides; se disolvió el extracto en 1 ml de cloroformo. Se adicionó 1 ml de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared de tubo de ensayo se dejó resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tuvo 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 la espuma:** para reconocer la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. El extracto se diluyó cinco veces su volumen en agua y se agitó la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. Un ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persiste por más de 2 minutos.

**Ensayo del tricloruro férrico:** para reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos. Si el extracto se realizó con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto se le adicionó 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 roja - vino, compuestos fenólicos en general.

Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos de tipo pirocaticólicos.

Desarrollo de una coloración azul, taninos de tipo pirogalotánicos.

**Ensayo de shinoda:** para reconocer la presencia de flavonoides, si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluyó con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y una tira pequeña de magnesio metálico. Después de la reacción se esperó 5 minutos, se añadió 1 ml de alcohol amílico, se mezclan las fases y se dejó 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:** para reconocer la presencia de glicósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto en etanol se mezcló con 1 ml del reactivo y se dejó reposar durante 5 – 10 minutos. En un ensayo positivo se forma un anillo de una coloración rojo y/o violácea, persistente durante 1 – 2 horas.

**Ensayo de catequina:** para reconocer la presencia de catequinas. En papel de filtro se colocó una gota del extracto, se le añadió una gota de HCl más una gota de bicarbonato de sodio, se dejó secar por varios minutos para observar en luz UV. Un ensayo positivo se considera cuando da coloración verde fluorescencia.

### **3.4 Procedimiento experimental**

#### **3.4.1 preparación de los cobayos**

Los cobayos fueron sometidos previo ayuno con solución agua *ad libitum*, durante 24 horas previas a la experiencia estas fueron distribuidas en forma aleatoria en 6 grupos, cada grupo con cinco repeticiones a los cuales se aplicaron las dosis respectivas de acuerdo al diseño.

### **3.4.2. Determinación del efecto antiulceroso.**

**Fundamento:** El etanol absoluto al igual que otros agentes irritantes potentes como ácido fuerte (HCl), base fuerte (NaOH), solución hipertónica (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 glicoproteica. Así mismo, disminuyen el 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 anti-secretoras, por lo que es independiente de la acción que pueden tener sobre la secreción clorhidrogénica. La administración de una sola dosis de etanol absoluto produce, si el vaciado del estómago 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 estómago. Este método es prácticamente reproducible en el 100% de los casos.

**Método:** para la inducción de lesiones gástricas, se usó la técnica propuesta por Lee y citado por el Cytel (1995), para lo cual se usó alcohol 96% administrado vía orogástrica, mediante canulación, a dosis de 1 ml/kg.

#### **Test de ulceración:**

Es la medida del número de úlceras, hemorragias, líneas e inflamaciones, volumen del contenido gástrico y pH del contenido gástrico inducida por el etanol.

#### **Procedimiento**

- Aclimatación de los animales.
- Antes de iniciar el experimento, los animales son pesados y marcados. Se clasificaron aleatoriamente los animales en grupos homogéneos, y se trabajaron como mínimo cinco por grupo.
- Los animales se mantuvieron en ayunas durante 24 horas, dejándolos únicamente con agua *ad libitum*
- Los productos (agua, omeprazol y extracto) fueron administrados por vía oral.
- Transcurrida 30 minutos, se administró el agente necrosante por vía oral mediante canulación. En una proporción de 1 ml/kg de etanol al 96%.
- Transcurrido una hora después de la administración del etanol, los animales fueron sacrificados por desnucamiento.

- Inmediatamente se les efectúa laparotomía en el tercio medio de la línea abdominal, extrayéndole el estómago que es abierto por la curvatura mayor con la finalidad de obtener el contenido gástrico para su posterior determinación del pH y el volumen.
- En seguida se lava cuidadosamente los estómagos con una corriente suave de agua. Luego se extendió los estómagos sobre una tabla de tecnopor utilizando alfileres e inmediatamente se determinó el pH, el cual fue homogenizado en 4 ml de agua destilada.
- Finalmente se observó las úlceras formadas y se procedió a la valoración utilizando la escala de marhuenda.

### **3.4.3 Diseño experimental**

Es un diseño completamente randomizado de estímulo creciente para lo cual se empleó seis grupos y cada grupo con cinco repeticiones a la cual se aplicaron dosis creciente del *Bixa orellana* L "achiote".

- **Grupo I (basal):** Vehículo, agua destilada. Para observar la mucosa gástrica sin lesiones.
- **Grupo II (control):** Suero fisiológico, 1 ml/100g de peso para observar las lesiones producidas por el etanol.
- **Grupo III (patrón):** Fármaco de referencia, omeprazol 20 mg/kg de peso más el etanol.
- **Grupo IV:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. a una dosis de 100 mg/kg más el etanol.
- **Grupo V:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. a una dosis de 200 mg/kg más el etanol.
- **Grupo VI:** Extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. a una dosis de 400 mg/kg más el etanol.

## **3.5 Parámetros evaluados**

### **3.5.1 Se evaluó en contenido gástrico**

#### **a. N° de ulceraciones**

Una vez extraído, lavado y extendido los estómagos, se observó macroscópicamente el número de ulceraciones producidas por el etanol y luego se procedió a medir con una regla.

#### **b. pH**

El pH del contenido gástrico se midió con la ayuda de un equipo de medida del pH-metro.

### **c. volumen (ml)**

Una vez obtenido el contenido gástrico se midió el volumen en una probeta.

#### **3.5.2 Actividad antiulcerosa**

Los datos obtenidos fueron analizadas mediante la escala de Marhuenda propuesta en el manual de Cytel (1995) y sirvió para calcular el índice de ulceración gástrico que es el promedio de los tratamientos.<sup>31</sup>

- 0: sin lesión.
- 1: úlceras hemorrágicas, líneas dispersas y longitud menor de 2 mm.
- 2: una úlcera hemorrágica, línea de 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.
- 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 grupo control, según la siguiente expresión:

$$\%IIUG = (IU_C - IU_P / IU_C) \times 100$$

Siendo:

%IIUG: porcentaje de inhibición en la inducción de la úlcera gástrica

IU<sub>C</sub>: índice de ulceración medio del grupo control

IU<sub>P</sub>: índice de ulceración medio del grupo problema o patrón.

#### **3.6 Análisis de datos**

Los datos obtenidos son evaluados como: porcentaje de inhibición, pH y volumen del contenido gástrico.

Para análisis estadístico se utilizó el análisis de varianza (ANVA) y prueba de Tukey, a un nivel de significancia de 95%.

#### **IV. RESULTADOS.**

Tabla 1: Metabolitos secundarios presentes y ausentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho – 2014.

Metabolitos Secundarios	Reactivos y/o Reacciones	Resultados	Observaciones
	Dragendorff	+++	Precipitado
Alcaloides	Mayer	+++	Precipitado coposo
	Wagner	+++	Precipitado
Taninos y fenoles	Cloruro férrico	+++	Coloración verde intensa
Flavonoides	Shinoda	++	Coloración rojo cereza
Aminoácidos Libres	Ninhidrina	-	No hay coloración
Triterpenos y Esteroides	Liebermann-Burchard	++	Coloración rosado- azul
Catequinas	Catequinas	-	Ausencia de mancha verde-carmelita a la luz UV
Resinas	Resinas	-	No hay precipitado
Saponinas	Espuma	-	Ausencia de espuma

**Leyenda:** (-): Ausente (+): Escasa (++) : Buena (+++) : Excelente

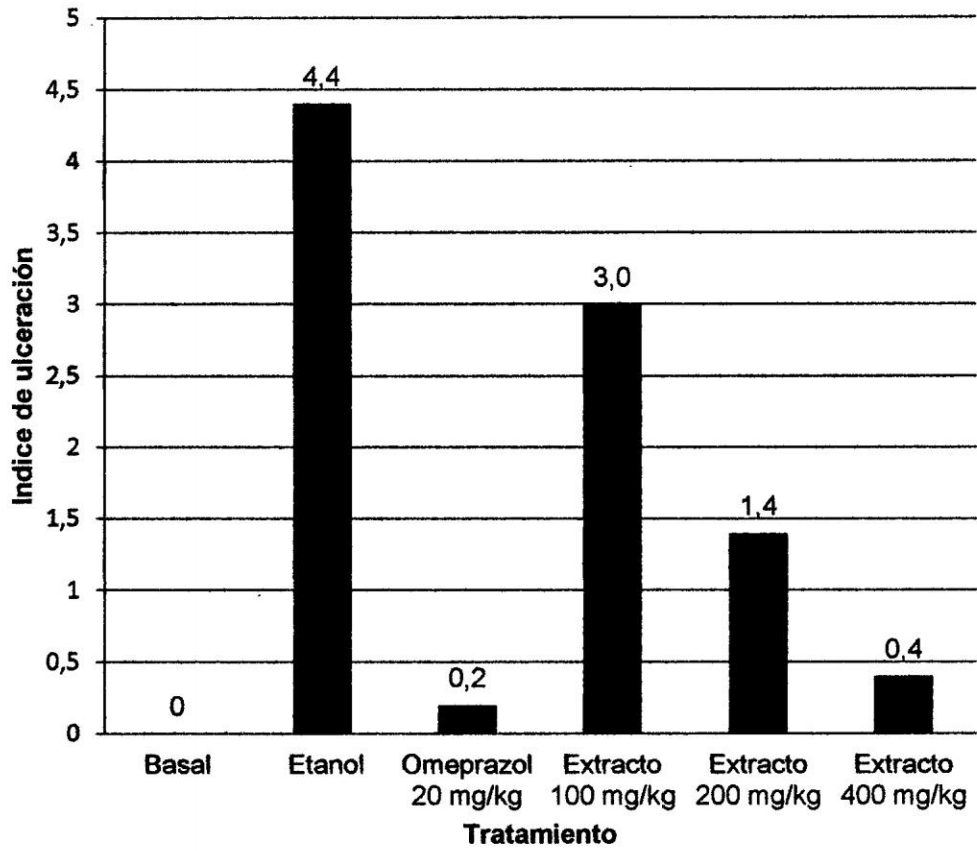
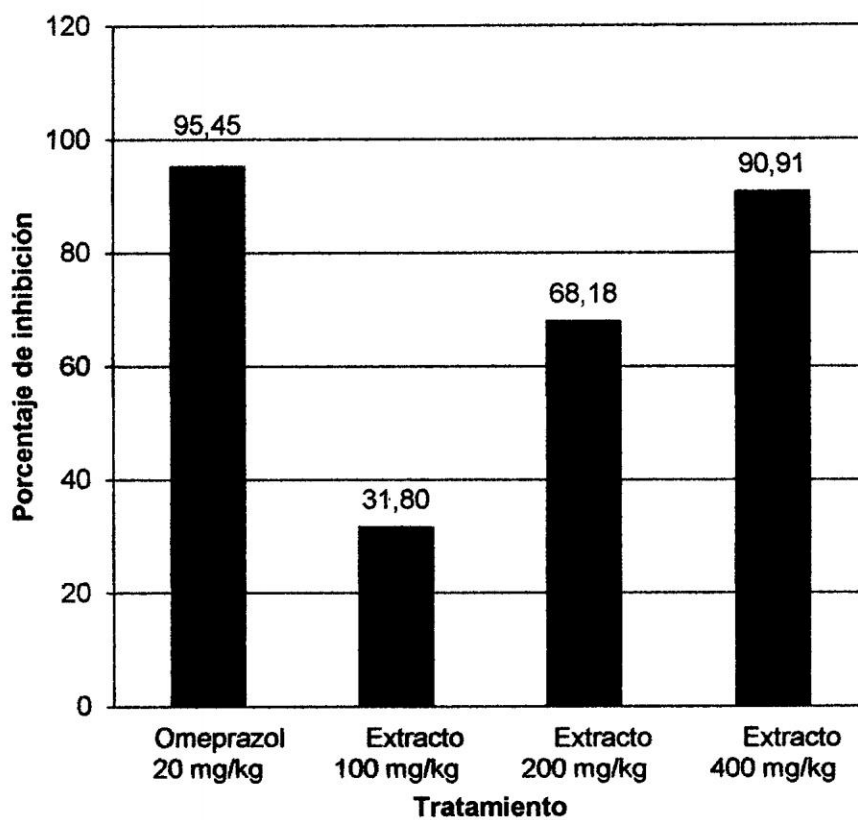
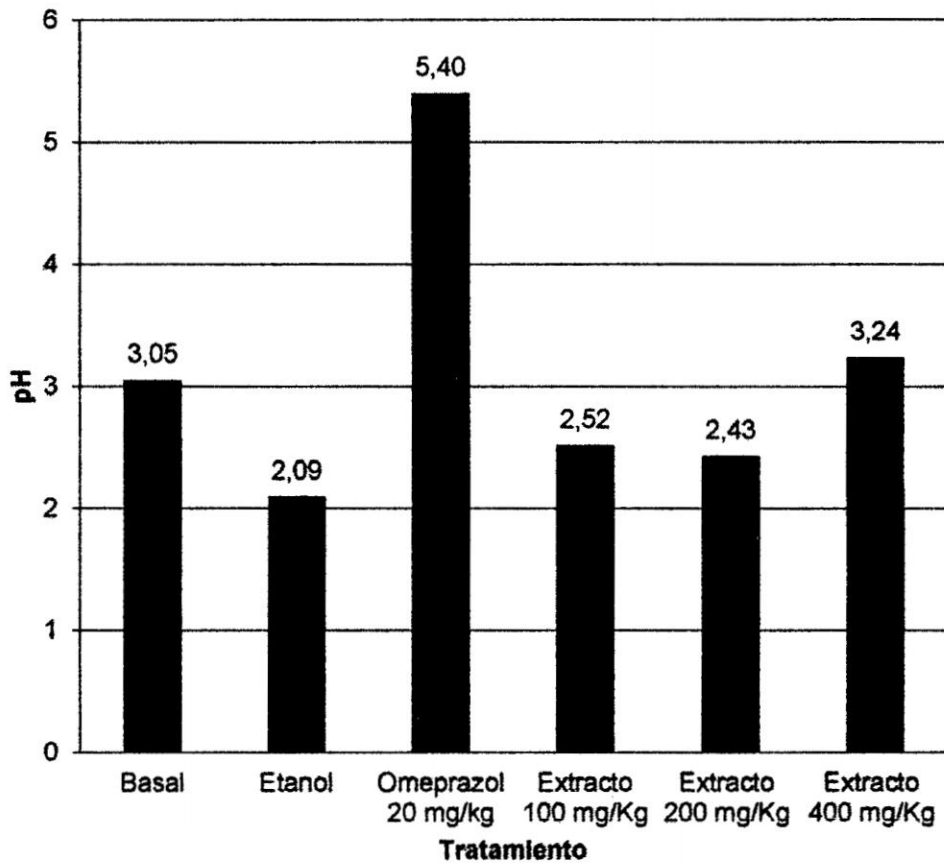


Figura 2: Índice de ulceración gástrica en cobayos según la escala de Marhuenda por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho – 2014



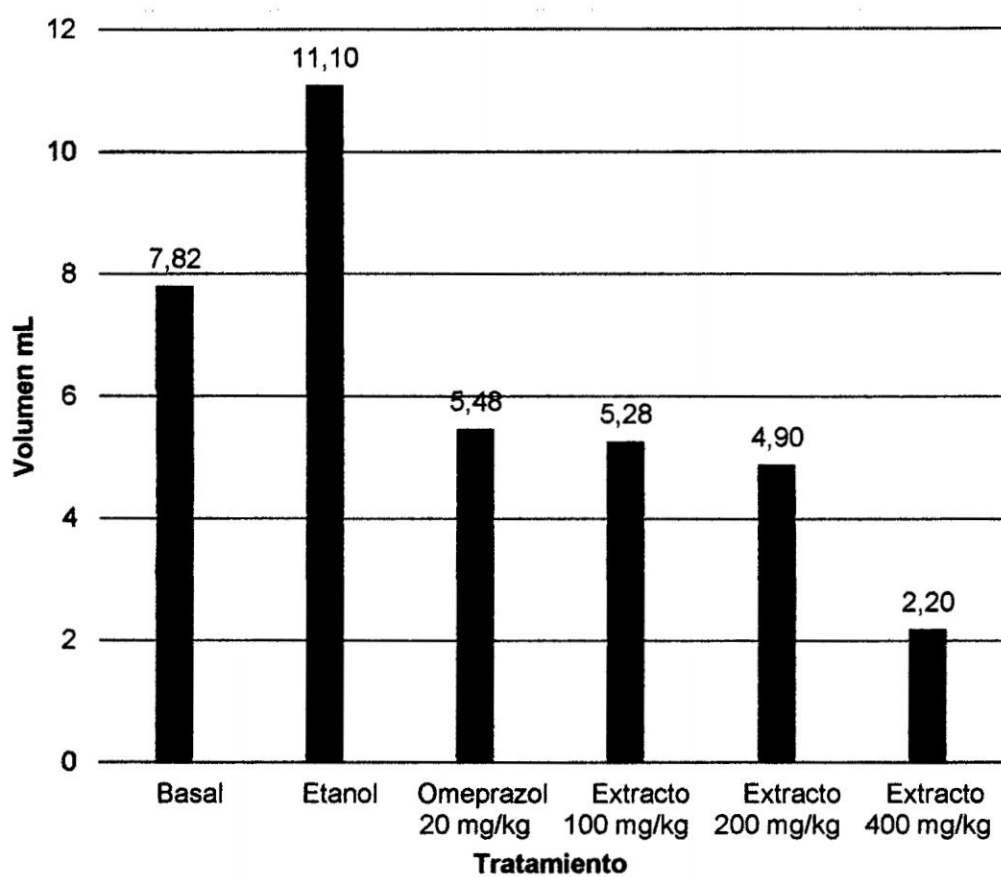
P<0,05

Figura 3: Porcentaje de inhibición de úlceras gástricas por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho – 2014.



P<0,05

Figura 4: pH del contenido gástrico por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote", Ayacucho – 2014.



P<0,05

Figura 5: Volumen del contenido gástrico por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho – 2014.

## V. DISCUSIÓN

Las plantas medicinales han formado parte importante de la historia y la cultura de los pueblos indígenas. El uso y aplicación de remedios para el alivio de enfermedades, constituye un conocimiento que se transmite en forma oral de generación en generación. En la actualidad el estudio científico de las plantas medicinales es ya una preocupación en varias instituciones, instituciones que consideran que la fitoterapia es una alternativa útil para resolver problemas de salud.<sup>32</sup>

Las plantas mediante el proceso de la fotosíntesis producen las sustancias necesarias para todos los ciclos vitales de la naturaleza.

Mediante intrincados y cada vez mas conocidos mecanismos bioquímicos se constituyen en verdaderas factorías químicas de carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y oligoelementos como el hierro y el magnesio; y adicionalmente mantienen la atmósfera rica en oxígeno y deficiente en dióxido de carbono, permitiéndonos respirar.

Pero además de producir sustancias como los carbohidratos, las proteínas y las grasas, que los investigadores han denominado metabolitos primarios, existen otras que no se encuentran tan distribuidas y que se hallan restringidas solo a ciertas especies, géneros o familias como son los alcaloides, las saponinas esteroideas, los aceites esenciales, los terpenoides, etc. A los cuales se les denomina metabolitos secundarios.<sup>33</sup>

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 correspondiente. Muchos de estos compuestos son solubles en soluciones alcohólicas(etanol o metanol), como son: terpenos, saponinas, ácidos fenólicos, flavonoides y taninos, con los cuales se ha comprobado su efecto gastroprotector, antisecretor, cicatrizante, antiinflamatorio, inhibidor de la migración de células inflamatorias<sup>29</sup>. Los extractos hidroalcohólicos son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en

drogas, en donde la concentración de principios activos es óptima, facilitándose la dosificación de los mismos. Es así que la planta en estudio se llegó a extraer con alcohol de 80°. <sup>30</sup>

En el estudio fitoquímico realizado al extracto hidroalcohólico de hojas de *Bixa orellana* (Tabla 1), se comprobó la presencia de metabolitos secundarios como son: flavonoides, taninos, fenoles, alcaloides, triterpenoides y esteroides. Aquí podemos resaltar la presencia de metabolitos como los taninos con una coloración verde intensa, triterpenos y/o esteroides con una coloración rosado azul, así mismo se evidencia la presencia moderada de flavonoides y alcaloide. (Anexo 7). Los resultados alcanzados también concuerda con Huamán, (2009) al encontrar en las hojas de *Bixa orellana* la presencia de flavonoides, taninos y fenoles. La principal acción y uso de los taninos es como astringente; debido a su propiedad de precipitar las proteínas, de la piel, proteínas salivales, etc.; por sus propiedades astringentes se usan como cicatrizante. <sup>34</sup>

Los flavonoides tienen un efecto gastroprotector y antisecretor el primero actúa incrementando la cantidad y calidad de mucosa gástrico esto al aumentar su contenido glicoproteico y estimulando la síntesis de prostaglandinas endógenas; en la acción vasoprotectora que implica una mejor microcirculación, lo que favorece el proceso de cicatrización y la neoformación de vasos. El segundo actúa disminuyendo el volumen del jugo gástrico y la pepsina; por lo que posiblemente podría tener efecto antiulceroso <sup>29</sup>. Las propiedades y efectos de los flavonoides en el ser humano son cada vez más conocidos. Se les reconocen propiedades antioxidantes, antivirales, antiinflamatorias y anticancerígenas. <sup>35</sup>

Los flavonoides tienen acción antiinflamatoria e influencia en el metabolismo del ácido araquidónico. <sup>36</sup>

En un estudio realizado sobre el efecto antiulceroso de una fracción enriquecida de flavonoides del extracto *Alchornea castaneaefolia*, se observó un incremento en los niveles de prostaglandinas, siendo la quercetina el flavonoide más predominante en dicha fracción enriquecida, que a su vez se encuentra presente en el achiote <sup>3</sup>. En un estudio realizado sobre el efecto del extracto metabólico, semejante al nuestro, sobre la función neurofarmacológica del aparato digestivo en ratones, encontrando una reducción de la motilidad intestinal. <sup>37</sup>

También, han demostrado actividad antioxidante, fundamento de la producción contra la acción de radicales libres producidos por el alcohol, el cual genera inflamación, necrosis e inducción de apoptosis. <sup>38</sup>

En la Figura 2, y en el Anexo 15, se muestra el índice de ulceración según la clasificación de la escala de marhuenda, en el cual el etanol alcanza un índice de 4,4; que significa la presencia en forma de úlceras en forma de bandas hemorrágicas que son menores de 5 mm y diámetros menores de 2 mm. Con este valor se demuestra que se logró inducir experimentalmente daño a la mucosa gástrica. El etanol es un agente irritante muy potente, produce lesiones necrosante en la mucosa gástrica como consecuencia de su efecto tóxico directo. Actúa reduciendo la secreción de bicarbonato y la producción de moco, alterando su composición glicoproteica; así mismo disminuye el gradiente de pH ocasionando daño gástrico.<sup>31</sup> El omeprazol que es un inhibidor de bomba de protones, de la secreción ácida gástrica, obtuvo un índice de ulceración de 0,2; que significa la ausencia de daño gástrico. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* "achiote", a dosis de 400 mg/kg mostró índice de 0,4; que indica la casi ausencia de daño gástrico en comparación con la dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg que muestran un índice de 3,00 y 1,40 indicando que no hubo protección al daño gástrico inducido por etanol. Las diferencias entre los tratamientos fueron confrontados estadísticamente a través de análisis de varianza, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) (Anexo 17) y la prueba de Tukey muestra que el extracto a dosis de 200 mg/kg, 400 mg/kg y el omeprazol, tienen un comportamiento biológicamente similar a las condiciones basales (Anexo 16). Por, tanto podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico a dosis de 400 mg/kg, ejerce un efecto protector sobre el daño gástrico inducido por etanol a diferencia de 100 mg/kg que no demostró efecto protector ya que se obtuvo un índice de ulceración similar al del etanol. Además podemos demostrar que a mayor concentración menor es el índice de la ulceración. Los fármacos inhibidores de bomba de protones, con alta potencia y selectividad en su acción inhibitoria de la secreción ácida gástrica, tanto basal como estimulada, en animales y el hombre; en consecuencia disminuye la producción de ácido y favorece la cicatrización de la úlcera.<sup>39</sup>

En un estudio realizado sobre el efecto del gel de *aloe vera* comparado con una solución de omeprazol en el tratamiento de úlcera péptica inducida en *rattus rattus-var. albinus*. se encontró que en los grupos de indometacina el 60% tuvieron gran cantidad de petequias; mientras en el grupo problema omeprazol 20 mg/kg y grupo problema *aloe vera* 10 ml/kg tuvieron 80% y 40% respectivamente no presentaron petequias; además, el grupo control presenta 40% de lesiones moderadas. se observó que *aloe vera* posee efecto protector de la mucosa.<sup>40</sup>

Los resultados del porcentaje de actividad gastroprotectora para el extracto acuoso de llantén en relación al número de lesiones producidas por el agente ulcerogénico es de 64,63% y el porcentaje de actividad gastroprotectora para el extracto etanólico de las mismas es de 92,34%. Con respecto al grado de lesiones el porcentaje de actividad para el extracto acuoso es de 90,72% y para el extracto etanólico es de 98%. En el presente trabajo de estudio se observó que a una dosis de 500 mg/Kg, los extractos acuosos y etanólicos de *Plátano mayor*, protegen significativamente la mucosa gástrica de ratas contra el daño inducido por etanol, frente al omeprazol como medicamento control.<sup>41</sup>

En un estudio realizado sobre el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *bougainvillea spectabilis* Will. "bougainvilia", se observó el índice de ulceración de la ranitidina fue de 1,4; por lo que protegió de manera casi parcial. La administración de los extractos de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg mostraron índices de ulceración de 3,60; 2,60 y 2,0 respectivamente; se observó la de mejor protección del daño a la mucosa gástrica fue a dosis de 400 mg/kg similar a la ranitidina.<sup>42</sup>

En un estudio realizado sobre el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* "achiote", se observó que la administración vía orogástrica a las diferentes dosis ensayada (200 y 400 mg/kg) ejerce un efecto inhibitorio en la formación de lesiones gástricas causadas por la injuria del etanol 96% siendo efecto dosis dependiente. Las dosis fueron cuantificadas con la escala de Marhuenda, demostraron una inhibición significativa de las lesiones gástricas a la dosis de 100 ( $p < 0,05$ ) y a 200 y 400 mg/kg ( $p < 0,01$ ), comparados con el control. El tratamiento de ranitidina no redujo de manera significativa las lesiones gástricas (6,5%). La escala es similar que se utilizó en el presente investigación, en contraste con este autor el omeprazol redujo significativamente las lesiones gástricas, esto podría ser debido a la dosis y la vía de administración usada.

En un estudio realizado sobre el efecto antiulceroso de las hojas de *buganvilia (bougainvillea glabra choisy)*, se determinó mediante un modelo de úlcera inducida con alcohol y se utilizó omeprazol (10 mg/kg) como estándar. Estudios que se realizaron con dos niveles de dosis, 200 y 400 mg/kg, respectivamente. El extracto acetónico mostró una marcada actividad antiulceroso (70 y 83,4%) de protección con dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg, respectivamente), la cual se puede comparar con el fármaco estándar (omeprazol) utilizado, seguido por el extracto etanólico (26,8 y 46,8%) respectivamente. Se descubrió que el efecto dependía de dosis.<sup>43</sup>

En el presente estudio en cobayos, la administración oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* "achiote", a dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg ejercen mayor efecto inhibitorio en la formación de lesiones gástrica con un 68,18% y 90,91% (Anexo 9), causadas por la injuria del etanol al 96%; este porcentaje en relación al omeprazol, el cual muestra mayor capacidad de inhibición, así tenemos la dosis de 100 mg/kg con un valor de 31,80% el cual demuestra que no tiene protección a esta dosis.

En la Figura 4 y en el Anexo 18, se muestra la variación de pH gástrico, en el cual el etanol disminuyó el pH a 2,09 de las condiciones basales que tiene un pH de 3,05.

Con este valor se demuestra experimentalmente que el etanol disminuye 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.<sup>31</sup>

El omeprazol que es un inhibidor de la bomba de protones, forma parte de un grupo de compuestos que inhiben el enzima adenosinatrifosfatasa  $H^+/K^+$ , son inhibidores mas potentes de la secrecion ácida.

Por tanto de esta manera inhibe de forma selectiva e irreversible la bomba de protones y la secreción ácida, por ende se da la disminución de la producción del ácido clorhídrico y del aumento de pH a 5,40. El pH del contenido gástrico del grupo que recibió el tratamiento con omeprazol se elevó significativamente, lo que comprueba la inhibición de la enzima adenosinatrifosfatasa  $H^+/K^+$ , reduciendo la secreción de HCl por la mucosa gástrica, estos resultados también fueron encontrados en los estudios.<sup>44</sup>

Se seleccionó al omeprazol como control positivo debido a que este medicamento es ampliamente utilizado como antiulceroso, antisecretor y gastroprotector. Además otros estudios realizados demuestran que el omeprazol presenta mejor actividad gastroprotectora en relación a la ranitidina, y el sucralfato por su actividad antisecretora. Según se menciona que cuando no se secreta ácido tampoco se secreta pepsina y aunque se secretara, la falta de ácido le impediría funcionar, porque la pepsina requiere un medio ácido.<sup>45</sup>

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* "achiote", a dosis de 400 mg/kg, aumentó el pH a 3,24 que significa la disminución del ácido clorhídrico y el aumento de pH en comparación a la dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg, quien al

mostrar un pH de 2,52 y 2,43 respectivamente indica que no produjo protección contra el daño gástrico producido por el ácido clorhídrico, inducido por el etanol. Las diferencias entre los tratamientos fueron confrontados estadísticamente a través del análisis de varianza, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) (Anexo 17) y la prueba de Tukey que muestra que el extracto a dosis de 400 mg/kg, tienen un pH similar al pH de las condiciones basales y se diferencia del resto de los grupos (Anexo 18).

Por tanto, podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico a dosis de 400 mg/kg, ejerce un mecanismo inhibitor selectiva de la enzima  $H^+/K^+$  ATPasa casi parecido al de omeprazol, al aumentar el pH disminuido por el etanol logrando un pH similar al pH de las condiciones basales, a diferencia de la dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg que demostró un pH parecido al producido por el etanol y que está por debajo de las condiciones basales. Además podemos afirmar que a mayor concentración mayor es el pH.

En un estudio realizado sobre el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *bougainville aspectabilis* Will. "bougainvilia", se observó que hay un incremento de pH en los tratamientos administrados con el control y el extracto de 400 mg/kg con valores de 5,0 y 4,68 respectivamente; mientras que los tratamientos el blanco, extracto 100 mg/kg y 200 mg/kg presentan pH de 3,09; 3,60; 3,72. A dosis de 400 mg/kg ejerce mejor la protección antihistamínico comparado con el de la ranitidina al incrementar el pH reducido por el etanol; comparado con los otros tratamientos del extracto de 100 mg/kg y 200 mg/kg los cuales no logró reducir los niveles de pH.<sup>42</sup>

En un estudio realizado sobre el Efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* "achiote" en la secreción gástrica de ratas, no modificó significativamente el pH del jugo gástrico, con respecto al control, lo que probablemente signifique que los metabolitos secundarios presentes en el extracto no son antagonistas de los receptores  $H_2$ . El pH del jugo gástrico del grupo que recibió el tratamiento con ranitidina se elevó significativamente, lo que comprueba el efecto antagonista de los receptores  $H_2$ , reduciendo la secreción de HCl por la mucosa gástrica. En la determinación de la acidez total del jugo gástrico, se puede apreciar que a dosis de 400 mg/kg del extracto se incrementó la concentración de  $H^+$  hasta en 166,6%.

En el grupo que recibió el tratamiento con la ranitidina 100 mg/kg, la concentración de  $H^+$  fue menor a las halladas en los grupos con tratamiento a las diferentes dosis

del extracto de *Bixa orellana*. Esto se debería a que el fármaco compite de forma reversible con la histamina, a nivel de los receptores H<sub>2</sub>, lo que conlleva a una reducción de la secreción del jugo gástrico y a la disminución de la concentración de hidrogeniones; estos resultados también se encontró en trabajos similares, con los extractos.

La actividad antisecretora de omeprazol y su mecanismo de acción muestran que es un potente inhibidor selectivo de la bomba de protones de las células parietales del estómago, por lo que reduce la secreción del ácido gástrico, por inhibición de la enzima H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPasa, uniéndose a la bomba de protones localizada en la membrana de las células parietales gástricas. Según los resultados obtenidos en la prueba de secreción, evaluando el pH, se evidenció un incremento significativo en el grupo que recibió el aceite de copaiba, (2,8 ±0,8). Sin embargo, en el grupo que recibió omeprazol el incremento fue aún mayor, alcanzando un pH de 6,0±0,1, lo cual condicionaría el riesgo de padecer infecciones de respiratorio, debido a que la acidez gástrica es una importante barrera contra la invasión de bacterias.<sup>46</sup>

En la Figura 5 y en el Anexo 19, se muestra diferentes volúmenes del contenido gástrico, en el cual el etanol alcanza un volumen de 11,10 ml, con este valor se demuestra experimentalmente el aumento del contenido gástrico y por tanto mayor producción de ácido clorhídrico y de lesiones gástricas inducidas por el etanol. Como se observa, el omeprazol al ejercer su mecanismo de acción, disminuye significativamente el volumen del contenido gástrico a 5,48 ml.

El extracto hidroalcohólico a dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg, produce una disminución de volumen de contenido gástrico a 5,28 ml; 4,90 ml y 2,20 ml que también ejercen su efecto inhibitor frente a la enzima H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa de este modo disminuye la secreción gástrica y produce un efecto antisecretor.

Las diferencias entre los tratamientos fueron confrontados estadísticamente a través del análisis de varianza, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (p< 0,05) (Anexo 17) y la prueba de Tukey que muestra que el extracto a dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg y el omeprazol, tienen un volumen de contenido gástrico similar y se diferencia del resto de los grupos (Anexo 19).

Por tanto, podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico a dosis de 400 mg/kg produjo una disminución excesiva de volumen de contenido gástrico, por tanto ejerce un mecanismo antisecretor sobre el daño gástrico producido por el aumento del contenido gástrico inducido por el etanol, al igual que los demás grupos pero no similar al producido al del etanol. 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 intraluminal.<sup>47</sup> Los resultados de la investigación demuestran que las hojas de *Bixa orellana* "achiote", poseen principios antiulceroso 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. También se pudo demostrar la relación dosis efecto de los extractos hidroalcohólicos, ya que a mayor concentración menor es el índice de ulceración, mayor el pH (mayor alcalinidad) y menor volumen de contenido gástrico, probablemente el efecto antiulceroso sea debido a la presencia de metabolitos secundarios tales como los flavonoides y taninos, aunque tampoco puede descartarse la acción de otros compuestos presentes en la planta. Los inhibidores de la bomba de protones (IBP) son fármacos que actúan inhibiendo de manera irreversible la enzima H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa de las células parietales de la mucosa gástrica. Disminuye, por lo tanto, la secreción ácida al actuar en el último eslabón fisiológico del proceso<sup>28</sup>. En un estudio realizado sobre el efecto antiulceroso del extracto metanólico de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. "huanarpo macho", se observó la que la histamina eleva el volumen del contenido gástrico a 48 ml que responde a la sensibilidad de las células de la mucosa gástrica y eleva el volumen en defensa del agente nocivo y baja el valor del pH por que actúa aumentando la secreción ácida y pepsina. Mientras que la ranitidina 50 mg/kg se observa una disminución del volumen del contenido gástrico a 22,8 ml y hay un aumento del pH, con una diferencia de un estómago normal que es de 17 ml. Con el extracto metanólico a la dosis de 200 mg/kg el volumen del contenido gástrico fue de 20 ml, que indica que hay una protección de la barrera mucosa por la presencia de metabolitos secundarios como el flavonoide que tiene un efecto antisecretor ya que actúa disminuyendo el contenido gástrico. pero a la dosis de 100 mg/kg el volumen del contenido gástrico fue de 24,8 ml, indica que hay una ligera protección hacia la secreción gástrica por ende no aumenta el volumen del contenido gástrico y el de 300 mg/kg el volumen del contenido gástrico fue de 25,2 ml, indica que no se logró una dosis respuesta para explicar mejor se requiere de más estudios.<sup>6</sup>

Los resultados encontrados en el estudio histopatológico a los estómagos inducidos a la lesión con etanol, previo tratamiento con las sustancias inducida fueron: En el grupo II (control), se observó descamación de células epiteliales con escasa presencia de células proinflamatorias en la región mucosa y evidente zonas erosivas. En el grupo III que recibió omeprazol y en el grupo VI que recibió el extracto

a dosis de 400 mg/kg se observó la conservación de la citoarquitectura del tejido gástrico, sin presencia de células proinflamatorias en la mucosa gástrica.

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

Bajo las condiciones trabajadas se puede concluir que el tratamiento con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* a dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg vía orogástrica inhibe las lesiones inducidas por el etanol al 96% e induce a una menor migración de células proinflamatorias, y así no inhibió a 100 mg/kg. Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante la prueba de ANOVA y prueba de Tukey, a un nivel de significancia de 95%. La evaluación macroscópica fue mediante la escala de Marhuenda.

## VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" posee actividad antiulcerosa a dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg con un porcentaje de inhibición de 68,18% y 90,91% respectivamente.
2. El extracto de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" presenta metabolitos secundarios como: flavonoides, taninos, alcaloides, triterpenoides, fenoles, esteroides.
3. La dosis que posee mejor efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" fue de 400 mg/kg.
4. En el estudio anatomopatológico de la mucosa del estómago se observó que a dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg se evidenció escasa presencia de infiltrado inflamatorio aguda, gastritis erosiva, hemorragia focal; a 400 mg/kg no se observó la presencia de infiltrado inflamatorio.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con el estudio de la especie vegetal *Bixa orellana* L. "achiote", para aislar, caracterizar y elucidar sus componentes químicos.
2. Determinar la toxicidad de esta especie vegetal, a fin de proponer su adecuado uso a nivel posológico y fitoterapéutico.
3. Realizar estudios de conservación y manejo de la especie vegetal *Bixa orellana* L. "achiote", y así evitar la destrucción, uso desmesurado y extinción en el departamento de Ayacucho.
4. Se recomienda utilizar el extracto con diferentes modelos de inducción de úlcera.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Artieda R. Estudio investigativo del achiote, cultivo, producción, usos y aplicación en la gastronomía [Tesis de grado]. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial de Ecuador; 2010.
2. Clavijo C, Leal F. La historia, taxonomía botánica y usos de *Bixa orellana* L. Rev Unell Cien Tec (Venez). 2010; 28:78-86.
3. Huamán O, Sandoval M, Arnao I. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* "achiote" en ratas. An Fac Med (Lima). 2009; 70(2): 97-102.
4. Huamán O, Sandoval M, Arnao I, Bejar E. Efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* "achiote" en la secreción gástrica de ratas. An Fac Med (Lima). 2007; 68(4): 314-320.
5. Devia J. Saldarriaga L. Planta piloto para obtener colorante de la semilla del achiote. Universidad EAFIT (Colomb). 2003; 39(131): 8-22.
6. Congacha L. Efecto antiulceroso del extracto metanólico de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. [Tesis de Investigación]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2011.
7. Castelo J. Reflujo Gastroesofágico: características clínicas y endoscópicas, y factores de riesgo asociados. Rev Gastroenterol (Perú). 2003; 23:41-48.
8. Fernandez-Calienes A, Mendiola J, Acuña D, Scul R, Gutiérrez y. Actividad antimalárica de un extracto hidroalcohólico de *Bixa orellana*. L. Rev Cubana de Med Trop (Cuba). 2011; 63(2):181-185.
9. Teles F, Anjos F, Machado T, Lima R. *Bixa orellana* "achiote" ejerce un efecto hipoglucemiante sostenido en la diabetes mellitus experimental en ratas. Medical Express (Brasil). 2014; 1 (1):36 -38.
10. Li F. Actividad biológica del extracto acuoso atomizado de hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" en animales de experimentación. [Tesis de Maestría]. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 1999.
11. Teresa R. Evaluación de la actividad hipoglicimiente del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* "achiote" [Tesis de Investigación]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga; 2001.
12. Dianne A, Guillen V. Citotoxicidad y efecto antipirético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* "achiote" [Tesis de Investigación]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2004.
13. Aucasime L. Descripción botánica de *Bixa orellana* L. "achiote", laboratorio de botánica. UNSCH. Ayacucho(Perú); 2011.
14. Ancheta J, Bertolí M. Efecto citoprotector del extracto acuoso de hojas de *Bixa orellana* "achiote" en úlceras gástricas inducidas por indometacina en un modelo de ratones [Tesis de Doctoral]. Salvador: Universidad "Dr. José Matías Delgado" Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela de Medicina; 2011.
15. Limón D, Díaz A, Mediata L, Zenteno E, Guevara J. Los flavonoides: mecanismo de acción, neuroprotección y efectos farmacológicos. Lab. de neurofarmacología, facultad de ciencias químicas. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM (México).2010; 34:143-154.
16. Ricco R, Kathrein F, Lozano V, Wagner M, Gurni A. Taninos condensados de *Ephedra frustillata* Miers (Ephedraceae). Acta farmacéutica bonaerensis (Argentina). 2006; 25(2), 192.
17. Selkurt E. Fisiología: Aparato digestivo. 3ª Edición. Barcelona: Editorial Elsevier, Tortora. Madrid-2006.
18. Garcia A, Landaeta N, Pinto N. Fisiopatología: úlcera peptídico. Facultad de Medicina. Universidad Finis Terrae; 2011. 1-20.

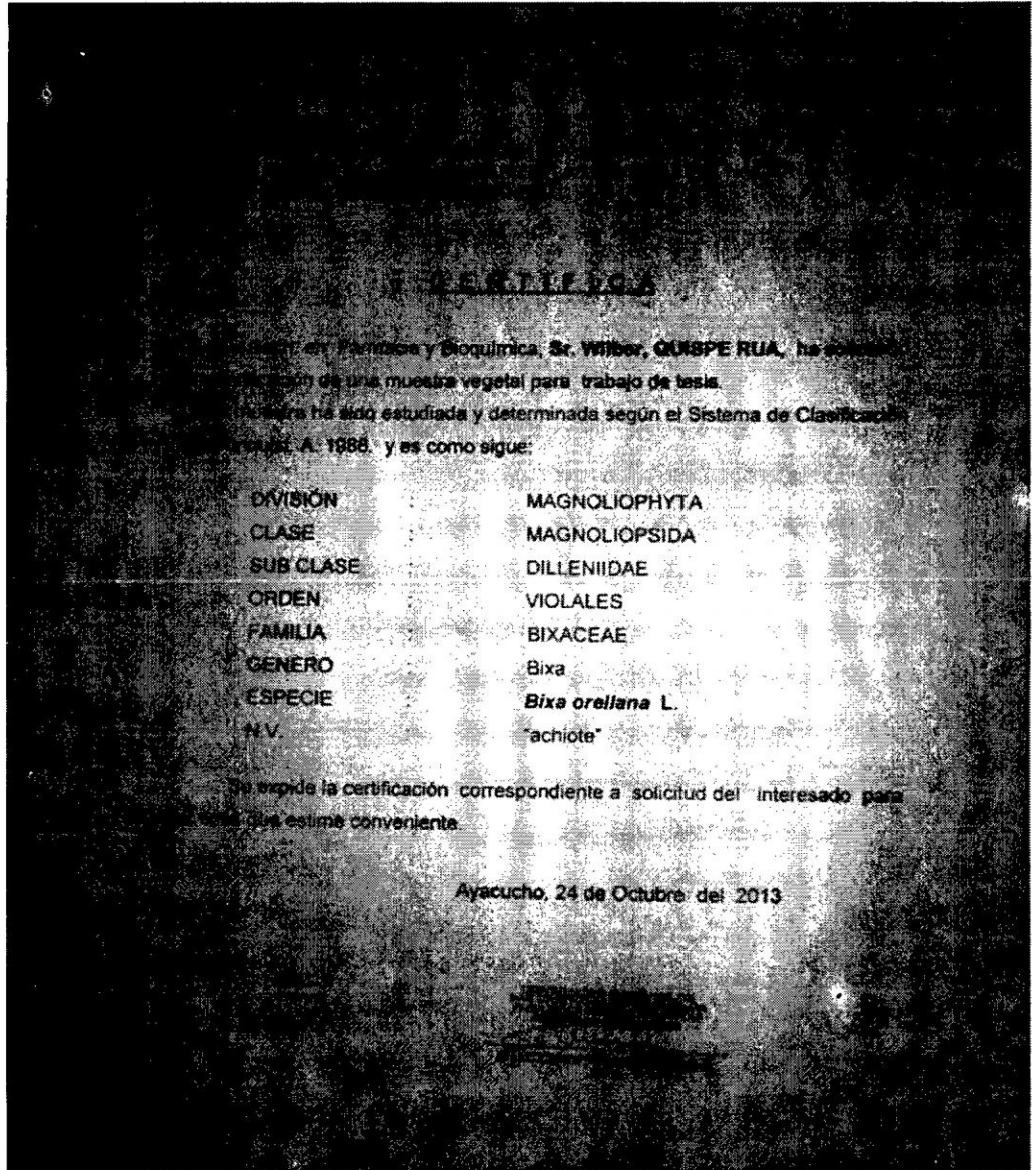
19. Abdo J, Uscanga L. y Cols. III Consenso Mexicano sobre *Helicobacter pylori*. Rev. Gastroenterol México 2007; 72(3):136. 153
20. Bravo L. Manual de farmacoterapia. Edit. Elsevier. España; 2005.
21. Ramírez A. Terapia en la úlcera y el *Helicobacter pylori*, publicado en libro conmemorativo al 25 aniversario de la revista de gastroenterología. Perú; 2005.
22. Caballero G. Efecto del alcohol etílico sobre la actividad específica de amino peptidasas reguladoras de neuropéptidos en neuronas y astrogliia en cultivo [investigación tutelada]. Andalucía: Universidad de Jaén; 2006.
23. Fleming M, Mihic J, Harris R. Ethanol. En: Brunton L, Lazo J, Parker K ed. Goodman & Gilman. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11 thed. Mc Graw Hill: New York; 2006. p. 591-606.
24. Estruch R. Efectos del alcohol en la fisiología humana. Adicciones (Barc). 2002; 14(1): 43-61.
25. Peña C, Rojas A, Gutiérrez J. Mediadores químicos y efecto de los analgésicos en el tratamiento de ortodoncia. Universidad Autónoma de Nayarit. Revista Tamé. 2012; 1(2): 55-61
26. Alsasua A, Camarasa J, Gonzales J, Banco E. Comisión de farmacoterapéutica de la SEF. Fármacos antiulcerosos. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid; 2012.
27. Clissold S, Campoli-Richards D. Omeprazol. A preliminary Review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Potential in Peptic Ulcer Disease and Zollinger-Ellison Syndrome. Drugs 1986; 32:15-17.
28. Lewis S. Europe an decisión on omeprazole. Lancet 1994; 344:464.
29. Villar del Fresno M. Farmacognosia general. Editorial Síntesis. España; 1999.
30. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio, farmacognosia y productos naturales. Instituto de farmacia y alimentos, Universidad la Habana. Habana; 2000.
31. CYTED. Manual de técnicas de investigación. Revista Iberoamericana de Ciencias y Tecnología. Perú; 1995.
32. Cosme I. El uso de las plantas medicinales. Revista intercultural. Universidad Veracruzana intercultural. Enero; 2008.
33. Martínez A. Flavonoides. Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica. Medellín-Colombia; 2005.
34. Kuklinski C. Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones omega. Barcelona-España; 2003
35. Causse C. Los secretos de salud de los antioxidantes. Editorial Hispano Europea. España; 2004.
36. Angulo P. La etnofarmacología y los bioensayos como estrategia actual en la investigación fitoquímica. 1ª ed. Editorial de Mar EIRL. Perú; 2004.
37. Shilpi J, Taufiq-U, Uddin S, Alam M, Sadhu S, Seidel V. Preliminary pharmacological Iscreening of *Bixa orellana* L. leaves. J Ethnopharmacol. 2006; 108(2): 264-71.
38. Aregueta-Robles U, Hernandez-Ruiz E, Juarez M, Rendon-Ramirez A. Lipoperoxidación y alcoholismo en jóvenes. Bioquímica. 2004; 29(supl 1): 125.
39. Vázquez I. Farmacología práctica. Ediciones días de santos. España; 2002.
40. Gutierrez M. [Tesis de Investigación]. Universidad de Trujillo. Efecto del gel de *Aloe vera* comparado con una solución de omeprazol en el tratamiento de úlcera péptica inducida en *rattus rattus* var. *albinus*. Peru; 2012. P 1-54.
41. Jenny P. Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (*Plantago major*) Facultad de Bioquímica y Farmacia, Universidad Mayor de San Simón. Av. Aniceto Arce s/n. Cochabamba, Bolivia. BIOFARBO, Vol 16, diciembre 2008; p1-41.

42. Martínez R.. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *bougainvillea spectabilis* Will. "bougainvilia", Ayacucho; 2013. pag. 1-68.
43. Sheeja E, Toppo E, Tiwari V, & Dutt K. Efecto antimicrobiano, antiulceroso y antidiarreico de las hojas de *buganvilla (Bougainvillea glabra Choisy)*. Universidad de Granada. Vol. 48(2): [26] 2 Ars Pharma; 2007.
44. Badilla B, Miranda T, Mora G, Vargas K. Actividad gastrointestinal del extracto acuoso bruto de *Quasia amara*. Universidad de Costa Rica. Escuela de Biología. Costa Rica; 1998
45. Keller A. Medicina Interna. 2ª ed. Editorial Médica Panamericana. Argentina; 1993.
46. Arroyo J, Almora Y, Quino M, Martínez J, Condorhuamán M, Flores M. Efecto citoprotector y antisecretor del aceite de *Copaifera officinales* en lesiones gástricas inducidos en ratas. In Anales de la Facultad de Medicina (Vol. 70, N° 2, pp. 89-96); 2009.
47. Suarez J. Farmacología Medica. 4ª ed. Editorial Médica Panamericana S.A. Argentina; 2008.

## **ANEXOS**

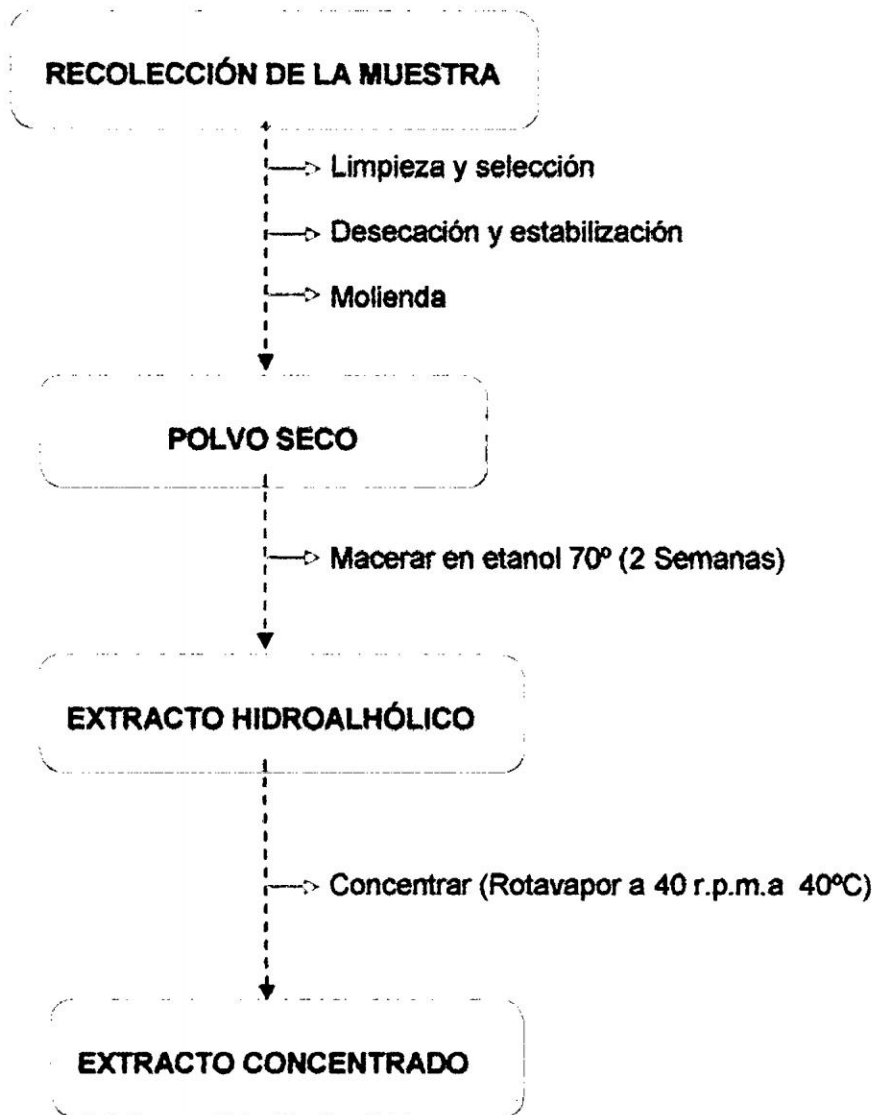
## ANEXO 1

Certificado de la identificación taxonómica de las hojas de *Bixa orellana* L.  
"achiote"



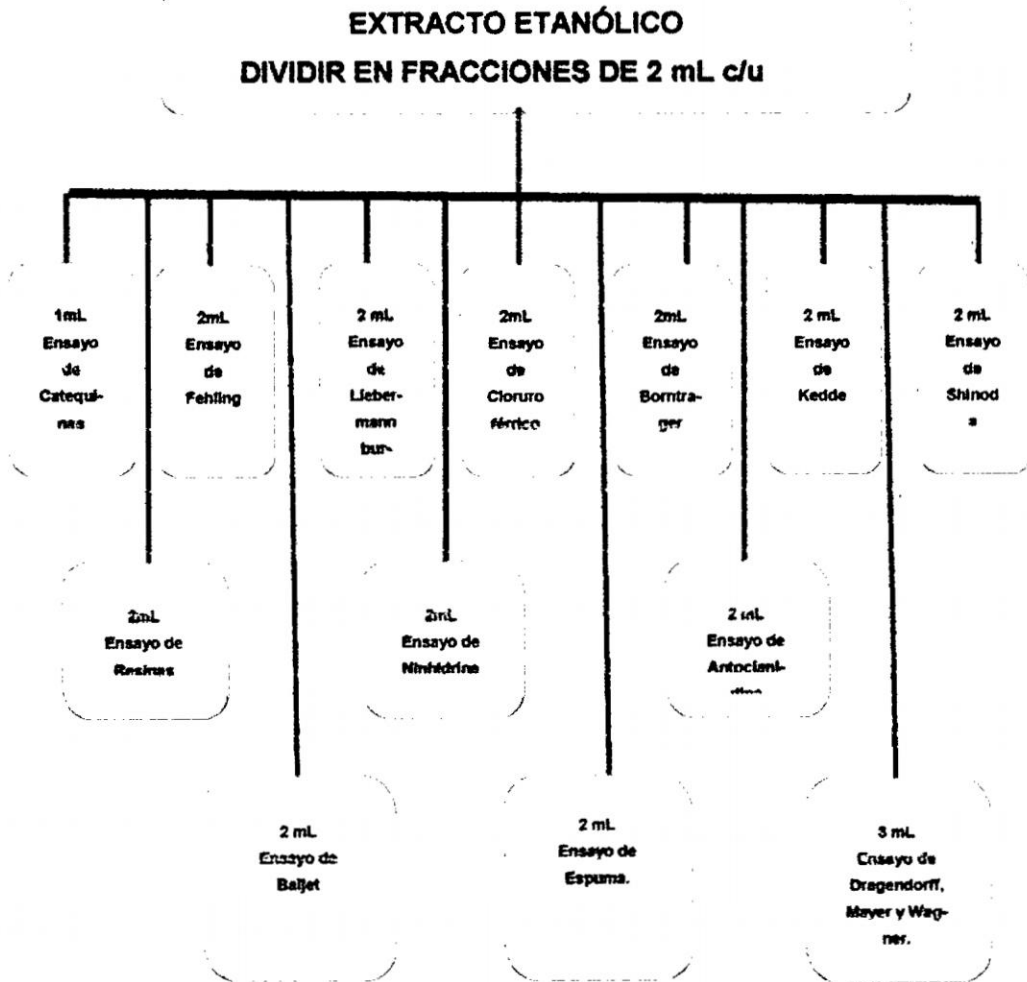
## ANEXO 2

Esquema de procedimientos metodológico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho-2014.



### ANEXO 3

Protocolo del análisis físico-químico cualitativo en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa oreliana* L. "achiote". Ayacucho-2014.



#### ANEXO 4

Etapa de recolección de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho-2014.



## ANEXO 5

Extracto concentrado seco de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" Ayacucho-2014.



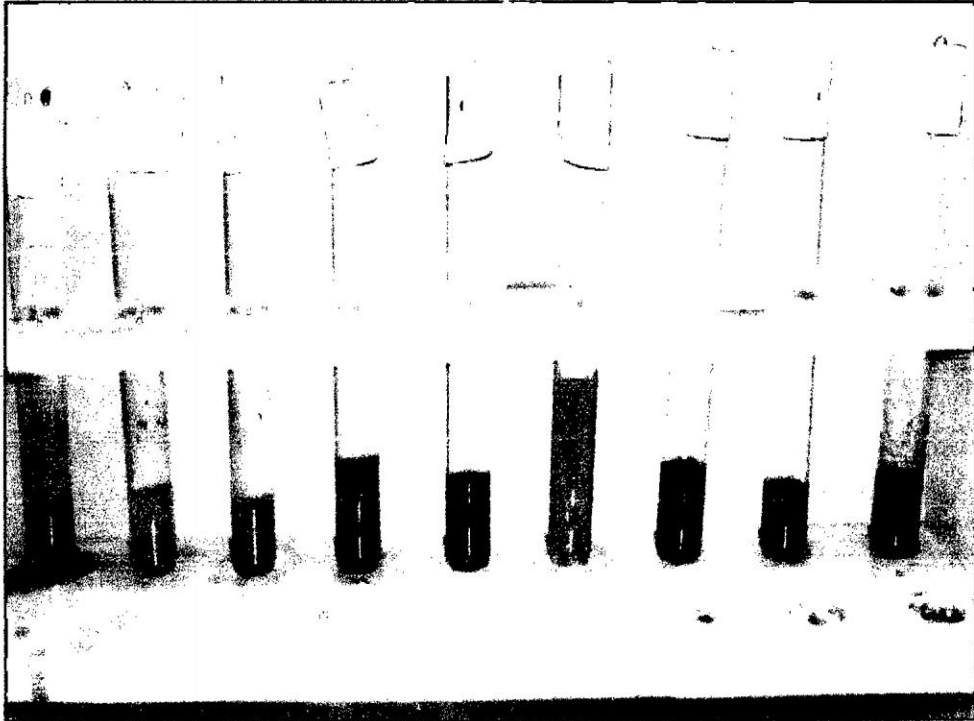
## ANEXO 6

Administración oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" para determinación de la actividad antiulcerosa. Ayacucho-2014.



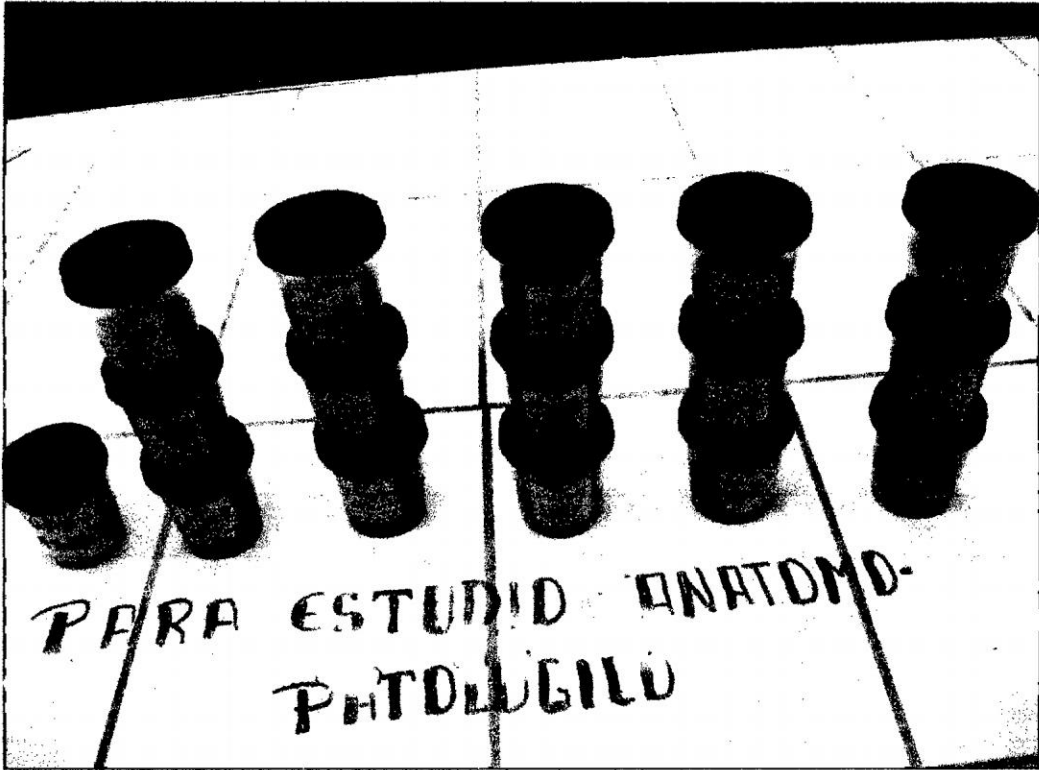
## ANEXO 7

Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L.  
"achiote" Ayacucho-2014.



ANEXO 8

Muestras de estómagos tratados con elextracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" Ayacucho-2014.



184893

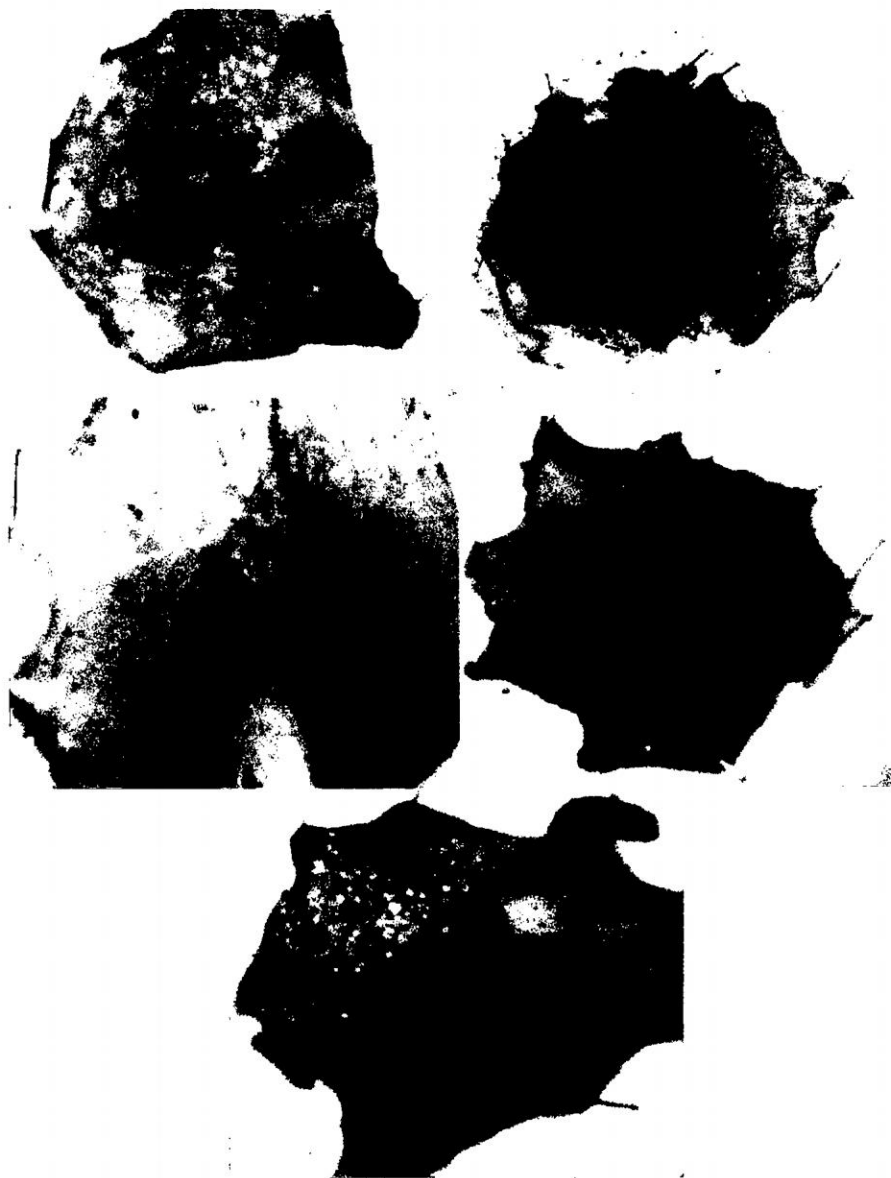
## ANEXO 9

Porcentaje de inhibición de la inducción de úlcera gástrica por efecto de la aplicación de dosis crecientes del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho – 2014.

Dosis mg/kg	% IIUG
Omeprazol	95,45
Extracto 100	31,80
Extracto 200	68,18
Extracto 400	90,91

## ANEXO 10

Lesiones gástricas en el extendido del estómago tratados con agua destilada y etanol. Ayacucho – 2014.



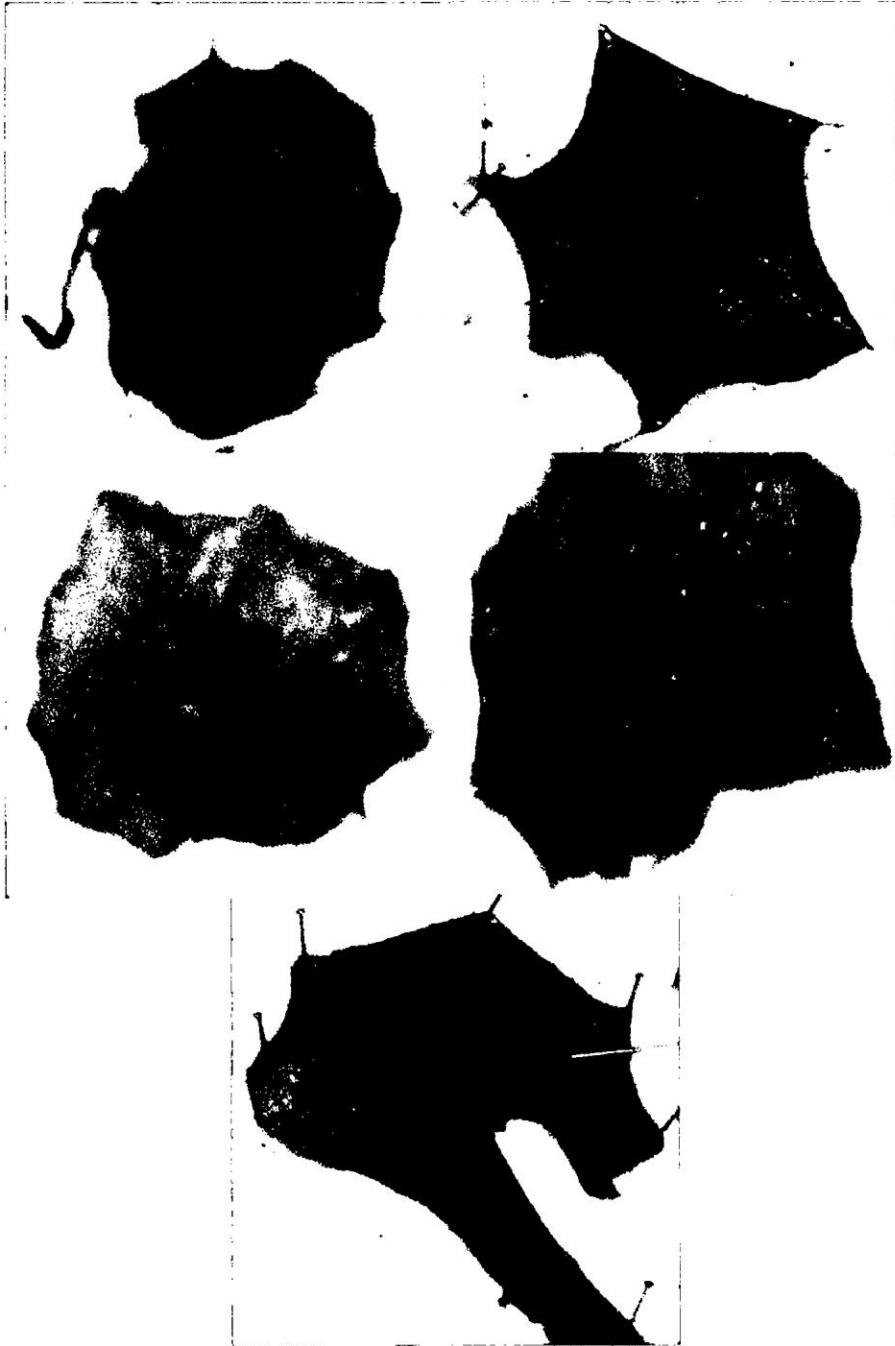
**ANEXO 11**

**Estómagos tratados con omeprazol y etanol. Ayacucho – 2014.**



## ANEXO 12

Estómagos tratados con etanol y 100 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho – 2014.



### ANEXO 13

Estómagos tratados con etanol y 200 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho – 2014.



#### ANEXO 14

Estómagos tratados con etanol y 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho – 2014.



### ANEXO 15

Volumen, pH e IU, por la administración de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho-2014.

CONCENTRACIONES	VOLUMEN(mL)	pH	IU%
100 mg/kg	5,30	2,75	2,00
	5,50	2,14	4,00
	5,30	2,52	2,00
	5,30	2,67	4,00
	5,00	2,52	3,00
<b>Promedio</b>	5,25	2,52	3,00
<b>D.E.</b>	0,35	0,33	0,80
200 mg/kg	4,20	2,63	1,00
	4,70	2,37	3,00
	5,00	2,43	0,00
	5,70	2,29	2,00
	4,90	2,43	1,00
<b>Promedio</b>	4,90	2,43	1,40
<b>D.E.</b>	0,63	0,18	1,14
400 mg/kg	2,20	2,88	1,00
	2,50	3,24	1,00
	2,20	3,24	0,00
	2,10	3,24	0,00
	2,20	3,60	0,00
<b>Promedio</b>	2,20	3,24	0,40
<b>D.E.</b>	0,26	0,36	0,54

## ANEXO 16

Comparación de medias mediante la prueba de Tukey del índice de ulceración de los tratamientos administrados de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" Ayacucho-2014.

Ulceración				
HSD de Tukey <sup>a</sup>				
Número	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
Basal	5	0,000		
Extracto 400 mg/kg.	5	0,400	0,400	
Standar "Omeprazol 20 mg/kg"	5	0,600	0,600	
Extracto 200 mg/kg.	5	1,400	1,400	
Extracto 100 mg/kg.	5		3,000	3,000
Control "Etanol absoluto"	5			4,400
Sig.		0,654	0,087	0,654

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.  
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.000.

### ANEXO 17

Análisis de varianza del índice de ulceración, pH y volumen del contenido gástrico de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* "achiote", omeprazol, etanol y un basal; en cobayos, Ayacucho-2014.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Índice de Ulceración	Inter-grupos	74,167	5	14,833	7,008	0,000
	Intra-grupos	50,800	24	2,117		
	Total	124,967	29			
pH	Inter-grupos	35,488	5	7,098	195,663	0,000
	Intra-grupos	0,871	24	0,036		
	Total	36,359	29			
Volumen (ml)	Inter-grupos	228,299	5	4,660	157,810	0,000
	Intra-grupos	6,944	24	0,289		
	Total	235,243	29			

## ANEXO 18

Tabla 6: Comparación de medias mediante la prueba de Tukey de pH de los tratamientos administrados de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" Ayacucho-2014.

		pH			
Tukey B <sup>a</sup>					
Número	N	Subconjunto para alfa = 0,05			
		1	2	3	4
Control "Etanol absoluto"	5	2,098			
Extracto 200 mg/kg	5		2,430		
Extracto 100 mg/kg	5		2,520		
Basal	5			3,054	
Extracto 400 mg/kg	5			3,240	
Standar "Omeprazol 20 mg/kg"	5				5,400

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.  
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

### ANEXO 19

Tabla 7: Comparación de medias mediante la prueba de Tukey de los volúmenes de los tratamientos administrados de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote" Ayacucho-2014.

Número	N	Volumen				
		Subconjunto para alfa =0,05				
		1	2	3	4	1
EH 400 mg/Kg	5		2,200			
EH 200 mg/Kg	5			4,900		
EH. 100 mg/Kg.	5			5,280		
St " Omeprazol 20 mg/Kg"	5			5,480		
Basal	5				7,820	
Control "Etanol absoluto"	5					11,100
Sig.			1,000	0,542	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 20

Grupo I: se observan la conservación de la citoarquitectura del tejido gástrico.



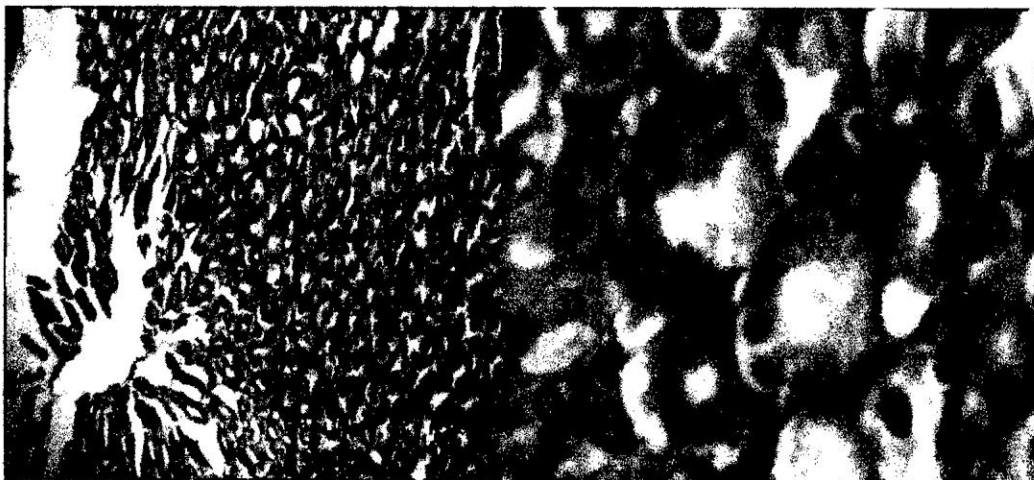
## ANEXO 21

Grupo II: se observa descamación de células epiteliales, con escasa presencia de células inflamatorias en región mucosa y evidentes zonas erosivas.



## ANEXO 22

Grupo III: se observan la conservación de la citoarquitectura del tejido gástrico, sin presencia de células inflamatorias.



### ANEXO 23

Grupo IV: se observa poca descamación epitelial, con ligeras zonas erosivas, con ausencia de células inflamatorias.



## ANEXO 24

Grupo V: se observa discreta descamación en zona apical y ausencia de filtración de células inflamatorias en la submucosa.



## ANEXO 25

Grupo VI: se observa la conservación de la citoarquitectura del tejido gástrico, sin presencia de células inflamatorias.



TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" en cavia porcellus "cobayos". Ayacucho-2014.	¿Cuál de las concentraciones tendrá efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote"?.	<p><b>Objetivos:</b></p> <p>-Evaluar el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote".</p> <p>-Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote"</p> <p>-Determinar la concentración con mayor efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" comparado con omeprazol.</p> <p>- Realizar el análisis anatomopatológico de las úlceras inducidas por etanol absoluto.</p>	<p><b>Uso en la medicina tradicional</b></p> <p>En el Perú, la <i>Bixa orellana</i> se encuentra en la parte montañoso de los Departamentos de Amazonas, Cusco, Ayacucho y San Martín. Se usa ampliamente en la medicina tradicional en las regiones montañosas y hay pocos estudios sobre sus diferentes propiedades farmacológicas.</p> <p>Actualmente en nuestro país se utiliza las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" para el tratamiento de inflamación prostática y, la infusión, para el tratamiento de la gastritis y úlcera, aunque esta última forma de tratamiento es poca difundida y tan solo se limitaba la región de la selva alta.</p> <p><b>La úlcera</b></p> <p>Es la pérdida de sustancia o tejido, por diversos agentes: Físicos, químicos, biológicos, psicológicos.</p> <p><b>Úlcera péptica.</b></p> <p>Es la pérdida de tejido gástrico o duodenal. Es una roptura en la piel o en las membranas de la mucosa acompañada con pérdida de tejido superficial, desintegración y necrosis del tejido epitelial.</p> <p><b>Causas y patogenia.</b></p> <p>Los factores de riesgo asociado al sangrado de la úlcera son: la edad avanzada, estrés, uso de analgésicos antiinflamatorios no esteroideos, presencia de <i>H. pylori</i> así como el consumo de alcohol y tabaco.+98</p>	La concentración de 400 mg/kg de extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" tiene un mejor efecto antiulceroso.	<p><b>Variable independiente:</b></p> <p>La concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote".</p> <p><b>Indicador:</b></p> <p>Concentración del extracto 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg.</p> <p><b>Variable dependiente:</b></p> <p>-Efecto antiulceroso.</p> <p><b>Indicador:</b></p> <p>-Número de ulceraciones producida.</p> <p>-pH del contenido del estómago.</p> <p>-Volumen y peso del contenido.</p>	<p><b>Tipo de investigación:</b>Básico</p> <p><b>Nivel de investigación:</b>Experimental.</p> <p><b>Población:</b> Hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" que crece en el pueblo de Balsamuyoc, Distrito de Sivia, provincia de Huanta, región Ayacucho. a 350 m.s.n.m.</p> <p><b>Muestra:</b> Dos kg de hojas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote", recolectadas en horas de la mañana.</p> <p><b>Unidad experimental:</b> Se trabajó con 30 cobayos; de un peso aproximado 550-650g. el método a utilizar fue propuesta por Lee, que se basa en el fundamento de úlcera gástrica aguda inducida por el etanol absoluto.</p> <p><b>Diseño experimental:</b></p> <p>1<sup>er</sup> Grupo I:Basal</p> <p>2<sup>do</sup> Grupo II:Control(etanol 96%)</p> <p>3<sup>er</sup> Grupo III:Patrón(omeprazol)</p> <p>4<sup>to</sup> Grupo IV:dosis de 100 mg/kg.</p> <p>5<sup>to</sup> Grupo V:dosis de 200 mg/kg</p> <p>6<sup>to</sup> Grupo VI:dosis de 400 mg/kg.</p> <p><b>Analisis estadístico:</b></p> <p>Prueba de ANVA y prueba de Tukey.</p>

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**  
**RESOLUCIÓN DECANAL N° 228-2014-FCB-D**

**Bach. Wilber QUISPE RUA**

En Ayacucho siendo las 4 y 20 de la tarde del día 18 de diciembre del año 2014, reunidos en el auditorium de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, reunidos los docentes Mg. Cesar Isaías Magallanes Magallanes (Presidente) Dr Edwin Carlos Enciso Roca (Miembro) y el Dr Johnny Aldo Tinco Jayo (Asesor), teniendo la Resolución Decanal N°228-2014-FCB-D, con la finalidad de recepcionar la tesis titulada Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho 2014, presentado por el Bachiller en Farmacia y Bioquímica Wilber Quispe Rua, quien pretende obtener el título profesional de Químico Farmacéutico.

Una vez revisada la documentación respectiva el presidente del jurado calificador indica al sustentante tiene un tiempo máximo de 45 minutos para exponer su trabajo de investigación, lo cual es realizado por el sustentante empezando por la presentación, objetivos, aspectos teóricos, materiales y métodos, resultados, conclusiones y recomendaciones.

Concluida la exposición el presidente del jurado calificador, solicita a los miembros del jurado calificador a que realicen las preguntas aclaraciones y observaciones al trabajo de investigación y a la exposición realizada los mínimos que fueron respondidas adecuadamente por el sustentante. Terminado la fase de pregunta, el presidente del jurado evaluador pide al sustentante y al público asistente abandonar momentáneamente el auditorium para las deliberaciones respectiva por el jurado lo mismo concluye de la siguiente manera.

<b>Miembros del jurado</b>	<b>Exposición</b>	<b>Respuesta</b>	<b>Promedio</b>
Mg. Cesar Isaías Magallanes Magallanes	17	16	17
Dr. Edwin Carlos Enciso Roca	17	17	17
Dr. Johnny Aldo Tinco Jayo	17	17	17
Promedio:			17

Habiendo obtenido la nota de Diecisiete (17), invitando al sustentante y al público asistente ingresar al auditorium, con la finalidad de dar a conocer los resultados que obtuvo al Bachiller Wilber Quispe Rua.

Concluye el acto de sustentación siendo las 6:17 pm firmante al pie del presente los miembros del jurado calificador.



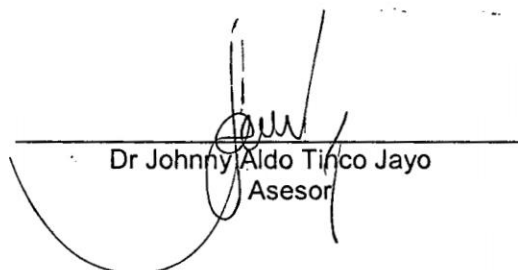
---

Mg. Cesar Isaías Magallanes Magallanes  
Presidente



---

Dr. Edwin Carlos Enciso Roca  
Miembro



---

Dr Johnny Aldo Tinco Jayo  
Asesor