

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS:

**Efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas
de *Piper elongatum* Vahl. “matico” en ratas. Ayacucho 2023**

Para optar el título profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. Keydi Indira CARDENAS CARDENAS

ASESOR:

Dr. Edwin Carlos ENCISO ROCA

AYACUCHO - PERÚ

2024

A Dios, por guiar mi camino, a mi familia,
por apoyarme incondicionalmente a lo
largo de mi trayectoria profesional.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi *Alma Mater*, por brindarme la oportunidad de estudiar en sus instalaciones durante mi tiempo académico, por permitirme adquirir los conocimientos necesarios para mi vida profesional y de esta manera contribuir de vuelta a la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, a su plana de docente, por su valiosa orientación y apoyo en mi formación personal y profesional.

Al Dr. Q.F Enciso Roca, Edwin Carlos, por su asesoría, orientación y generosidad al compartir sus conocimientos.

Al Dr. Q.F Tinco Jayo, Johnny Aldo y al Dra. Q.F. León Aronés, Roxana por sus sugerencias y orientación.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”.	6
2.3. Compuestos fenólicos	8
2.4. Úlcera péptica	11
2.5. Fármacos antiulcerosos	13
2.6. Ranitidina	14
2.7. Sucralfato	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Lugar de ejecución	17
3.2. Población y muestras	17
3.3. Metodología y recolección de datos	18
3.4. Tipo y diseño de investigación,	23
3.5. Análisis de datos	24
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	31
VI. CONCLUSIONES	43
VII. RECOMENDACIONES	45
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXOS	55

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Distribución de grupos para la evaluación del efecto antiulceroso	21
Tabla 2. Cálculo de índice de la lesión ulcerosa según Gamberini <i>et al</i> , 1991	22
Tabla 3. Identificación de metabolitos secundarios en el extracto de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”.	26
Tabla 4. Identificación de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”.	27
Tabla 5. Volumen y pH del contenido gástrico según tratamiento con compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”.	28

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura química de un fenol	9
Figura 2. Estructura básica de un flavonoide	10
Figura 3. Estructura química de la ranitidina	15
Figura 4. Regulación fisiológica y farmacológica de la secreción gástrica	16
Figura 5. Índice de ulceración por tratamiento con los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”.	29
Figura 6. Porcentaje de inhibición ulcerogénica según tratamiento con los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”	30

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Constancia de identificación botánica de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”.	56
Anexo 2. Diagrama de flujo para la obtención de los compuestos fenólicos.	57
Anexo 3. Elaboración del extracto hidroalcohólico.	58
Anexo 4. Obtención de los compuestos fenólicos.	59
Anexo 5 Identificación de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico	60
Anexo 6 Identificación de los compuestos fenólicos aisladas de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”.	61
Anexo 7 Desarrollo cromatográfico de los compuestos fenólicos.	62
Anexo 8 Valores de R _f para los compuestos fenólicos	63
Anexo 9 Diagrama de flujo para la determinación del contenido de fenoles totales por el método Folin - Ciocalteu.	64
Anexo 10 Contenido de fenoles totales por el método Folin - Ciocalteu.	65
Anexo 11 Curva de calibración de ácido gálico para la cuantificación de fenoles totales	66
Anexo 12 Diagrama de flujo de la determinación del efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos.	67
Anexo 13 Proceso de determinación del efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos.	68
Anexo 14 Estómagos aislados de los animales en experimentación.	69
Anexo 15 Estudio histopatológico de los estómagos extirpados de los animales de experimentación inducidos a úlcera gástrica.	70
Anexo 16 Valores de pH del contenido gástrico en ratas, tras la administración de los compuestos fenólicos y estándares.	72
Anexo 17 Valores del volumen del contenido gástrico en ratas, tras la administración de los compuestos fenólicos y estándares.	73
Anexo 18 Valores de índice de ulceración en ratas, tras la administración de los compuestos fenólicos y estándares.	74

Anexo 19	Análisis de varianza (ANOVA) del volumen del contenido gástrico, pH gástrico e índice de ulceración.	75
Anexo 20	Prueba de Tukey del volumen de contenido gástrico.	76
Anexo 21	Prueba de Tukey del pH gástrico.	77
Anexo 22	Prueba de Tukey del índice de ulceración.	78
Anexo 23	Valores del porcentaje de inhibición ulcerogénica (%IUG) en ratas, tras la administración de los compuestos fenólicos y estándares.	79
Anexo 24	Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas del porcentaje de inhibición ulcerogénica.	80
Anexo 25	Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición ulcerogénica.	81
Anexo 26	Prueba de Tukey del porcentaje de inhibición ulcerogénica.	82
Anexo 27	Matriz de consistencia	83

RESUMEN

La úlcera péptica es una condición común que afecta alrededor del 10 % de la población mundial en algún momento de su vida. De estos, un 25 % experimenta complicaciones que necesitan atención médica en un hospital. Por esta razón se planteó como objetivo evaluar el efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos (CF) aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” en ratas. El cual fue desarrollado en los laboratorios de E.P. de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud. La metodología empleada fue la inducción a úlceras con etanol 75 % en ratas, para lo cual se aleatorizaron a los animales experimentales en siete grupos: (I) suero fisiológico, (II) etanol al 75 %, (III) Ranitidina 100 mg/kg, (IV) Sucralfato 400 mg/kg, (V) CF 50 mg/kg, (VI) CF 100 mg/kg y (VII) CF 200 mg/kg. El porcentaje de inhibición ulcerogénica (%IUG) de los compuestos fenólicos a la dosis de 50, 100 y 200 mg/kg, fueron de 60,0 %; 67,7 % y 80,0 % y para ranitidina y sucralfato de 69,2 % y 76,9 % respectivamente ($p=4,14 \times 10^{-5}$), siendo el efecto a dosis de 100 mg/kg estadísticamente similar a la ranitidina y 200 mg/kg al sucralfato. En conclusión, los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” presenta efecto antiulceroso en animales de experimentación.

Palabras clave: *Piper elongatum* Vahl. “matico”, compuestos fenólicos, efecto antiulceroso.

I. INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional a base de plantas medicinales, es ampliamente utilizada en el mundo y tiene relevancia económica que está en ascenso rápidamente, sobre todo en naciones subdesarrolladas, donde su uso en ocasiones es el único medio para acceder a un tratamiento. El Perú es considerado mundialmente como un país megadiverso en cuanto a su flora y fauna, destacando significativamente la existencia de plantas con fines medicinales, con más de 4000 especies de usos conocidos desde tiempos ancestrales.^{1,2}

El Instituto Nacional de Salud, asevera que el matico es una planta muy reconocida en el Perú por las grandes propiedades medicinales que se le atribuyen, por contener números glucósidos, especialmente los de tipo flavonoide, los cuales le brinden sus efectos antioxidante, antiinflamatorio, antibacteriano, retroviral, astringente, entre otros; esto convierte a esta planta en uno de los motivos para buscar metabolitos secundarios que puedan usarse como alternativa terapéutica.^{3,4} Por otra parte en la de guía plantas medicinales de uso popular en la Amazonia Peruana, indican que es utilizada para tratar infecciones urinarias, detener hemorragias, aliviar úlceras, quemaduras, bronquitis entre otros.⁵

Las enfermedades de mayor prevalencia en el mundo se encuentran las de tipo gastrointestinal, y dentro de ellas la úlcera péptica, es una afección muy recurrente, aproximadamente el 10 % de la comunidad general presenta síntomas de úlcera péptica durante alguna etapa de su vida y un 25 % de estos presentan complicaciones que requieren tratamiento hospitalario en muchos casos. Los tratamientos utilizados actualmente para lidiar con esta enfermedad, además de tener un limitado acceso a la población, generan reacciones adversas. Siendo de esta forma las plantas medicinales una alternativa para prevenir estas enfermedades, debido a el contenido de metabolitos secundarios que presenta

importancia terapéutica, por esta razón se ha incrementado la búsqueda de nuevos tratamientos a base de estas.^{6,7}

Por lo anteriormente expuesto, el presente trabajo de investigación, pretende aportar evidencia científica en la determinación del efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas del matico, por tal razón se plantea los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar el efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” en ratas.

Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”.
- Determinar el porcentaje de inhibición ulcerogénica de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”.
- Comparar el efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” con la ranitidina y sucralfato.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Valderrama⁸, desarrolló un estudio sobre la acción gastroprotectora del extracto de las hojas de *Piper aduncum* L. (matico) en *Rattus rattus* var. La metodología que utilizó para el estudio incluyó la identificación de los metabolitos secundarios, y mientras que el efecto gastroprotector fue determinado mediante el método de inducción de úlceras gástricas con indometacina a una dosis de 120 mg/kg por vía intraperitoneal. Se formaron cuatro grupos con cinco animales cada uno (grupo control negativo, control positivo, estándar y experimental) como medicamento estándar se utilizó la ranitidina a dosis de 100 mg/kg, y el extracto del matico a dosis de 750 mg/kg ambos administrados por vía oral. Los resultados mostraron los siguientes porcentajes, para el grupo estándar fue de 83,3 % y del 46,7 % en el grupo experimental. En la marcha fitoquímica realizada sobre el extracto se identificaron la presencia de flavonoides. En conclusión, el extracto de las hojas de *Piper aduncum* L. (matico), muestra actividad gastroprotectora en ratas inducidas con indometacina.

Huamán *et al.*⁹, en su estudio sobre la acción gastroprotector y antisecretora de un fitofármaco derivado de las hojas de matico. Para la actividad gastroprotectora se utilizó la metodología de inducción de úlceras gástricas con indometacina sobre los ratones de prueba, evaluando la inflamación de las mucosas, número de bandas hemorrágicas y número de úlceras. Para la evaluación de la actividad antisecretora, se utilizó la metodología de ligadura de píloro en ratas albinas Holtzman. Los resultados mostraron que el extracto presenta una eficacia del 100 % en la reducción de la intensidad de las lesiones gástricas, observando una relación directa entre la dosis administrada y la eficacia de la actividad. En cuanto a la actividad antisecretora, el fitofármaco logró una disminución del 72 % en el

volumen de la secreción gástrica y un aumento del pH en un 104,3 %. Se concluye mencionando que el extracto etanólico, sus fracciones y su fitofármaco presentan actividad gastroprotectora en ratones y antisecretora en ratas.

Arroyo¹⁰, en su investigación sobre la actividad antiulcerosa del extracto acuoso e hidroalcohólico del *Piper angustifolium* R & P. “matico”. Utilizó las metodologías de inducción de úlceras gástricas mediante estrés y con indometacina a dosis de 60 mg/kg vía intraperitoneal. Después de una hora de la administración de los extractos, se sacrificaron a los animales y se extrajeron los estómagos, y evaluar el número y tamaño de lesiones de la mucosa gástrica. Los resultados mostraron que el extracto hidroalcohólico presenta mayor porcentaje de inhibición del índice ulceroso con un 75,9 % usando la metodología de úlceras inducida mediante estrés, y de un 75,6 % con la metodología de úlceras inducidas con indometacina, a diferencia del extracto acuoso que alcanzó un 44,1 % de protección y el estándar bismuto con un 64,9 % de protección. El trabajo concluye refiriendo que el extracto hidroalcohólico de *Piper angustifolium* R & P (matico), tiene mayor acción citoprotector al reducir el índice ulceroso.

Quiñones *et al.*¹¹, desarrollaron un estudio sobre el efecto del extracto acuoso de *Piper elongatum* Vahl. “matico”, en la motilidad intestinal en ratones, utilizando el método de carbón activado. Los grupos de trabajo estuvieron conformados por: grupo 1 control negativo con NaCl 0,9 %, grupo 2 control positivo con loperamida, y los grupos de tratamiento a dosis de 125, 250 y 500 mg/kg respectivamente. En los resultados se muestra que el porcentaje del intestino recorrido por el carbón activado para el grupo 1 y grupo 2, fueron de $69,4 \pm 4,5$ y $24,9 \pm 3,0$, mientras que para los grupos de tratamiento a las dosis respectivas fueron $75,3 \pm 4,3$, $71,1 \pm 4,5$ y $56,4 \pm 2,7$. La prueba estadística de ANOVA mostró que si existe diferencia significativa entre el control positivo y los grupos de tratamiento ($p < 0,001$). El estudio concluye, mencionando que el extracto acuoso no tuvo efecto sobre la motilidad intestinal en las dosis evaluadas, por tanto, enfatizan que se requiere más investigación.

Alvarado¹², realizó un estudio sobre la actividad antioxidante y determinación de fenoles del extracto de matico (*Piper sp.*) en diferentes altitudes del distrito de Levanto, Amazonas. Para lo cual se prepararon los extractos acuosos, etanólico y metanólico, de las hojas recolectadas en tres altitudes distintas. El efecto antioxidante fue evaluado mediante el método de DPPH, mientras que la

cuantificación de los polifenoles totales, fue determinada con el método de Folin-Ciocalteu. En la evaluación de los datos obtenidos, se refiere que existe diferencia significativa en cuanto a la altitud de crecimiento y el tipo de extracto, señalando que a mayor altitud los extractos tienen mejor actividad antioxidante, siendo el mejor extracto el acuoso en comparación a los extractos alcohólicos, sin embargo, los extractos alcohólicos tuvieron mayor contenido de compuestos fenólicos y la altura donde crecen las plantas no afectó a su contenido. El estudio concluye refiriendo que los extractos de las plantas de matico que crecen a mayor altitud tienen mayor actividad antioxidante, pero no mayor contenido de fenoles.

Claros¹³, realizó un trabajo de investigación sobre la actividad anti-*Helicobacter pylori* de *Plantago* (Llanten), *Verbena officinalis* (Verbena), *Clinopodium bolivianum* (Khoa), *Calendula officinalis* (Caléndula), *Piper angustifolium* (matico) y *Robus boliviensis* (Khari khari), mediante el método de difusión de disco. Para el estudio preparó extractos diclorometano, hidroalcohólico y acuoso de cada planta evaluada, como control positivo se usó la tetraciclina y control negativo los solventes de extracción, utilizaron cepas salvajes de *Helicobacter pylori*. Los resultados mostraron que la tetraciclina presentó en promedio un halo de inhibición de 50,8 mm, mientras que el extracto de *Piper angustifolium* fue una de las dos plantas con mayor actividad inhibitoria contra el *Helicobacter pylori* dando halos de inhibición para el extracto hidroalcohólico de 16,4 mm; extracto diclorometano de 10,8 mm y extracto acuoso de 15,3 mm. El estudio concluye, refiriendo que el extracto diclorometano, hidroalcohólico y acuoso de *Piper angustifolium* presenta actividad anti-*Helicobacter pylori* siendo la más representativa en su actividad inhibitoria.

Oré¹⁴, en su estudio sobre el efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos extraídos de las hojas y tallos de huanarpo macho en ratas albinas, utilizó la metodología la inducción de úlceras con etanol al 75 %, además de cuantificar los fenoles totales a través del método de Folin-Ciocalteu. En la investigación se utilizó como estándar la ranitidina y el sucralfato, mientras que la dosis de compuestos fenólicos administrados fue de 25, 50 y 100 mg/kg de peso corporal. Después de una hora de la administración del agente inductor de úlceras se sacrificaron a los animales, y se extrajeron sus estómagos, se realizó la medición del volumen y pH del contenido gástrico, mientras que los índices de ulceración fueron evaluados usando la escala de Marhuenda. Los resultados que se obtuvieron indican que la dosis de 100 mg/kg de compuestos fenólicos, presentó

inhibición ulcerosa de 88,24 %, más eficaz que las otras dosis, y la ranitidina (76,47 %), mientras que fue similar al del sucralfato (88,24 %). El trabajo concluye, haciendo referencia que se encontró que los compuestos fenólicos presentes en las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg., tiene efecto antiulceroso significativo, siendo la dosis de 100 mg/kg más efectivo en la inhibición de úlceras, en comparación que las dosis de 25 mg/kg y de 50 mg/kg.

Córdova¹⁵, realizó un estudio sobre la actividad antiulcerosa de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza” en cobayos, para lo cual utilizó la metodología de producción de úlceras con etanol. A los animales de prueba se le administró en ayunas dosis de 5, 10 y 20 mg/kg de compuestos fenólicos aislados, y los medicamentos patrón que fueron la ranitidina y el omeprazol. Transcurrido una hora después de la administración del etanol, los animales fueron sacrificados, y se extrajeron los estómagos, en las cuales se evaluó las lesiones producidas en la mucosa gástrica. Los resultados determinaron que los compuestos fenólicos aislados de las hojas de romaza, reducen en forma significativa las lesiones ulcerosas, dando valores de 24,23 %, 68,97 % y 86,21 % de inhibición de la ulceración para cada dosis del extracto, mientras que el omeprazol, registro una actividad antiulcerosa de 93,10 % y la ranitidina de 89,66 %. El estudio concluye, refiriendo que los compuestos fenólicos aislados de las hojas de romaza presentan actividad antiulcerosa, siendo la dosis de 20 mg/kg, estadísticamente semejante a la actividad de la ranitidina.

2.2. *Piper elongatum* Vahl. “matico”.

2.2.1. Clasificación taxonómica

La muestra de *Piper elongatum* Vahl. fue clasificada según el sistema de Cronquist A 1988, por una especialista en taxonomía y sistemática de plantas.

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE : MAGNOLIIDAE

ORDEN : PIPERALES

FAMILIA : PIPERACEAE

GÉNERO : Piper

ESPECIE : *Piper elongatum* Vahl.

N.V. : “matico”

Fuente: Blga. Laura Aucasime Medina (Anexo 1).

2.2.2. Descripción botánica.

Es un arbusto pequeño perenne, mide 4 a 8 metros de altura crecen en forma silvestre y doméstica. La corteza exterior es lisa y la corteza interior tiene un olor aromático por la existencia de aceites esenciales. Sus ramas son erectas, terminales de segmentos redondeados y de coloración verde. Su tallo es de 10 cm o más de diámetro, con raíces de limo cortas y madera frágil de dureza media; follaje y ramitas aromáticas. Las hojas simples elípticas son alternas con peciolo, oblicuamente atenuada en la base, con nervadura pinnada y asimétrica, miden de 10 a 18 cm de largo siendo ovaladas y estrechas hasta su punta. Inflorescencia en espiga de forma alargada y curvada hacia el ápice de las ramas de un color que va de blanco a un amarillo pálido, tornándose verde con su madurez, y fruto tipo baya. Flores muy pequeñas y reducidas, dispuestas en disposición lateral regular, con cuatro estambres generalmente. Las semillas, de color marrón a oscuro, de 0,7 a 1,25 mm de largo, están compactadas y presentan una superficie reticulada. La planta se reconoce por sus hojas ovaladas y la presencia del prófilo.^{16,17,18}

2.2.3 Origen y distribución.

La denominación que se le da de “matico” al *Piper elongatum* Vahl. se le atribuye al nombre de un soldado español, quien al llegar al Perú fue curado de una herida en la pierna producto de una flecha, por un curandero de un poblado indígena, el cual utilizó las hojas del *Piper elongatum* Vahl. para hacer una especie de papilla, y ser puestas en la herida, al cabo de unos días el soldado estaba sano.¹⁹

El *Piper elongatum* Vahl., es autóctona de Sudamérica y está especialmente dispersa en Perú, Ecuador, Brasil, Bolivia, Paraguay y el norte de Argentina especialmente en lugares húmedos. Se adapta eficazmente a cualquier entorno y se encuentra en altitudes hasta de 3500 msnm.²⁰

Presenta una amplia distribución en una variedad de la selva peruana, desde los 50 hasta los 3000 msnm, esta especie ha sido registrada en las regiones de La Libertad, Amazonas, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, Lambayeque, Lima, Loreto, Madre de Dios, Pasco, Piura, San Martín, Ucayali.^{16,17,18}

2.2.4. Composición química.

El matico presenta variedad en composición como alcaloides, compuestos fenólicos (flavonoides y taninos), además de esteroides, saponinas y aceites esenciales como fenilpropanoides (1.2.4-trimetoxi-5-(1-propenil)-benceno y metileugenol) y terpenoides (isoprenoides), diterpenos (fitol, camforeno, esclareol), hidrocarburos sesquiterpenoides. También dillapiol, canfor y canfeno.^{16,17, 19}

2.2.5. Uso medicinal

En la medicina tradicional peruana al *Piper elongatum*, se le conoce como “matico”, “hierva del soldado” o “condorcillo”. Las propiedades medicinales reportadas de matico incluyen actividad antioxidante, propiedades antiparasitarias (debido a su contenido derivados del ácido benzoico), propiedades antiinflamatorias, antisépticas y curativas (debido a su alto contenido de taninos). Generalmente, esta planta se utiliza ampliamente, mediante la cocción de sus hojas, para desinfección externa de heridas, y como antidiarreico, por su sustancia de alcaloides se le atribuyen propiedades relajantes del músculo liso, asimismo se utiliza para el tratamiento de resfriados, bronquitis, herpes, úlceras estomacales y estreñimiento.^{17,19,20}

2.3. Compuestos fenólicos

Estos representan a un grupo muy diverso de metabolitos secundarios caracterizados por poseer uno o más grupos hidroxilo (-OH), de reacción ácida, unida a un anillo aromático (grupo fenol). Hasta la actualidad se han descubierto en la naturaleza alrededor de 10 000 compuestos fenólicos diferentes, la mayoría de ellas provienen de las plantas, y tienen la función de defensa ante situaciones de estrés, les dan coloración a las plantas y responden a diversos estímulos. La síntesis de estos metabolitos se produce a través de la ruta del ácido Shikímico y la ruta del ácido mevalónico.^{21,22}

La mayoría son hidrosolubles, solubles en solventes polares. Además, en muchos casos los compuestos fenólicos se encuentran combinados con azúcares formando glicósidos, favoreciendo la afinidad con el agua.^{21,22}

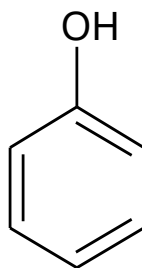


Figura 1. Estructura química de un fenol.
(Hidroxibenceno)

2.3.1. Importancia de los compuestos fenólicos

Hay creciente conocimiento que los compuestos fenólicos tienen una importancia natural fundamental para la resistencia de las plantas. Los elementos orgánicos de los compuestos fenólicos son amplios y variados, ya van desde sustancias aromáticas y colores que atraen a los polinizadores, toxinas e impedimentos y alimentarios, compuestos alelopáticos, partes subyacentes y fungicidas y antimicrobianos. Varios fenoles tienen capacidades explícitas en las plantas, como inhibidores de la germinación, seguridad UV, moléculas de señalización, entre otros roles.^{21,22}

Algunos estudios han demostrado que los compuestos fenólicos de la dieta cumplen un rol importante en el bienestar humano. El consumo alimentos naturales, ricos en compuestos fenólicos pueden reducir el riesgo de afecciones crónicas como el cáncer, problemas cardiovasculares, inflamaciones crónicas, enfermedades neurodegenerativas. Estos efectos están relacionado principalmente a las propiedades antioxidantes.²²

Entre los grupos más destacados de los compuestos fenólicos se encuentran los ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y lignanos.^{22,23}

2.3.2 Ácidos fenólicos

Según las cadenas principales C_6-C_1 y C_6-C_3 , los ácidos fenólicos se dividen en dos categorías: ácidos benzoicos y ácido cinámico, ambos se sintetizan a partir del aminoácido aromático L-fenilalanina mediante la vía del ácido shiquímico. Los ácidos fenólicos generalmente se encuentran de manera unida y pueden liberarse o hidrolizarse mediante hidrolisis ácida, alcalina o enzimas.²²

2.3.2 Flavonoides

Son un conjunto de compuestos fenólicos con 6000 estructuras conocidas diferentes. La estructura general de los flavonoides lo integran dos anillos con 6 átomos de carbono (anillo A y B) están unidos por un puente de 3 carbonos que suelen formar un tercer ciclo (anillo C) ($C_6-C_3-C_6$), donde las dos unidades de C_6 (anillo A y anillo B) son de naturaleza fenólica. Es debido a las variaciones del anillo cromano (anillo C) que los flavonoides pueden clasificarse en: flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanolles, chalconas, isoflavonoides y antocianidinas, así mismo los compuestos fenólicos incluyen a las unidades monoméricas de los denominados taninos condensados, las proantocianidinas, entre las propiedades farmacológicas que presentan son antihemorrágico, antiarrítmico, antiinflamatorio, antioxidantes, antibacteriano, antifúngico, antivírico, diurético, etc.^{21, 23}

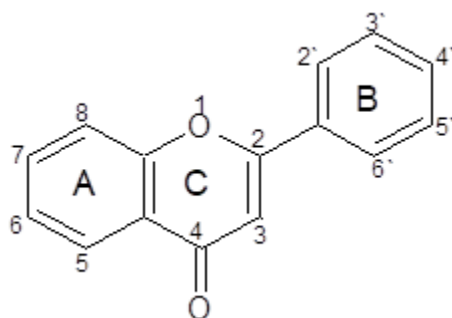


Figura 2. Estructura básica de un flavonoide.
(2-fenil-1,4-benzopirona)

2.3.4. Taninos

Son una variedad de compuestos fenólicos que presentan la capacidad para precipitar ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulasa), esta cualidad es la que le otorga la propiedad para curtir la piel y su capacidad astringente. Los taninos están agrupados en dos clases principales que son los hidrolizados y condensados. Se ha reconocido que los taninos presentan propiedades antimicrobianas, por eso se avala en su tratamiento en las úlceras, relacionada con su actividad antimicrobiana. También se utilizan como antídoto en intoxicación con metales pesado, como cicatrizantes, antidiarreicos, antiséptico, antihemorrágico, analgésico, antioxidantes.^{18,19}

2.4. Úlcera péptica

Es una afección que se caracteriza por presentar heridas en la mucosa que recubre el tracto gastrointestinal. Si la lesión es en el estómago se conoce como úlcera gástrica, mientras que si es en el duodeno se conoce como úlcera duodenal, siendo estas últimas las más frecuentes.²⁴

Actualmente se continúa considerando a la producción excesiva del ácido clorhídrico (por las células parietales) como un factor primordial en el inicio de la úlcera péptica. Aunque se cree que la principal causa de la enfermedad es el agente causante de una infección bacteriana llamado *Helicobacter pylori*. Esta bacteria infecta el estómago de una gran proporción de la población mundial (alrededor del 50%), y aunque pueden no llegar a tener ninguna sintomatología o que puedan desarrollar la enfermedad, tan solo 10 – 20 % de las personas infectadas con este microorganismo acaban desarrollando a lo largo de su vida una úlcera en el estómago y/o duodeno.²⁴

Además de la infección por *Helicobacter pylori*, la principal causa de úlceras pépticas es la ingesta de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos, incluido el ácido acetil salicílico. Estos fármacos se utilizan a menudo para tratar el dolor, inflamación y la fiebre. Son muy eficaces para tratar estos problemas, pero pueden tener efectos negativos en quien los utiliza afectando especialmente al estómago y duodeno, donde las úlceras pépticas son una de las posibles complicaciones de su uso. Los nuevos antiinflamatorios llamados “coxib” (celecoxib, rofecoxib), son igualmente eficaces para tratar el dolor y la inflamación, pero menos dañinos para el sistema digestivo, el estómago y duodeno produciendo menos lesiones.²⁴

Cabe destacar que el tabaco y el alcohol favorecen en la aparición y complicaciones de la úlcera péptica.²⁴

2.4.1. Fisiopatología

Algunos elementos pueden conducir al desarrollo de una úlcera péptica, y la última vía común es el daño del ácido gástrico al revestimiento del estómago o duodeno. Hoy en día, se cree que el principal mecanismo para el desarrollo de úlceras gástricas o duodenales es un desequilibrio entre los factores agresivos y protectores.²⁵

Los factores que actúan en la integridad de la mucosa son:

Factores agresivos: ácido, pepsina, tabaco, alcohol, ácidos biliares, AINES, isquemia, *Helicobacter pylori*.²⁶

Factores defensivos: Bicarbonatos, moco, flujo sanguíneo, prostaglandinas, regeneración celular, crecimiento celular.²⁶

2.4.2. Úlcera duodenal

Helicobacter pylori, está presente en el 95 % de los pacientes, y es el principal factor para la aparición de úlcera duodenal. Esta bacteria sobrevive en el estómago; debido a que contiene la enzima ureasa, que su función es convertir la urea en amoníaco y bicarbonato, de este modo crea un ambiente alrededor de la bacteria que amortigua el ácido secretado por el estómago. En la úlcera duodenal los factores agresivos superan a los factores protectores, lo que se entiende como consecuencia de la hipersecreción ácida por la disminución de la secreción de somatostatina y el incremento de la gastrina basal en la mucosa gástrica.^{25,26}

Mecanismos patogénicos en la úlcera duodenal:

- Incremento en la secreción de ácido y pepsina.
- Incremento del número de células G en el antro gástrico.
- Aumento de liberación de gastrina.
- Liberación selectiva de la gastrina G-17.
- Disfunción en los mecanismos duodenales que de inhiben la secreción del ácido.
- Hiperpepsinogenemia.
- Rápido vaciamiento gástrico.
- Alteración en los receptores duodenales para el ácido.

2.4.3. Úlcera gástrica:

Actualmente existen pocas diferencias fisiopatológicas entre úlceras pépticas y duodenales, y entre el 60 % y el 80 % de los pacientes con úlceras pépticas tienen infecciones por *Helicobacter pylori*. La secreción de ácido gástrico es diferente en estos pacientes y la reducción de los factores protectores es el mecanismo principal. El reflujo gastroduodenal juega un papel crucial en la reducción de la capacidad protectora de la mucosa gástrica, ya que el líquido duodenal contiene

bilis, lisolecitina y jugo pancreático, que pueden provocar daños en la mucosa gástrica.^{25,26}

Mecanismos patogénicos en la úlcera gástrica:

- Retraso en el vaciamiento gástrico.
- Reflujo biliar.
- Gastritis.
- Reducción de la resistencia de la barrera mucosa.

2.4.4. Úlceras asociadas a AINES

La inhibición de la síntesis de prostaglandinas es el componente fundamental del daño gástrico, ya que las prostaglandinas son factores protectores de la mucosa de esta región. Los resultados muestran que el uso de inhibidores de la COX-1 se relaciona con un mayor riesgo de úlceras pépticas a diferencia de los inhibidores selectivos COX-2.²⁵

2.5. Fármacos antiulcerosos

2.5.1. inhibidores de la bomba de protones (IBP)

Son los agentes antsecretorios más potentes que actúan sobre el polo apical de las células parietales gástricas, e inhiben irreversiblemente la H^+K^+ ATPasa, que consumen energía al expulsar los iones de hidrogeno (H^+) hacia el lumen gástrica combinándose con iones de cloro y formando ácido clorhídrico. Al inhibir esta enzima se provoca una disminución de la secreción ácida, tanto basal como ácida, inducida por diversos estímulos. El omeprazol fue el primer fármaco de esta clase que se utilizó clínicamente, seguida del: lanzoprazol, pantoprazol, rabeprazol y esomeprazol.²⁶

2.5.2. Antagonistas de los receptores H_2 .

En este grupo se encuentra ranitidina, famotidina, cimetidina, nizatidina y roxatidina. Estos fármacos bloquean los receptores H_2 de las células parietales, lo que inhibe la secreción ácida, reduciendo así la cantidad total de secreción y la concentración de iones de hidrogeno y acelerando la cicatrización de las úlceras.²⁶

2.5.3. Antiácidos

Estos pueden neutralizar el ácido clorhídrico del estómago, aunque no tienen efecto gastroprotector, sus beneficios en el tratamiento de las úlceras pépticas

incluyen reducir la acidez e inactivar las sales biliares y la pepsina. Son fármacos útiles para aliviar síntomas en forma rápida, su inconveniente es su acción corta, requiriéndose una dosificación repartida a lo largo del día. Dentro de este grupo los más utilizados son los alcalinos: el hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio, magaldrato, almagato.²⁶

2.5.4. Protectores de la mucosa

Los más usados son el sucralfato y el citrato de bismuto seguidos del acexamato de zinc y las prostaglandinas. Estos medicamentos promueven la curación sin inhibir la secreción de ácido. A menudo se utilizan en las profilaxis de las úlceras por estrés, porque provocan menos interacciones. Los medicamentos de este grupo protegen la mucosa, incrementando las defensas, a través de mecanismos que no se comprenden del todo. Controlan eficazmente los síntomas, y la cicatrización de las úlceras.²⁶

2.6. Ranitidina

2.6.1. Mecanismo de acción

Actúa inhibiendo en forma competitiva y reversible los receptores H₂ de las células parietales del estómago y suprimen la secreción basal del ácido estimulado por los alimentos. Son muy selectivos y no afectan a los receptores H₁ y H₃.²⁷

La ranitidina sigue los tres sistemas de producción de HCl. Inhiben la secreción de ácido gástrico estimulada por histamina y gastrina, reducen la secreción estimulada por acetilcolina y reducen el contenido de jugo gástrico como la carga de iones H⁺. También disminuyen la secreción de pepsina y favorecen el incremento de gastrina después de comer.^{27,28}

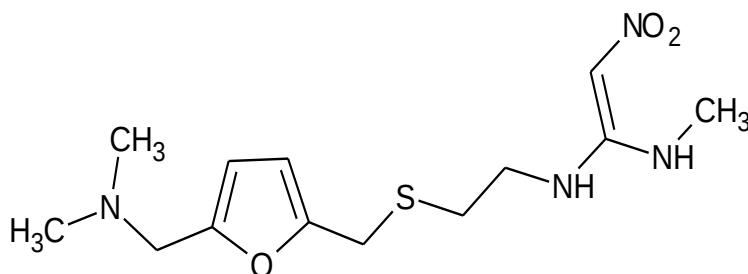


Figura 3. Estructura química de la ranitidina²⁹

1-N-(2-((5-((dimetilaminometil)furano-2-il)metiltio) etil)-N`-metil-2-nitroentano-1,1-diamina

2.6.2. Farmacocinética

Se adsorbe fácilmente en el tubo digestivo, presenta un metabolismo de primer paso que da como resultado una biodisponibilidad de 50 % por vía oral, se encuentra unida a proteínas en un 15 %, tiene un Vd de 1,2 a 1,9 L/kg, atraviesa la barrera hematoencefálica y placentaria. Se metaboliza en el hígado formando metabolitos inactivos de N-óxido de ranitidina, desmetilranitidina, S-óxido de ranitidina, además presenta un tiempo de vida media de 1,6 a 2,4 horas por vía oral, se elimina por la orina en un 30 % cuando se administra por vía oral y un 70 % vía endovenosa, también se excreta por la leche.^{27,29}

2.6.3. Reacciones adversas

Los antihistamínicos H₂ son fármacos muy seguros mostrando efectos adversos en menos de 3 % de los pacientes, sin embargo, entre las reacciones específicas que ha manifestado la ranitidina se encuentra dolor de cabeza, ginecomastia, mielosupresión, también se han presentado flatulencias, dolor abdominal, diarreas, constipación, náuseas, agitación. Las reacciones menos comunes son las que afectan al SNC las cuales son confusión, desorientación, pesadillas, mareos, alucinaciones, estas generalmente en ancianos que suelen estar relacionados con otras patologías (insuficiencia renal).^{27,28,29}

2.7. Sucralfato

2.7.1. Mecanismo de acción

Frente al daño inducido por ácido, la hidrólisis mediada por la pepsina de las proteínas de la mucosa contribuye a la erosión y ulceraciones de la mucosa. Frente a esto el sucralfato es una sal básica de sacarosa y aluminio, que en medio ácidos (pH<4), se polimeriza y forma una pasta viscosa, adherente que se fija selectivamente a las células epiteliales, sobre todo a las proteínas del cráter ulceroso o erosiones hasta por 6 horas, el sulfato de sacarosa se une a proteínas cargadas positivamente en la base de heridas o erosiones, formando una barrera física que limita el daño, inhibiendo la hidrólisis de las proteínas mucosas por la pepsina, también promueve la liberación de prostaglandinas y óxido nítrico y estimula la renovación celular y la secreción de moco y bicarbonato.^{27,28,29}

2.7.2. Farmacocinética

El sucralfato se absorbe en el tubo digestivo en una mínima cantidad, menos del 3 % del fármaco intacto. Actúa en forma local sobre la mucosa gástrica hasta por

seis horas. El sucralfato tiene una solubilidad limitada, descomponiéndose en sulfato de sacarosa y una sal de aluminio. Teniendo en cuenta que el sucralfato necesita de un medio ácido para su activación, se recomienda su administración antes de las comidas, y se debe evitar la administración conjunta con los antiácidos. Mas del 90 % de la dosis administrada se elimina en las heces.^{27,29}

2.7.3. Reacciones adversas

El sucralfato casi no se absorbe y prácticamente esta desprovista de efectos adversos generales por lo que es un fármaco muy seguro y de baja toxicidad. Únicamente se ha descrito estreñimiento en un 2 % de los pacientes, esto se debe a la presencia de sal de aluminio. No debe utilizarse en pacientes con insuficiencia renal por periodos prolongados, debido a la toxicidad del aluminio que se llega a absorber, también se han presentado malestar gástrico, boca seca, erupciones de la piel.^{27,29}

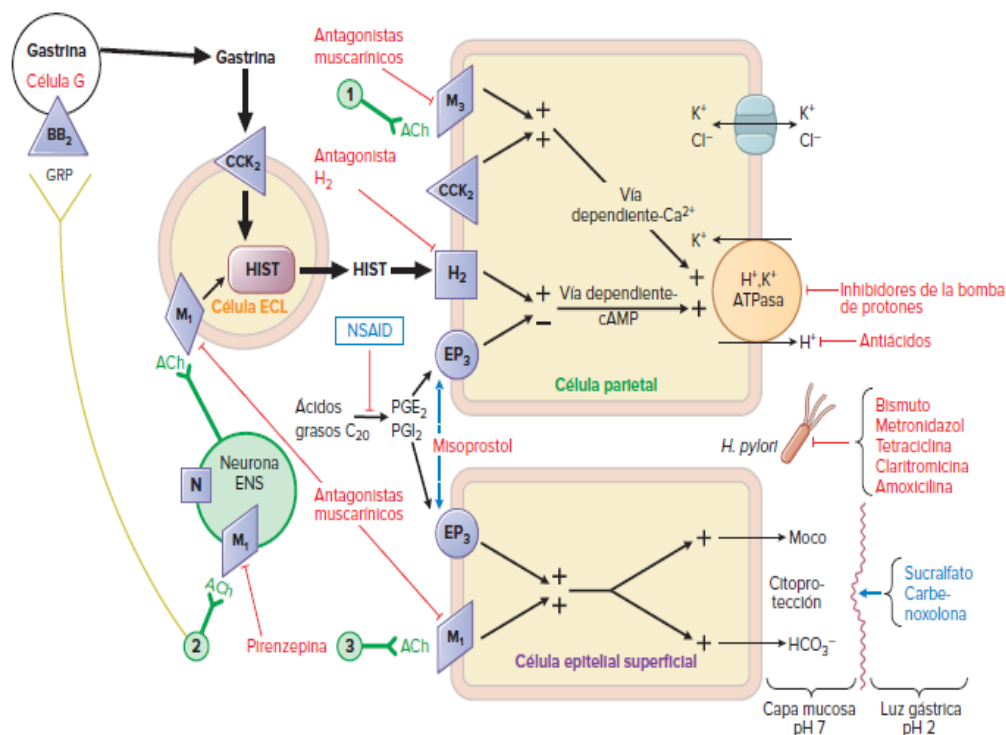


Figura 4. Regulación fisiológica y farmacológica de la secreción gástrica.²⁸

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

Laboratorios de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, de julio a diciembre del 2023.

3.2. Población y muestras

3.2.1. Población

Hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” que crecen en la región de Ayacucho e identificadas y clasificadas taxonómicamente.

3.2.2. Muestra

Dos kg de hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” (Anexo 2).

a. Criterio de inclusión:

- Las hojas deben presentar una coloración característica.
- Las hojas se encuentren libres de contaminación bacteriana, hongos o cualquier otra impureza.
- Las hojas no deben presentar estados de putrefacción.

b. Criterio de exclusión:

- Hojas con alguna plaga presente.
- Hojas maltratadas y sucias.
- Hojas de color amarillo u oscuro.

3.2.3. Unidades experimentales

35 ratas de cepa Wistar de 200 ± 20 g de peso, machos, seleccionados aleatoriamente, obtenidas del bioterio del Instituto Nacional de Salud, con dos semanas de anticipación a la realización del experimento para su adecuación a las condiciones del laboratorio.

3.3. Metodología y recolección de datos

El trabajo de investigación fue ejecutado en cinco fases.

- Recolección de muestras.
- Preparación del extracto hidroalcohólico.
- Obtención de los compuestos fenólicos.
- Identificación de compuestos fenólicos.
- Evaluación del efecto antiulceroso.

3.3.1. Recolección de muestras.

Las hojas se recolectaron en el distrito de Huamanga, utilizando el muestreo por conveniencia. Las hojas recolectadas fueron lavadas y secadas a la sombra, en un ambiente ventilado, sobre papeles, por una semana, para después ser triturados utilizando un molino.¹⁵

3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico.^{14,15,30}

- Se pesó 300 g de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” previamente lavadas, secadas y trituradas en partículas más pequeñas.
- Las hojas secas y trituradas fueron sometidas a extracción por maceración durante siete días, utilizando alcohol de 80 % en una proporción de 1:9, y agitando en forma diaria durante 30 minutos.
- Transcurrido el tiempo se filtró el extracto hidroalcohólico, desechando el residuo para utilizar solo el filtrado.
- El extracto fue concentrado en un rotavapor a presión reducida, finalmente fue llevada a una estufa a una temperatura menor a 40 °C, hasta sequedad total.
- El extracto obtenido fue almacenado hasta su utilización.

3.3.3. Obtención de los compuestos fenólicos.^{31,32}

- El extracto hidroalcohólico obtenido fue diluido en agua destilada, para posteriormente ser tratado con 300 mL de éter de petróleo, que permite el limpiado de otros metabolitos y grasas.
- Se procedió a realizar la extracción líquido – líquido utilizando 150 mL de aceto de etilo, en una pera de separación, que permite recuperar la fracción de acetato de etilo.
- La fracción de acetato de etilo fue evaporada hasta sequedad, obteniendo finalmente los compuestos fenólicos.

3.3.4. Identificación de metabolitos secundarios.

La identificación de los compuestos fenólicos fue realizada según la metodología propuesta por Miranda.³³

Alcaloides:

- **Ensayo de Wagner:** Sobre una alícuota del extracto, se colocó 1 mL de ácido clorhídrico al 1%, posteriormente se añadió tres gotas de reactivo Wagner, el ensayo es positivo por la aparición de un precipitado.

Azucares reductores:

- **Ensayo de Fehling:** En 2 mL del extracto en solución, se añadió 2 mL de reactivo de Fehling, posteriormente fue calentado en baño maría por 5 minutos. El ensayo es positivo por la aparición de un precipitado rojo.
- **Ensayo de Benedict:** En 2 mL del extracto en solución, se añadió 2 mL de reactivo Benedict, posteriormente fue calentado en baño maría por 5 minutos. El ensayo es considerado positivo por la aparición de un precipitado rojo.

Cumarinas:

- **Ensayo de Baljet:** Se añadió 1 mL del reactivo Baljet (NaOH al 10 % y ácido pícrico al 1 % en etanol) a una porción del extracto. La prueba fue considerada positiva por la aparición de una coloración roja.

Saponinas:

- **Ensayo de espuma:** Se mezcló una porción del extracto con una cantidad de agua equivalente a cinco veces su volumen, para ser movido vigorosamente

por 5 minutos. El ensayo es positivo por la formación de espuma en la superficie del líquido por más de 2 minutos.

Aminoácidos:

- **Ensayo de Ninhidrina:** A una porción del extracto en solución, se añadió 2 mL de ninhidrina al 2 %, la mezcla fue calentada por 5 minutos en baño de agua hirviendo. El ensayo fue positivo por la formación de un color azul violeta.

Taninos y/o fenoles

- **Ensayo del cloruro férrico (FeCl_3):** En un tubo de ensayo que contiene una alícuota de la fracción de acetato de etilo se añadió tres gotas de FeCl_3 al 5%. El ensayo fue positivo para compuestos fenólicos pirocatecolicos por obtener una coloración verde intenso.

Flavonoides:

- **Ensayo de Shinoda:** En un tubo de ensayo que contiene una alícuota de la fracción de acetato de etilo, se añadió 1 mL de ácido clorhídrico y un pedazo de cinta de magnesio, se dejó reaccionar por 5 minutos. El ensayo fue positivo para flavonoides al obtener una coloración rojo intenso.

Cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos aislados

Fase estacionaria: Placa cromatográfica de Sílica gel 20 x 20. **Fase móvil:** Butanol: ácido acético: agua (4:1:5). **Volumen de inyección:** 20 μl , **Revelador:** Luz ultravioleta, cloruro férrico.

La fracción de acetato de etilo se disolvió mediante la adición de 1 mL de metanol, se realizó la siembra utilizando un capilar de vidrio en la parte inferior de la placa cromatográfica, posteriormente se colocó la placa sobre la cámara que contenía la fase móvil. Cuando la fase móvil recorrió $\frac{3}{4}$ de la longitud total de la placa, se procedió a retirarle y dejarla secar al aire, posteriormente se observa en lámpara UV, y finalmente fue revelado con cloruro férrico al 5% para observar la presencia de manchas.¹⁵

3.3.5. Evaluación del efecto antiulceroso.

Método:

Fue realizado mediante el método de inducción de úlcera gástrica por etanol descrita por Arroyo.³⁴

Procedimiento:

- Las ratas de experimentación fueron colocadas en jaulas de metal durante una semana para aclimatarse, previo al desarrollo de la prueba, con acceso libre a agua y alimento.
- Se emplearon 35 animales para la investigación, los cuales fueron sometidos a ayunas por 24 horas antes de comenzar la prueba, solamente con acceso a agua *ad libitum*.
- Como medicamentos patrón se emplearon la ranitidina a dosis de 100 mg/kg y sucralfato a dosis de 400 mg/kg, como única dosis.
- Una hora antes de la administración del agente inductor de úlceras (etanol 75 %), a los animales se les administró los respectivos tratamientos por vía oral, usando una cánula de metal, según se detalla en la Tabla 1.
- Para la inducción de úlceras gástricas se utilizó 1 mL de etanol al 75 %, a dosis única.

Tabla 1. Distribución de grupos para la evaluación del efecto antiulceroso.

Grupo	Repeticiones	Tratamiento	Vehículo y Agente Ulcerogénico
I	5	Suero fisiológico	SSF 1 mL
II	5	Suero fisiológico	Etanol 75 % 1 mL
III	5	Ranitidina 100 mg/kg	Etanol 75 % 1 mL
IV	5	Sucralfato 400 mg/kg	Etanol 75 % 1 mL
V	5	CF <i>Piper elongatum</i> Vahl. 50 mg/kg	Etanol 75 % 1 mL
VI	5	CF <i>Piper elongatum</i> Vahl. 100 mg/kg	Etanol 75 % 1 mL
VII	5	CF <i>Piper elongatum</i> Vahl. 200 mg/kg	Etanol 75 % 1 mL

Leyenda: I: Blanco, II: Control, III: Estándar 1, IV: Estándar 2, CF: Compuesto fenólico.

- Una hora después de administrar etanol al 75 %, se sacrificó a los animales usando una sobredosis de pentobarbital sódico (Halatal) de uso veterinario por vía intraperitoneal (150 mg/kg). Seguidamente, se extrajeron los estómagos realizando una laparotomía abdominal, siendo abiertas por la curvatura mayor, recolectando la secreción gástrica y midiendo su volumen y pH.

- Posteriormente se procedió a lavar los estómagos con cloruro de sodio y se extendieron sobre una tabla de plastoformo. Para calificar los daños de la mucosa gástrica, se evaluó sumando el número de lesiones, teniendo en cuenta su tamaño, ocurrencia de hemorragias, edema, pérdida de plegado y decoloración.
- El índice de lesiones ulcerosas fue calculado de acuerdo a la metodología de Gamberini *et al*, 1991.³⁴

Tabla 2. Cálculo de índice de la lesión ulcerosa según Gamberini *et al*, 1991.³⁴

Puntaje	OBSERVACIÓN
Coloración de la mucosa	
0	Normal
1	Hiperémica
1	Descolocada
1	Perdida de pliegues
	Petequias
1	Leve
2	Moderada
3	Fuerte
	Edema
1	Leve
2	Moderada
3	Fuerte
	Hemorragia
1	Leve
2	Moderada
3	Fuerte
	Pérdida de mucosa
1	Leve
2	Moderada
3	Fuerte
	Lesiones necrohemorrágicas
1	Hasta 1 mm
1	Mayor 1 mm
5	Perforadas
3	Exudado celular

- Se obtuvo el porcentaje de inhibición ulcerogénica, a través del cálculo de la puntuación promedio del índice de ulceración de los grupos trabajo y la puntuación promedio del índice de ulceración del grupo control.
El puntaje total se representa como un porcentaje de inhibición en relación con el índice de ulceración del grupo control, según:

$$\% IU = \frac{IUc - IUm}{IUc} \times 100$$

Donde:

%IU = Porcentaje de inhibición ulcerogénica

IUc = Índice de ulceración medio del grupo control

IUm = índice de ulceración medio de la muestra o estándar.

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

- Finalmente, los estómagos extraídos y lavados de cada uno de los grupos en la investigación fueron sometidos a estudio histopatológico, para que de forma microscópica se permita evidenciar las lesiones producidas sobre la mucosa gástrica.

3.4. Tipo y diseño de investigación,

3.4.1. Tipo de investigación

Básica – Experimental.

Hernández *et al.*³⁵, Describe que el tipo de investigación es experimental ya que existe manipulación de la variable independiente (dosis de los compuestos fenólicos aislados) y la posterior medición de la variable dependiente (efecto antiulceroso).

3.4.2. Diseño de investigación

El diseño que se planteó para evaluar el efecto antiulceroso fue experimental con posprueba únicamente y grupo control, que de manera simbólica se expresa de la siguiente manera:³⁵

RG _C	---	O _C
RG _P	X _P	O _P
RG _M	X _M	O _M

Donde:

RG_C: Grupo control

RG_P: Grupo patrón (ranitidina, sucralfato)

RG_M: Grupo experimental

X_M: Compuestos fenólicos aislados a concentración de 50, 100 y 200 mg/kg.

X_p: Ranitidina 100 mg/kg y sucralfato 400 mg/kg.

O: Observación

---: Ausencia de estímulo.

3.5. Análisis de datos

Las diferencias de los grupos se evaluaron mediante la prueba de ANOVA (Análisis de varianza), con una significancia del 95 %, del mismo modo se realizó la prueba Post hoc de Tukey para visualizar la similitud entre las medias de los grupos.

IV. RESULTADOS

Tabla 3. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”. Ayacucho 2023

Metabolito secundario	Ensayo	Resultado	Observación
Alcaloides	Wagner	++	Precipitado blanquecino
Azucares reductores	Fehling	++	Precipitado rojo
	Benedict	++	Precipitado rojo
Cumarinas	Baljet	++	Coloración roja
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espuma
Aminoácidos	Ninhidrina	+++	Coloración azul

Leyenda:

(+++) : Abundante.

(++) : Regular.

(+) : Poca.

Tabla 4. Identificación de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”. Ayacucho 2023

Ensayo	Resultado	Características	Resultado
FeCl ₃ 5 %	+++	Verde oscuro	Compuestos fenólicos
Shinoda	+++	Rojo intenso	Flavonoides
(+) Escaso	(++) Regular	(+++) Abundante	

Tabla 5. Volumen y pH del contenido gástrico según tratamiento con compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”. Ayacucho 2023

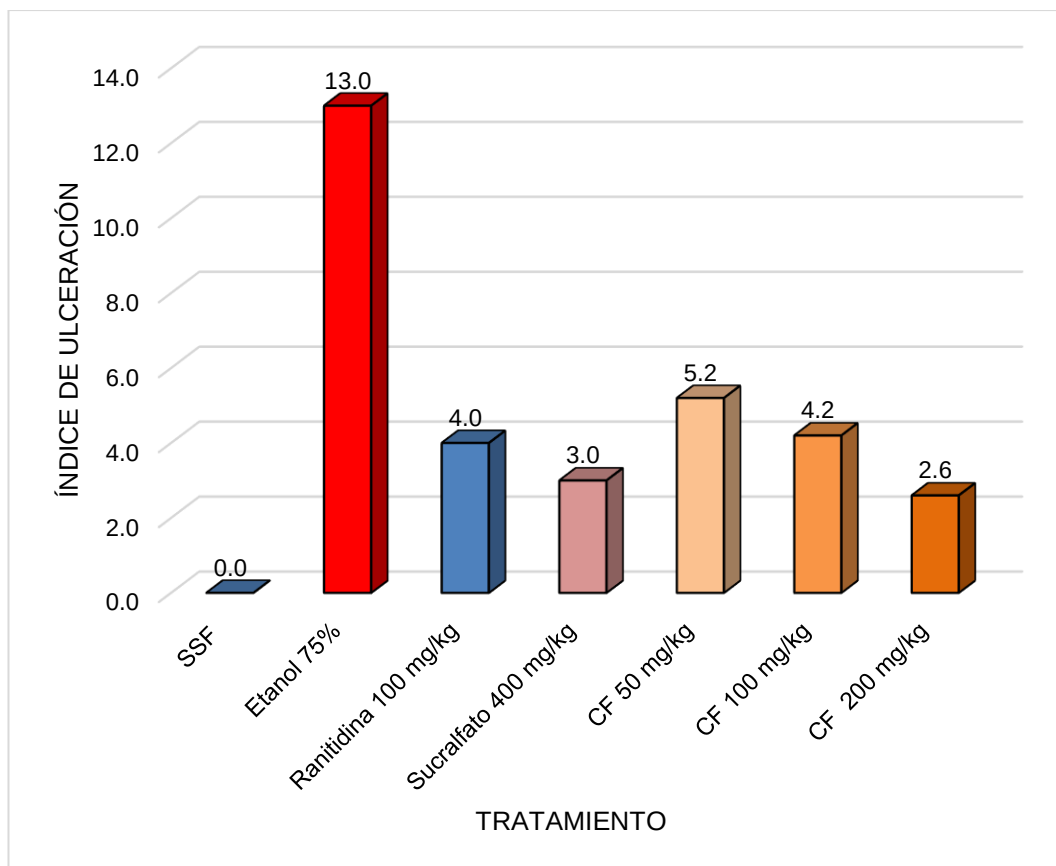
Grupo experimental	Volumen (mL)	pH
	Media $\pm$ DE	Media $\pm$ DE
Blanco (SSF)	0,48 $\pm$ 0,41	3,00 $\pm$ 0,71
Control (Etanol 75 %)	1,26 $\pm$ 0,66	2,80 $\pm$ 0,84
Ranitidina 100 mg/kg	1,00 $\pm$ 0,74	5,40 $\pm$ 0,89
Sucralfato 400 mg/kg	1,16 $\pm$ 0,22	3,80 $\pm$ 0,45
CF 50 mg/kg	1,28 $\pm$ 0,61	3,80 $\pm$ 0,45
CF 100 mg/kg	0,36 $\pm$ 0,11	4,40 $\pm$ 0,55
CF 200 mg/kg	0,52 $\pm$ 0,16*	5,60 $\pm$ 0,5 **

DE: desviación estándar

CF: Compuesto fenólico

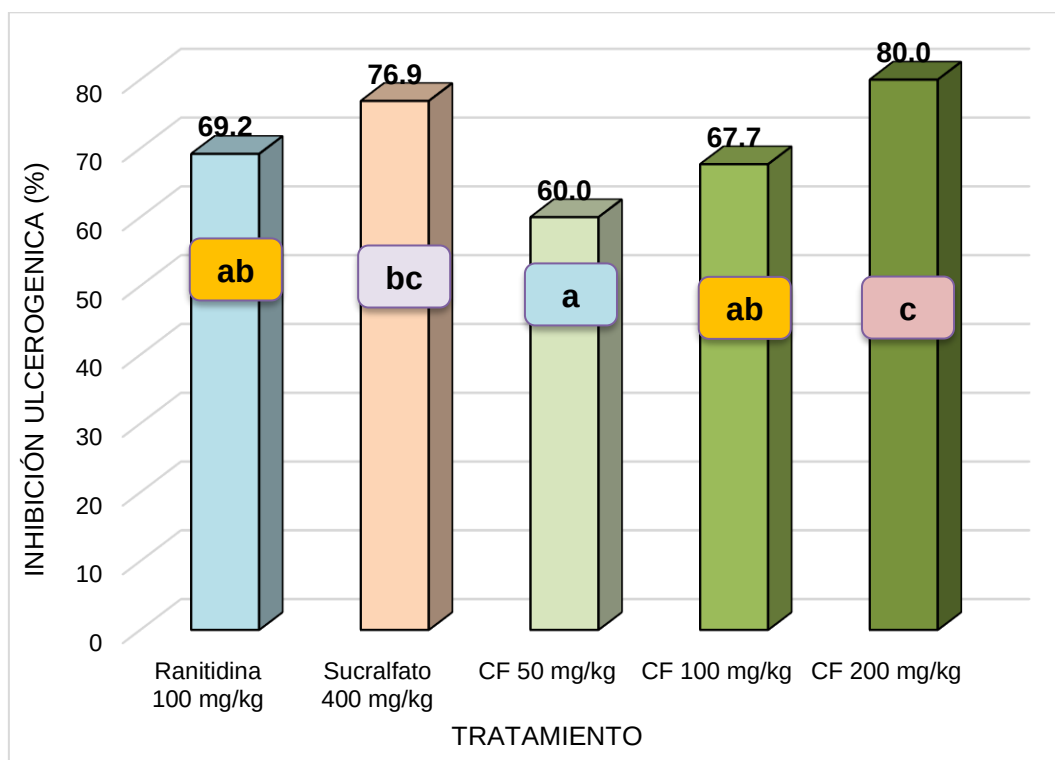
* ANOVA p = 0,019

** ANOVA p= 6,0x10⁻⁶



ANOVA ($p= 6,25 \times 10^{-18}$)

Figura 5. Índice de ulceración por tratamiento con los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”. Ayacucho 2023



ANOVA ($p = 4,14 \times 10^{-5}$)

Figura 6. Porcentaje de inhibición ulcerogénica según tratamiento con los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. "matico". Ayacucho 2023

V. DISCUSIÓN

Son diversas las propiedades y usos medicinales que se le atribuyen al mático, entre ellas se encuentran el alivio de diversas enfermedades como es el caso de bronquitis, neumonía, enfermedades gastrointestinales, también usado para desinfectar llagas exteriores, antialérgico, antibacteriano, detener hemorragias, úlceras, aliviar el dolor estomacal, entre otros.^{3,36} Las diferentes especies del género *Piper*, como es *Piper attenuatum*, *Piper nigrum*, *Piper sarmentosum* y *Piper aduncum* han demostrado importantes propiedades antiulcerosas y gastroproteras en varios estudios, como los de Kumar *et al*,³⁷ Duan *et al*,³⁸ Valderrama,⁸ al aumentar los niveles de pH, previenen las lesiones de la mucosa gástrica mediante la prevención del estrés oxidativo, reducen las úlceras gástricas y los marcadores inflamatorios a través de la normalización de los niveles de óxido nítrico. Estos hallazgos colectivos sugieren que varias especies de *Piper* poseen propiedades gastroprotectoras y antiulcerosas, indicando el potencial de *Piper elongatum* para exhibir efectos beneficiosos similares. Atribuyendo esta actividad de fortalecer la mucosa gástrica a la presencia de los compuestos fenólicos en los extractos estudiados.

Es por esta razón que en este trabajo de investigación se determinó el efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” en ratas, utilizando la metodología de inducción de úlceras gástricas empleando el etanol al 75 %. Para esta investigación se decidió aislar los compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de las hojas del matico, obtenido por maceración con alcohol al 80 %, debido a que el extracto hidroalcohólico del matico es un preparado concentrados de metabolitos secundarios, en el cual según **tabla 3**, se identificaron alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, saponinas y aminoácidos, estos resultados son contrastados por los obtenidos por Chavez,³⁹ quien durante la marcha fitoquímica

del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum*, identifiqué la presencia alcaloides, azúcares reductores, saponinas, lactonas, además de quinonas, antocianinas, triterpenos y carbohidratos.

Para la identificación de los fenoles aislados en la muestra se utilizó el método propuesto por Miranda.³³ Debido a la presencia de grupos hidroxilo en la estructura química de los compuestos fenólicos, estos metabolitos secundarios tienden a precipitar en presencia de cloruro férrico, este fenómeno se debe al ataque del ion cloruro al hidrogeno del hidroxilo, lo que provoca una ruptura del enlace y la unión del grupo fenóxido al hierro, resultando en la formación de complejo.⁴⁰

En la **Tabla 4**, se muestra la identificación de fenoles y flavonoides en los compuestos fenólicos aislados de las hojas de matico. El ensayo con cloruro férrico al 5 % nos revela la presencia de compuestos fenólicos en la muestra analizada, y en la cual presentó una coloración verde intenso, lo que confirma la presencia abundante de estos metabolitos. La prueba del cloruro férrico es una prueba colorimétrica tradicional para fenoles, que usa, una solución de cloruro de hierro (III) hasta que forme un complejo conocido como cloruro férrico-folato, este puede ser un complejo coloreado transitorio o permanente (púrpura, verde o azul) la cual indica la presencia de un fenol o enol.⁴⁰ Además de ello se empleó la prueba de Shinoda, que es un ensayo particular para la detección de flavonoides. Este ensayo se interpreta como positivo cuando el alcohol amílico adquiere tonalidades de amarillo, naranja o rojo intenso en todas las situaciones.⁴¹ Para esta reacción se utiliza el magnesio metálico como agente reductor y el ácido es probablemente el activador del grupo carbonilo del flavonoide para reducirlo protonándolo. Si la muestra de prueba contiene flavonoides estos serán reducidos a antocianidinas con coloración de naranja a roja⁴², es por eso que en la **Tabla 4**, se muestra el resultado obtenido al utilizar el ensayo de Shinoda, dando una coloración rojo intenso, confirmándose de esta manera la presencia de abundantes flavonoides. Estos resultados se contrastan con los reportados por Martínez,³⁰ quien también identifiqué la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper elongatum* Vahl, utilizando los ensayos de cloruro férrico y Shinoda, respectivamente, mostrando una coloración verde intensa en la reacción con cloruro férrico y roja intenso con el reactivo de Shinoda, igual a la coloración obtenida con nuestra muestra.

La cromatografía en capa fina es una técnica rápida y común que utiliza una fase estacionaria (como una placa de gel de sílice, y una fase móvil compuesta por uno

o varios disolventes. En esta técnica, los compuestos de interés se eluyen de la fase móvil. La fase estacionaria, que es de naturaleza polar, actúa como un absorbente y su principal función es retener los compuestos debido a las interacciones dipolo-dipolo. Por otro lado, la fase móvil, al ser más polar, tiene una mayor fuerza de elusión, lo que facilita la separación de compuestos.⁵⁵ En el **Anexo 7**, se muestra la separación de los compuestos fenólicos mediante cromatografía en capa fina a una longitud de onda de 365 nm, ya que permite una mejor visualización de la separación de los compuestos debido a la presencia de varios colores e intensidades que permitieron calcular el factor de retención (RF) para cada franja presente en el cromatograma (**Anexo 8**), se calculó que los valores de RF de las muestras coinciden con los del estándar utilizados, además de presentar otros compuestos separados en otros RF. En el estudio presentado por Hurtado *et al.*⁵⁶, desarrollaron la cromatografía en capa fina de los compuestos fenólicos de las hojas del nogal, dando valores de RF de 0,80 para el ácido gálico y de 0,86 para la quercetina, la diferencia entre los valores de RF con los de nuestra investigación, se debe a que el grado de elución de las sustancias depende tanto de su propia polaridad como la polaridad de la fase móvil utilizada, y debido a que los componentes de la muestra recorren por la placa a diferentes velocidades dependen de su solubilidad y su grado de retención por la fase estacionaria. De igual forma se puede confirmar la presencia de compuestos fenólicos por presentar fluorescencia de colores naranja, amarillo, rosado y lila en el cromatograma evaluado. En la investigación de Huachaca⁵², se realizó el análisis cromatográfico de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de nogal, evidenció fluorescencia de color amarillo, violeta, verde y marrón. Campos⁵³, también reportó en su estudio de los compuestos fenólicos de achiote, fluorescencia de color rojo, amarillo opaco, celeste y azul típicos de compuestos fenólicos.

En el anexo 10, se muestra la cuantificación de fenoles totales utilizando la metodología de Folin-Ciocalteu, y obteniendo un valor de 41,69 mg EAG/g de muestra seca. En la investigación desarrollada por Rojas,⁵⁷ presentó en contenido de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de matico (*Piper aduncum* L), utilizando cuatro temperaturas en la obtención del extracto, los valores que se obtuvo fueron de 0,72 mg EAG/g (32 °C); 2,03 mg EAG/g (40 °C); 1,93 mg EAG/g (50 °C) y 1,85 mg EAG/g (60 °C). La fragilidad de la pared celular se ve afectada por la temperatura, lo que a su vez provoca un incremento en la

liberación de los polifenoles. También en otro estudio, desarrollada por Espinoza,⁵⁸ quien cuantificó los fenoles totales presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de matico (*Piper aduncum* L) extraído a 45 °C y utilizando el método de Folin-Ciocalteu, se obtuvo un valor de 10,8 mg EAG/gde extracto, basándonos en estos datos, se puede observar que el contenido de fenoles totales en nuestra investigación es mayor que el reportado por otros autores. Esto se debe, en primer lugar, al hecho de que estamos trabajando con compuestos fenólicos puros extraídos del extracto hidroalcohólico. Esta diferencia considerable en la cantidad de fenoles cuantificados también podría explicarse en el estudio realizado por Oré,¹⁴ quien registró un valor elevado de fenoles totales (136,03 mgEAG/g de extracto seco), al utilizar los compuestos fenólicos aislados del extracto hidroalcohólico al 70 % de las hojas y tallos de *J. macrantha* Mull. Arg., Si en ambos trabajos se está utilizando compuestos fenólicos puros, la diferencia en la cantidad de fenoles totales también pueden verse influenciado por el tipo de extracción y los solventes utilizados, es el caso de en el estudio reportado Valdez *et al*,⁶⁰ quienes cuantificaron el contenido de fenoles totales en la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) utilizando tres diferentes tipos de extracto (acuoso, hidroalcohólico al 20 % e hidroalcohólico al 50 %), sus resultados mostraron que con el extracto hidroalcohólico al 20 % se cuantificó la mayor cantidad de fenoles con un valor de 1007,6 mg EAG/L, mientras que al aumentar la concentración del etanol (extracto hidroalcohólico al 50 %) se registró un valor de 505,1 mg EAG/L, para el caso del extracto acuoso se obtuvo un valor de 769,3 mg EAG/L, de fenoles totales. Existen varios factores que pueden influir en la cantidad de fenoles totales en una muestra vegetal. Uno de ellos es la genética de la planta, ya que la composición de los fenoles puede variar entre diferentes variedades de la misma especie vegetal. Además, los factores ambientales, como la luz y la temperatura, también pueden tener un impacto significativo en el desarrollo de la planta y en su estado óptimo de maduración, lo que a su vez puede afectar la cantidad de fenoles presentes en la cosecha. Estos pueden contribuir a las diferencias observadas en la cantidad de fenoles totales entre las muestras vegetales.

El método de Folin-Ciocalteu, es una técnica utilizada para determinar el contenido fenólico total en productos vegetales. Este método combina la espectroscopia UV con una reacción colorimétrica para cuantificar los agentes fenólicos presentes. La reacción ocurre en un medio alcalino, lo que resulta en la formación de una

solución azul que puede ser caracterizada a una longitud de onda de 725 nm. De esta manera, es posible medir la cantidad de fenoles presentes en una muestra analizada. El reactivo Folin-Ciocalteu, termina con la obtención de ácido de fosfomolibdotungstico (amarillo), que al ser reducido por los compuestos fenólicos forman un complejo de fosfomolibditico-fosfotungstico (azul). Por lo cual, mediante una curva de calibración, con el ácido gálico como estándar, permite cuantificar el contenido fenólico de la muestra.

Por otra parte, según Martines⁴³, en su estudio de significado nutricional de los compuestos fenólicos, menciona que estos presentan diferentes propiedades medicas entre las que destacan sus efectos vasodilatadores, anticarcinogénicos, antiinflamatorios, bactericidas, antivirales, entre otros. Además, existen estudios en los que se le atribuyen propiedades antiulcerosas y gastroprotectores.

La úlcera péptica se caracteriza por la pérdida de tejido en la mucosa del tracto digestivo. Esta condición se caracteriza por la manifestación de una lesión en forma de herida que puede ser más o menos profunda. Estas úlceras se localizan en áreas de tracto digestivo que estas expuestas a la acción de ácido clorhídrico y la pepsina, sustancias que desempeñan un papel importante en la digestión. Existen varios factores agresivos que pueden alterar la integridad de la mucosa son: el ácido clorhídrico, pepsina, tabaco, alcohol, ácidos biliares, AINE, *H. Pylori*.⁴⁴

Para llevar a cabo el estudio, se usó el método de inducción de úlceras gástricas por etanol al 75 %, el cual fue descrita por Arroyo³⁴. Este método se utilizó debido a que el etanol es un agente irritante extremadamente que provoca daño en el revestimiento del estómago, resultando en lesiones necrosantes en la mucosa debido a su efecto toxico directo. El etanol también produce una reducción en la secreción de gastrina e histamina, lo que ocasiona una mayor liberación de ácido y una disminución general del pH en el estómago. El etanol provoca alteraciones histopatológicas significativas en la mucosa gástrica de estómagos en ratas y ratones, los cuales se manifiestan como lesiones erosivas hemorrágicas, acompañadas de congestión vascular, edema y necrosis,⁴⁵ este modelo experimental permite simular las condiciones de las úlceras gástricas y proporciona una base para estudiar los efectos de diferentes tratamientos o sustancias en la prevención y curación de estas lesiones.

En la **Tabla 5**, se proporciona los valores de pH según tratamiento con

compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”. El pH del grupo blanco registró un valor de 3,00; debido a que el pH basal de la cavidad estomacal comprende entre 1,5 y 3,0.⁴⁶ El grupo control positivo registró un pH 2,80; debido al incremento de la acidez gástrica por acción del etanol, mientras que la ranitidina tiene un pH de 5,40 mayor al del blanco, debido a la reducción de la secreción ácida que presenta, para el sucralfato dentro de su mecanismo de acción indica que tiene la capacidad mínima para neutralizar la acidez, por lo que modifica ligeramente el pH de las condiciones basales,⁴⁷ obteniendo un valor de pH 3,80. Los compuestos fenólicos a dosis de 50 mg/kg presentaron un valor de pH de 3,80; el valor de mayor acidez, mientras que a las dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg, fueron de pH 4,40 y 5,60 respectivamente, siendo el pH a dosis de 200 mg/kg el de mayor valor incluso superior a la de los estándares. Al realizar la prueba de análisis de varianza ($p < 0,05$), se mostró que entre las medias existe diferencia significativa (**Anexo 18**), y con la prueba de Tukey (**Anexo 20**) se determina que el grupo que se le administró la ranitidina y los compuestos fenólicos a dosis de 100 y 200 mg/kg son estadísticamente similares ($p > 0,05$). Se observa que existe una relación dosis dependiente, debido que a mayor concentración de compuestos fenólicos mayor será el pH gástrico, teniendo la mayor dosis de 200 mg/kg la que presenta el pH más elevado casi similar al estándar ranitidina. Los compuestos fenólicos, tienen un carácter ácido por ser fenoles, esto explica el menor valor de pH a dosis de 50 mg/kg, sin embargo, a dosis más elevadas incrementan el valor de pH. Por ello podríamos mencionar que a menor dosis tiene un carácter ácido, sin embargo, a dosis más altas pueden inhibir la acción de la histamina que favorece la liberación de ácido gástrico.⁴⁸ Es así que la investigación desarrollada por Córdova¹⁵, sobre la actividad antiulcerosa de los compuestos fenólicos aislados de *Rumex crispus* L., al evaluar el pH del contenido gástrico, muestra que a mayor dosis de compuestos fenólicos administrados el pH gástrico se eleva, dando así valores de pH de 3,02; 3,81 y 4,79 al usar dosis de 5, 10 y 20 mg/kg de los compuestos fenólicos, de igual forma el pH que obtuvo del grupo control fue similar al que se obtuvo en nuestra investigación de un valor de 2,882.

También en la **Tabla 5**, se proporciona los valores del volumen del contenido gástrico resultantes de la administración de cloruro de sodio 0,9 %, etanol 75 %, ranitidina, sucralfato y compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”. Se observa que con el etanol presenta un volumen de

1,26 mL, superior a los estándares, mientras que para la ranitidina fue de 1,00 mL y el sucralfato 0,62 mL, para el caso de los compuestos fenólicos a la dosis de 50 mg/mL presenta un volumen similar al de grupo control con 1,28 mL, y a las concentraciones de 100 y 200 mg/mL, muestra una reducción del volumen gástrico hasta 0,36 y 0,53 mL respectivamente. Según la farmacocinética del etanol en el organismo este produce una reducción del vaciamiento gástrico, además de que el organismo segrega líquido para proteger la mucosa y pared estomacal.⁴⁹ La ranitidina actúa sobre los receptores H₂ de la histamina, produciendo una inhibición de la secreción ácida, dando como resultado una reducción del jugo gástrico²⁷, por tanto, se explica el volumen obtenido de 1,00 mL, menor a la del grupo control. Para el caso del sucralfato, se obtuvo un valor de 1,16 mL, semejante al control, ya que según su mecanismo de acción frena el vaciamiento gástrico, para prolongar la retención del sucralfato en el estómago y continúe con su efecto antiulceroso.⁴⁷ Los compuestos fenólicos aparentemente utilizando dosis elevadas reducen el contenido gástrico, por sus efectos antisecretores. Arroyo,¹⁰ refirió en su estudio que el volumen del contenido gástrico obtenido con el extracto acuoso e hidroalcohólico de *Piper elongatum*, fue de 4,5 mL y de 3,3 mL, respectivamente mientras que estándar ranitidina presentó un valor de 1,0 mL, menor que el grupo control con 7,1 mL. Se observa que estos resultados podrían estar variando en comparación con los nuestros por la metodología utilizada y además porque en nuestro estudio estamos utilizando solo los compuestos fenólicos extraídos, que son los que se le tribuyen estas propiedades. También está el trabajo de Martínez,⁵⁰ quien señala que a mayor dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bougainvillea spectabilis* “bougainvillea”, produce una reducción del volumen del contenido gástrico, dando valores de 8,24; 7,70 y 5,96 mL a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg, esta actividad podría deberse a los compuestos fenólicos encontrados en el extracto, ya que reaccionaron ampliamente a los ensayos de Shinoda y Cloruro férrico.

En la **Figura 5**, se presenta los valores del índice de ulceración resultantes después de la administración de cloruro de sodio 0,9 %; etanol 75 %; ranitidina; sucralfato y compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl., utilizando para ello la escala de Gamberini. El grupo control muestra los valores más altos de índice de ulceración, con un puntaje de 13,0; lo que confirma el daño gástrico que produce el etanol, como la investigación desarrollada por Quispe,⁵¹ donde el grupo control presenta el mayor índice de ulceración, con pérdida de la

mucosa gástrica, formación de edemas, y evidencia erosiva en el epitelio. Para el caso de los grupos de la ranitidina y sucralfato presenta valores de índice de ulceración de 4,0 y 3,0 respectivamente, mostrando su actividad como protectores gástricos frente a agentes agresores como es el etanol, para los compuestos fenólicos aislados el índice de ulceración es dependiente de la dosis, a medida que se utiliza una dosis menor, se observa un índice de ulceración mayor, siendo la dosis de 200 mg/kg con el menor valor de 2,6; incluso, menor al de los estándares resultados similares fueron obtenidos por Huachaca,⁵² donde a menor dosis de los compuestos fenólicos aislados de *Junglas neotropica* Diels utilizado, mayor es el índice de ulceración obtenida, mostrándose valores de 15, 4 y 2 a dosis de compuestos fenólicos a 0,5; 1,0 y 2,0mg/kg. Al someter los resultados a análisis de varianza (**Ver Anexo 18**) observamos que las medias de los grupos, presentan diferencia significativa ($p < 0,05$), por lo que al utilizar la prueba de Tukey (**ver Anexo 21**) se evidencia que el grupo que recibió los CF a dosis de 200 mg/kg es estadísticamente similar al grupo que recibió el sucralfato ($p > 0,05$).

La **Figura 6**, muestra los resultados del porcentaje de inhibición ulcerogénica resultantes a la administración de la ranitidina, sucralfato y compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” a diferentes dosis. En concordancia con la **figura 5**, el sucralfato y los compuestos fenólicos a dosis de 200 mg/kg son los que presentan un mayor porcentaje de inhibición ulcerogénica, con valores de 76,9 % y 80,0 %, mientras que la ranitidina presentó un valor de 69,2 %, finalmente los compuestos fenólicos a dosis de 50 mg/kg, obtuvo un valor de 60,0% y la dosis de 100 mg/kg, 67,7 %. Estos resultados se contrastan con los datos obtenidos por Arroyo,¹⁰ quien demostró que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper angustifolium* R & P, presenta un porcentaje de inhibición del índice ulceroso de 75,6 %; con buena reducción de número de lesiones gástricas, cuando se indujo las úlceras con indometacina, mientras que el extracto acuoso alcanzó un 44,1 % de protección. También en el estudio sobre el efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L., otra especie perteneciente al género *Piper*, realizado por Valderrama,⁸ obtuvo como resultado que su extracto alcanzó un 46,7 %, de protección de las mucosas gástricas, sin embargo, inferior y estadísticamente diferente al estándar ranitidina que alcanzo un 83,3 % de protección. Esta diferencia en comparación con nuestro estudio sería a causa de que nosotros estamos trabajando con los compuestos fenólicos aislados del matico, los cuales son los metabolitos a los que se le atribuyen sus

propiedades, mientras que Arroyo,¹⁰ solo utilizó el extracto hidroalcohólico de la planta, de igual forma que Valderrama,⁸ quien además utilizó otra especie, que también es conocida como matico, la cual según los antecedentes ya mencionados, por Alvarado¹², Rojas,⁵⁸, Espinoza,⁵⁹ presenta menor cantidad de compuesto fenólicos cuantificados. Es por esto que, en el estudio de campos,⁵³ quien trabajo con solo los compuestos fenólicos aislados de *Bixa orellana* L. determino que a mayor dosis de compuestos fenólicos mayor será el porcentaje de inhibición de ulceración, ya que, al usar dosis de 4, 8 y 16 mg/kg, obtuvo %IUG de 47, 75 y 81 % respectivamente, y el trabajo de Óré,¹⁴ quien también trabajo con los compuestos fenólicos aislados de las hojas y tallos de *Jatropha macranthe* Mull. Arg. “huanarpo macho”, obtuvo que el %IUG de la ranitidina (76,47 %), sucralfato (88,24 %) son estadísticamente similares a los CF a dosis de 100 mg/kg (88,24 %).

Evidentemente en nuestra investigación la dosis de mayor efecto antiulceroso es la de 200 mg/kg, acoplándose a la relación de que a mayor dosis mayor será su efecto antiulceroso. Al realizar el análisis de varianza (**Anexo 24**), se muestra que existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los tratamientos utilizados ($p < 0,05$), y en la prueba post hoc de Tukey (**Anexo 25**), se observa que los grupos tratados con ranitidina, sucralfato y CF a dosis de 100 mg/kg son estadísticamente similares ($p > 0,05$), de igual forma la comparación de los CF a dosis de 200 mg/kg resulta similar a la de los dos estándares usados ($p > 0,05$). Esto demostraría que el efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos a dosis de 100 y 200 mg/kg son similares a los de la ranitidina y sucralfato.

La ranitidina es un antagonista de los receptores H_2 de la histamina, lo que significa que se suprime la secreción basal de ácido clorhídrico estimulada por la histamina y gastrina, disminuye tanto el jugo gástrico como la concentración de H^+ , acelerando la cicatrización de las úlceras^{27,28}. En tanto que el sucralfato se localiza sobre la mucosa ulcerada formando complejos con las proteínas tisulares dando lugar a una barrera protectora, que impide la hidrólisis de las proteínas de la mucosa por la pepsina, protegiendo la úlcera del ácido y limita la retro difusión de hidrogeniones.⁴⁷ Al obtener de forma experimental incluso un valor más elevado del %IUG que los estándares usados, por parte de los compuestos fenólicos aislados, se podría afirmar su efecto antiulceroso, al ser comparados con los medicamentos estándar, los cuales son ampliamente usados en la práctica clínica, para tratar las úlceras pépticas, además de permitirle combatir uno de los

principales factores que desencadenan la aparición de úlceras gástricas, como es la bacteria *Helicobacter pylori*, demostrado por Claros,¹³ en su trabajo, ya que el extracto de hidroalcohólico, diclorometano y acuoso del *Piper angustifolium*, produjeron halos de inhibición de crecimiento bacteriano de cepas de *Helicobacter pylori* 16,4 mm; 10,8 mm y 15,2 mm respectivamente, en comparación con la tetraciclina que mostro un halo de inhibición de 50,8 mm..

En el **Anexo 14**, se muestra los datos del estudio histopatológico los cuales confirman los resultados obtenidos en la **Figura 5**. El grupo de control al que se le administró el etanol al 75%, presentó un índice de ulceración de 13, muestra el epitelio gástrico atrofiado, además de la descamación de las células epiteliales y la presencia de zonas erosivas en la mucosa, el segundo valor con un índice de ulceración más elevado son los compuestos fenólicos a dosis de 50 mg/kg con un valor de 5,2; en el estudio histopatológico se describe, que presenta una disposición del epitelio gástrico compactado y atrofiado. Mientras que a la dosis de 200 mg/kg, la que presenta mayor efecto antiulceroso, el epitelio gástrico se encuentra normalizado, recuperando su estructura, por tanto, se muestra la actividad que ejerce los compuestos fenólicos sobre la recuperación del tejido y la mucosa gástrica, los cuales fueron afectadas por agentes irritantes e inductores de daño gástrico.

Entre los mecanismos por los cuales se les podría atribuir a los compuestos fenólicos, en especial lo flavonoides su actividad antiulcerosa, es el incremento de las prostaglandinas (PGE2) y prostaciclina (PGI2) que favorecen aumento de la secreción de la mucosa gástrica e inhibición de la secreción del ácido clorhídrico. Además, los flavonoides actúan en la reducción de la secreción de histamina, la eliminación de radicales libres, el aumento de la perfusión vascular y la reducción de la adherencia leucocitaria. Algunos de estos compuestos también reducen la motilidad gastrointestinal, lo que prolonga el tiempo de contacto de los extractos con las paredes del estómago y aumenta así el efecto antiulceroso y gastroprotector. En resumen, estos mecanismos ayudan a prevenir lesiones de la mucosa gástrica y la protegen contra distintos agentes agresores.^{54,37}

Los resultados del estudio pudieron demostrar que los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” poseen actividad antiulcerosa, al proteger la mucosa gástrica del daño inducido por el etanol, estos hallazgos sugieren que estos compuestos fenólicos podrían ser considerados

como una alternativa clínica en el tratamiento de las úlceras pépticas, el cual sin embargo debe ser reforzada aumentando los estudios sobre estos metabolitos.

VI. CONCLUSIONES

1. Los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” presentan efecto antiulceroso en ratas.
2. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” fueron alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, saponinas y aminoácidos, también se identificaron fenoles y flavonoides.
3. El porcentaje de inhibición ulcerogénica (%IUG) de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”, a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg, fueron de 60,0 %; 67,7 % y 80,0 % y para ranitidina y sucralfato de 69,2 % y 76,9 % respectivamente ($p < 0,05$).
4. Los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”, a dosis de 100 mg/kg presenta efecto antiulceroso estadísticamente similar a la ranitidina y a dosis de 200 mg/kg al sucralfato.

VII. RECOMENDACIONES

- Desarrollar más investigaciones de las diferentes partes de la planta de *Piper elongatum* Vahl. “matico”, de forma que se le de mayor relevancia y base científica al uso en la medicina complementaria.
- Realizar la extracción con diferentes solventes y mediante liofilización, de tal forma que se pueda encontrar un solvente que permita caracterizar de mejor manera los compuestos fenólicos de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”, con la finalidad de continuar con sus estudios.
- Desarrollar estudios toxicológicos agudos y a dosis repetida de los compuestos fenólicos con la finalidad de evaluar su seguridad.
- Desarrollar formas farmacéuticas utilizando tanto los compuestos fenólicos aislados como extractos de *Piper elongatum* Vahl. “matico”, de forma que se pueda aprovechar mejor las propiedades medicinales que se le atribuyen.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rainer E. Bussmann, Douglas Sharon. Plantas medicinales de los andes y la Amazonia, La flora mágica y medicinal del Norte del Perú. Trujillo – Perú, noviembre 2015. [Acceso 14 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/pzyft>.
2. OPS. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. Lima – Perú, 2018. [Acceso 14 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/dhk4b>.
3. Ore F, Rodriguez A, TicsihuaJ, Corilla D. *Piper aduncum* L. (matico) utilizado como tratamiento para el daño pulmonar y Covid – 19. [Artículo]. Revista de investigación en salud, 2021; 4 (12): 534 – 549. [Acceso 14 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/v6n5q>.
4. Zevallos C, Bautista J, Ojanamá F, Apolinario K, Flores D, Gómez R *et al*. Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas del *Piper aduncum* L. (matico) para aliviar diversas enfermedades. [Artículo de investigación]. Revista de Investigación Universitaria, 2022; 12 (1):766 – 774. [Acceso 15 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/pvyzuo>.
5. OjoPúblico. Explicador: que se sabe del matico y su uso para los síntomas de la Covid – 19. [Diario en línea]. Ucayali – Perú, 2020. [Acceso 15 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/meh6y>.
6. De la Cruz J. Factores clínicos asociados a úlcera péptica en pacientes atendidos en el servicio de gastroenterología del Hospital Vitarte en el año 2015. [Tesis]. Universidad Ricardo Palma. Lima – Perú, 2017. [Acceso 14 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/58jbm>.
7. Coria S. Efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Spinacia oleraceae* L. “espinaca” en ratas. [Tesis]. Univ Priv Norbert Wien, Lima – Perú, 2019 [acceso 15 de octubre de 2023]; Disponible en: <https://n9.cl/uzg6m>.
8. Valderrama M. Efecto gastroprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* L. (matico) en *Rattus rattus var. albinus* con úlceras gástricas inducidas por indometacina. [Tesis]. Repositorio – Universidad católica los ángeles de Chimbote. Trujillo – Perú, 2018. [Acceso 16 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/mu5n8>.
9. Huamán J, Raez E, Quni M, Rodríguez J. Efecto gastroprotector y antisecreto de un fitofármaco de hojas de matico (*Piper aduncum*). [Artículo de

- investigación]. Rev. Perú Med Exp Salud Publica, 2013; 30 (4): 608 – 15. [Acceso 16 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/2jzag>.
10. Arroyo J. Efecto del extracto acuoso de las hojas de *Piper angustifolium* R & P (matico) sobre la ulcera gástrica inducida en animales de experimentación. [Tesis de Doctorado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú, 1998. [Acceso 16 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/t91nt>.
 11. Dante M., German A., Araseli V., Lucy C., Edith F., Ana C. Efecto del extracto acuoso de *Piper elongatum* Valh. (matico) sobre la motilidad intestinal en ratones. [Artículo de investigación]. Revista cubana de Farmacia, 2016; 50 (1). [Acceso 16 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/3cfm9>.
 12. Chávez S. Actividad antioxidante y determinación de fenoles de extractos de matico (*Piper sp.*). [Tesis]. Repositorio - Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Chachapoyas – Perú, 2019. [Acceso 16 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/nbusi>.
 13. Claros M. Determinación de la actividad anti-*Helicobacter pylori* de *Plantago major* (Llanten), *Verbena officinalis* (Verbena), *Clinopodium bolivianum* (Khoá), *Calendula officinalis* (Caléndula), *Piper angustifolium* (matico) y *Robus boliviensis* (Khari khari) por el método de difusión de disco. [Tesis]. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz – Bolivia, 2006. [Acceso 16 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/8ieuc>.
 14. Oré K. Efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos de las hojas y tallos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. “huanarpo macho” en ratas albinas. Ayacucho 2021. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho- Perú, 2021. [Acceso 17 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/9ttjlm>.
 15. Córdova D. Actividad antiulcerosa de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza”. Ayacucho 2015. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho- Perú, 2015. [Acceso 17 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/2iifu>.
 16. Galves S. Efecto gastroprotector de los extractos etanólico de *Plantago major* “llantén” y de *Piper aduncum* “matico” sobre la mucosa gástrica de ratas albinas con gastritis aguda inducida, Arequipa – 2019. [Tesis]. Repositorio – Universidad Católica de Santa María. Arequipa – Perú, 2022. [Acceso 17 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/ufnwc>.

17. Arroyo J., Bonilla P., Marín M., Tomás G., Huamán J., Ronceros G. Estudio anatómico e histoquímico de los órganos vegetales de *Piper aduncum* (Piperaceae). [Artículo]. Polibotánica, 2022; (54): 185 – 202. [Acceso 18 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/grl12>.
18. Ingaroca S. Composición química, actividad antioxidante y efecto antifúngico sobre *Candida albicans* del aceite esencial de *Piper aduncum* L. “matico”. [Tesis]. Universidad Mayor de San Marcos. Lima – Perú, 2018. [Acceso 18 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/5ex7a>.
19. Lock O. Química y Farmacología del *Piper aduncum* “matico”. [Artículo]. Revista de Química, Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, 2004; 18 (2). [Acceso 18 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/uilpe>.
20. Dante M., German A., Araseli V., Lucy C., Edith F., Ana C. Efecto del extracto acuoso de *Piper elongatum* Vahl. (matico) sobre la motilidad intestinal en ratones. [Artículo]. Rev Cubana Farm. Cuba, 2016; 50 (1). [Acceso 18 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/3cfm9>.
21. Rojas F. Revisión bibliográfica de compuestos fenólicos, su efecto en la salud, método de encapsulación y digestión simulada *in vitro*. [Tesis]. Universidad de Chile. Santiago – Chile, 2021. [Acceso 14 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/272vl>.
22. Viña S. Productos Naturales Vegetales. [Libro en línea]. Compuestos fenólicos. Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Agraria y Forestales; 2013; 91 - 150. [Acceso 20 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/ri4lt>.
23. Kuklinski C. Farmacognosia, Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: omega; 2000.
24. Moreira V. Úlcera péptica. [Artículo]. Revista Española de Enfermedades Digestivas. 2004; 96 (1): 81 – 82. [Acceso 20 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/tcjiz>.
25. Camacho J. Úlcera péptica. Gastroenterología. Revista médica de Costa Rica y Centro América LXXI (809) 129 – 134, 2014. [Acceso 13 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/07nt3>.
26. Ferrer I, Pérez J y Herrerías J. Guía de seguimiento farmacoterapéutico sobre úlcera péptica. [guía de práctica clínica]. Espai Gràfic Anagrac S.L. [Acceso 20 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/jd5ti>.

27. katzung B. Farmacología. Básica y clínica. 13ª edición, editorial McGraw-Hill; 2016.
28. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 13ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores; 201: pág. 911.
29. Velázquez L. Farmacología Básica y Clínica. 18ª edición, Buenos Aires; Madrid. Editorial Medica Panamericana; 2008.
30. Martínez F. Formulación de jabón a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico”. Ayacucho 2016. [Tesis]. Repositorio - Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú, 2016. [Acceso 20 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/s4rva>.
31. Aguilar E, Bonilla P. Actividad antioxidante e inmunológica de flavonoides aislados de hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón). [Artículo]. Ciencia e investigación, 2009; 12 (1): 15 – 23. [Acceso 21 de julio del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/swkpb>.
32. Arranz S. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española [Tesis doctoral]. Metodología para su determinación e identificación, Universidad Complutense de Madrid; 2010 [citado 21 de julio de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/2ist0>.
33. Miranda M. Métodos de análisis de drogas y extractos. Cuba-La Habana: 1996.
34. Arroyo J, Cisneros C. Modelos experimentales de investigación farmacológica. 1er edición, Lima – Perú: Editor Asdimor; 2012.
35. Hernández R., Fernández C. y Baptista P. Metodología de la investigación. 5.ª ed. México: McGraw-Hill; 1991.
36. Quispe L y Mamani M. Estudio etnofarmacológico sobre los usos tradicionales de la planta denominada matico para tratar enfermedades en la comunidad nativa Ese Eja de Infierno, provincia Tambopata, enero a febrero 2022. [Tesis]. Repositorio - Universidad maría auxiliadora. [citado 23 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/z01g2>.
37. Kumar G, Sharma S and Dangi N. In *silico* molecular docking study and Protective effect of *Piper attenuatum* on aspirin induced gastric ulcer in rats. [Artículo]. Current Chemistry Letters. 2023, 12: 705 – 720. Disponible en: <https://n9.cl/avegr>

38. Duan Z, Yu S, Wang S, Deng H, Guo L, Yang H and Xie H. Protective effects of Piperine on ethanol induced gastric mucosa injury by oxidative stress inhibition. [Artículo]. *Nutrients*. 2022, 14 (22): Disponible en: <https://n9.cl/8glvx>
39. Chavez S y Shuan J. Efecto mucolítico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* matico blanco en ratas albinas Holtzman. [Tesis]. Universidad Roosevelt. Huancayo – 2021. [Acceso 23 de noviembre del 2023].
40. Coy C, Parra J y Cuca L. Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de especie *raputia heptaphylla* (rutaceae). [Artículo]. *Revista elementos*, 201;4 4 (4). [citado 23 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/engod>
41. Soto M. Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedente de la región Amazonas. [Artículo]. UCV – Scientia, 2015; 7(2). [citado 23 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/890ua>
42. Cabrera J. Identificación primaria de metabolitos secundarios de *Ulex europeaus* L. retamo espinoso y su actividad biológica. [Tesis]. Universidad de la Salle. Bogotá - 2020. [citado 24 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/alfq0>
43. Martínez I, Periago M y Ros G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. [Artículo]. *ALAN*, 2000; 50 (1). [citado 24 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/lxcny>
44. Vera O. Manejo y tratamiento de la ulcera péptica. [Actualización]. *Revista Médica La Paz*, 2023; 29 (1). [citado 24 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/iny6h>
45. Azamar C. Caracterizar el efecto gastroprotector de glibenclamida en el modelo de inducción de daño gástrico con etanol en ratas normoglicémicas e hiperglicémicas. [Tesis]. Universidad Nacional Autónoma de México. México - 2012. [citado 10 de noviembre de 2023]; Disponible en: <https://n9.cl/jtef2>
46. Pérez E y Rodríguez A. Enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE). Guía de actualización Farmacéutica. [Internet]. Sociedad Española de Farmacia Clínica, Familia y Comunitaria, 2013 [citado 25 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/tcs77>

47. Muñoz N, Sánchez L, Zozaya J y Conchillo F. Sucralfato. [Artículo]. Rev Med Universidad de Navarra. 28 (2): 61 – 62. [citado 25 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/zz7fz>
48. Velasco A. Farmacología y toxicología del alcohol etílico o etanol. [Artículo]. Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid, 2014; 51: 242 - 248. [citado 25 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/diyv1>
49. Beil W, Birkholz C, Wagner S, Sewing K. Interaccion de Helicobacter pylori y sus ácidos grasos con las células parietales y las H+/K(+)-ATPasa gástrica. [Artículo]. 1994; 35 (9): 1176 – 80. [citado 25 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/wbecw>
50. Martínez L. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bougainvillea spectabilis* Willd “bougainvilia” Ayacucho – 2012. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho- Perú, 2013. [Acceso 26 de noviembre del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/462tj>
51. Quispe W. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote” Ayacucho 2014. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho- Perú, 2015. [Acceso 27 de noviembre del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/7pi7v>
52. Huachaca R. Actividad gastroprotectora y antisecretora de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Junglans neotropica* Diels “nogal”. Ayacucho 2017. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho- Perú, 2017. [Acceso 27 de noviembre del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/akks1>
53. Campos D. Efecto gastroprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote” en *Cavia porcellus* “cobayo”. Ayacucho 2018. [Tesis]. Repositorio – Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho - 2018. [Acceso 27 de noviembre del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/f401n>
54. León M. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* (llantén menor) sobre la úlcera gástrica inducida en ratas. [Tesis]. Repositorio - Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - 2016. [Acceso 27 de noviembre del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/d8ie2>
55. Rodríguez K. Extracción y caracterización de metabolitos secundarios (polifenoles y flavonoides) obtenidos a partir de Pujín (*Hesperomeles*

- ferrugínea*) planta nativa del cerro Teligote. [Tesis]. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador – 2020. [Acceso 05 de febrero del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/w1hgyl>
56. Hurtado P, Jurado B, Ramos E y Calixto M. Evaluación de la actividad de antioxidante del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de *Juglans neotropica* Diels (nogal peruano). [Artículo de investigación]. Revista Sociedad Química Perú. 2015; 81 (3). [Acceso 05 de febrero del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/e18cc>
 57. Rojas M. Evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles totales en extracto de las hojas de tres especies de plantas medicinales de Campo Verde, Ucayali 2018. [Tesis]. Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia. Perú – 2019. [Acceso 05 de febrero del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/xioug>
 58. Espinoza M, secado por lecho fluido de hojas de matico (*Piper Aduncum* L) y malva (*Malva sylvestris*), evaluación de capacidad antioxidante y aceptación sensorial de sus filtrantes. [Tesis]. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Perú – 2021. [Acceso 06 de febrero del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/kwace>
 59. Valdez E, Ramírez E, Sevilla L y Suarez T. Cuantificación del contenido de compuestos fenólicos bioactivos y actividad antioxidante *in vitro* en extracto de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). [Artículo de investigación]. Educación y salud Boletín científico Instituto de Ciencia de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 2019, 8 (15): 174 – 179. [Acceso 06 de febrero del 2024].

ANEXOS

Anexo 1

Constancia de identificación botánica de *Piper elongatum* Vahl. "matico".

CONSTANCIA

LA BIOLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

Que, la Bachiller en Farmacia y Bioquímica, Srta. Keydi Indira, CARDENAS CARDENAS, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	MAGNOLIIDA
ORDEN	:	PIPERALES
FAMILIA	:	PIPERACEAE
GÉNERO	:	Piper
ESPECIE	:	<i>Piper elongatum</i> Vahl.
N. V..	:	"matico"

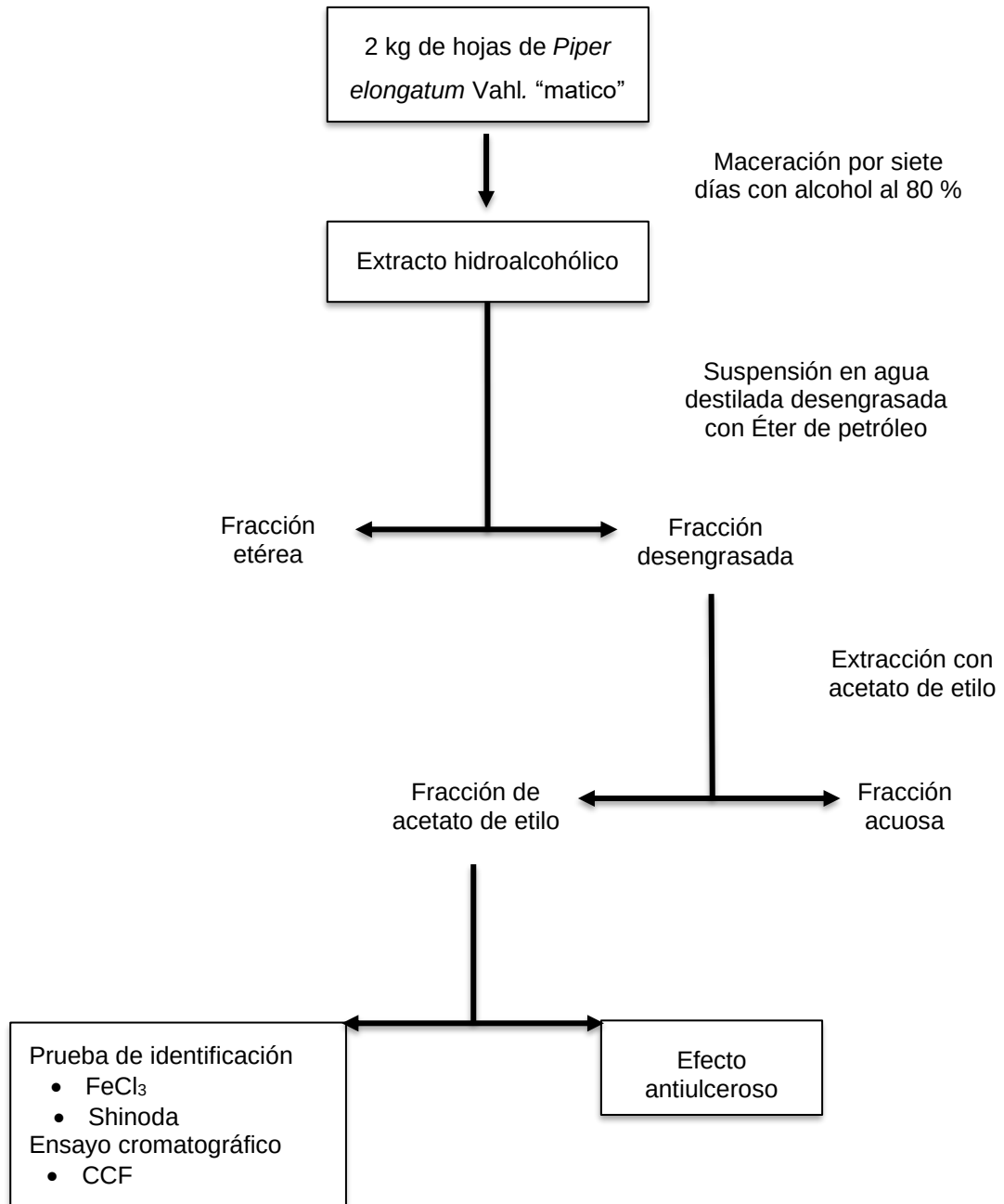
Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 20 de Julio del 2023


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 2

Diagrama de flujo para la obtención de los compuestos fenólicos



Anexo 3

Elaboración del extracto hidroalcohólico



Secado de las hojas recolectadas



Reducción del tamaño de partículas



Muestras trituradas



Mezcla de 300 g de muestra y alcohol 80%



Muestras listas para maceración por 7 días



Filtrar las muestras maceradas



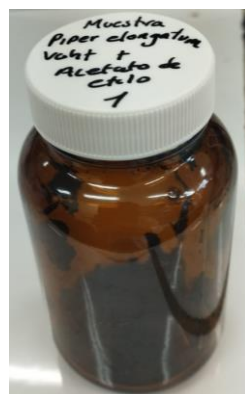
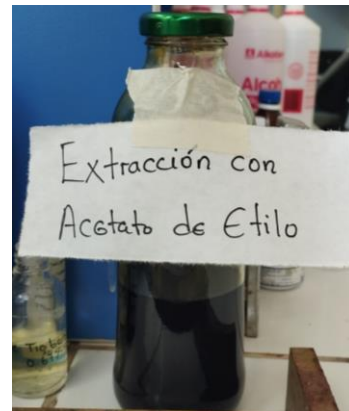
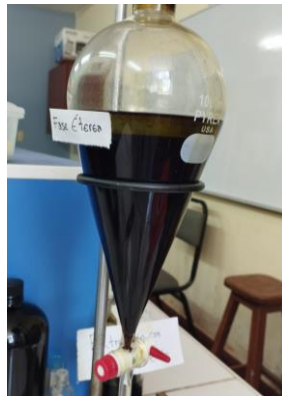
Evaporación del solvente a 45 °C



Extracto hidroalcohólico obtenido

Anexo 4

Obtención de los compuestos fenólicos



Anexo 5

Identificación de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico



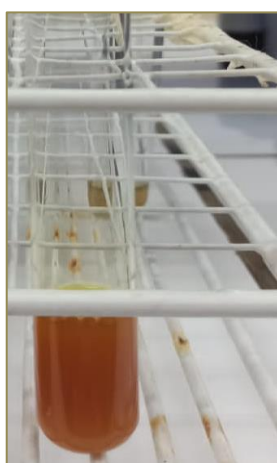
Ensayo de Wagner



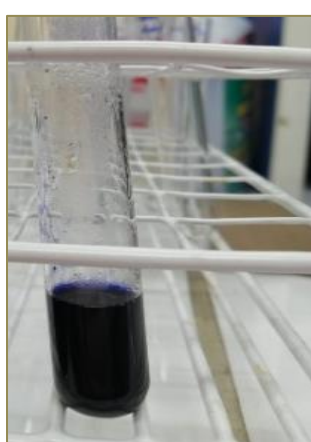
Ensayo de Fehling



Ensayo de Benedict



Ensayo de Baljet



Ensayo de ninhidrina



Ensayo de espuma

Anexo 6

Identificación de los compuestos fenólicos aislados.



A) Reacción de FeCl_3



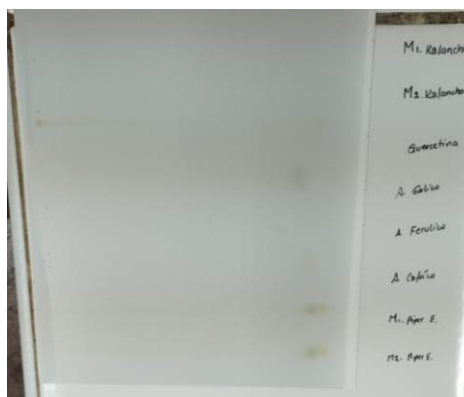
B) reacción de Shinoda

Anexo 7

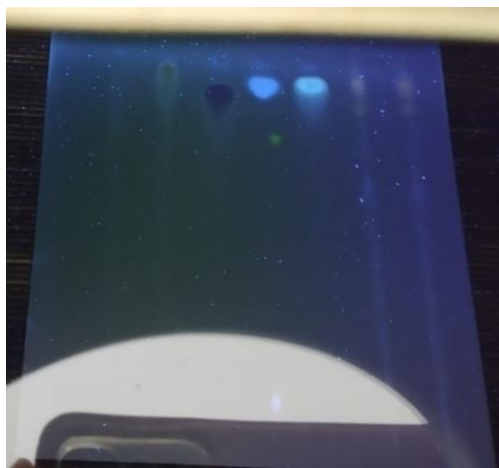
Desarrollo cromatográfico de los compuestos fenólicos



A



B



C



D

A, sembrando de los compuestos fenólicos en la placa cromatográfica; B, placa cromatográfica con las muestras, después del recorrido de la fase móvil; C, fluorescencia vista bajo luz UV a 365 nm; D, revelado de la placa con cloruro férrico al 5%.

Anexo 8

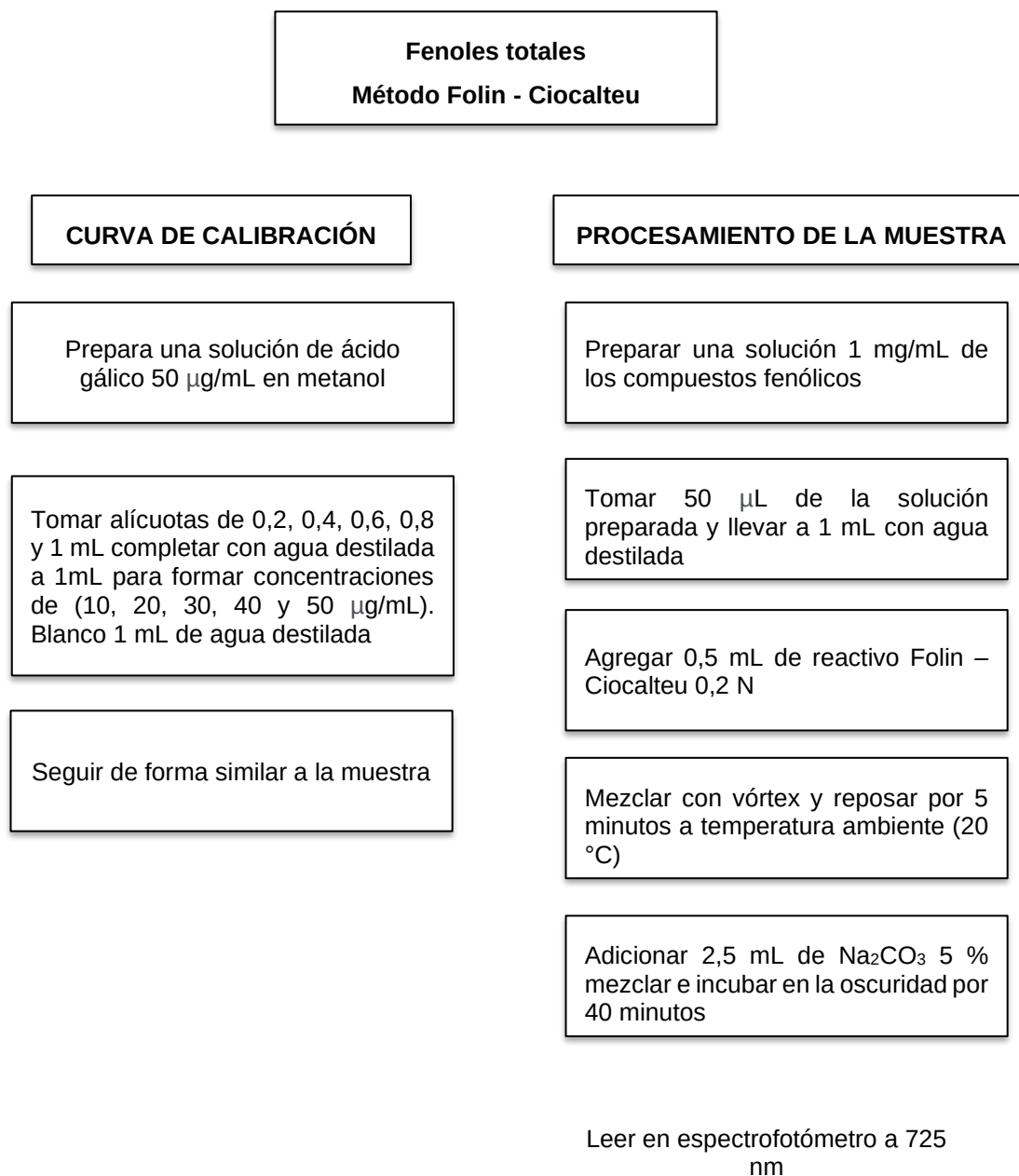
Valores de RF para los compuestos fenólicos

Nº banda	Estándares	Ds (cm)	Df (cm)	RF
1		9,2	15	0,61
2		10,1	15	0,67
3		13,6	15	0,91
4	Ácido gálico	13,8	15	0,92
5	Ácido Ferúlico	14,2	15	0,95
6	Ácido Cafeico	14,3	15	0,95
7	Quercetina	14,4	15	0,96
8		14,5	15	0,97

RF: Factor de retención, **Ds:** distancia recorrida por el soluto desde el origen, **Df:** distancia recorrida por la fase móvil desde el origen.

Anexo 9

Diagrama de flujo para la determinación del contenido de fenoles totales por el método Folin - Ciocalteu



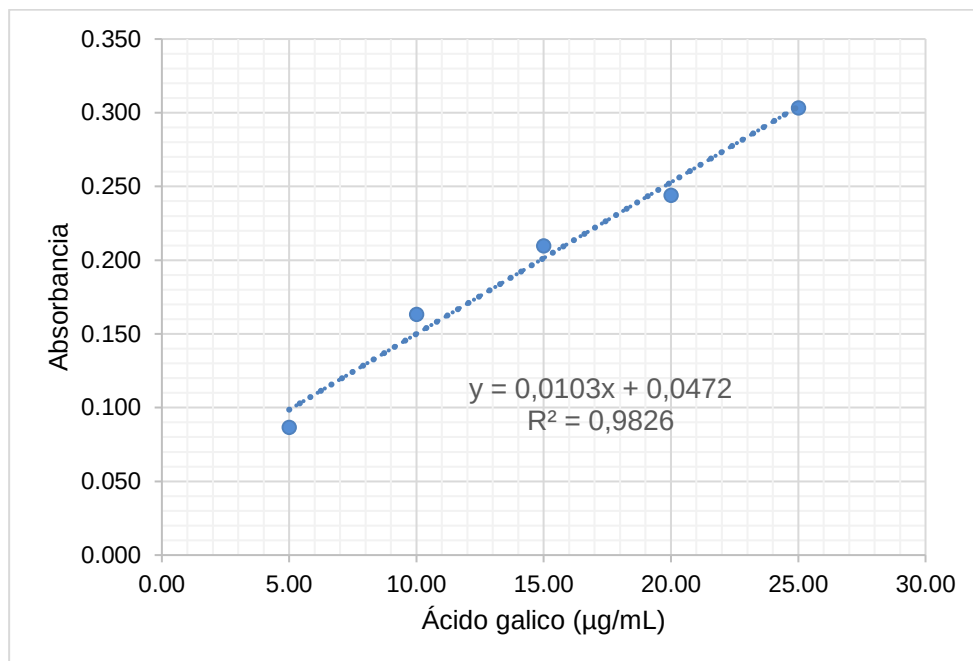
Anexo 10

Contenido de fenoles totales por el método Folin - Ciocalteu.

Muestra	Absorbancia	mg EAG/g muestra seca
1	0,490	42,99
2	0,485	42,50
3	0,455	39,59
X ± DE		41,69 ± 1,84

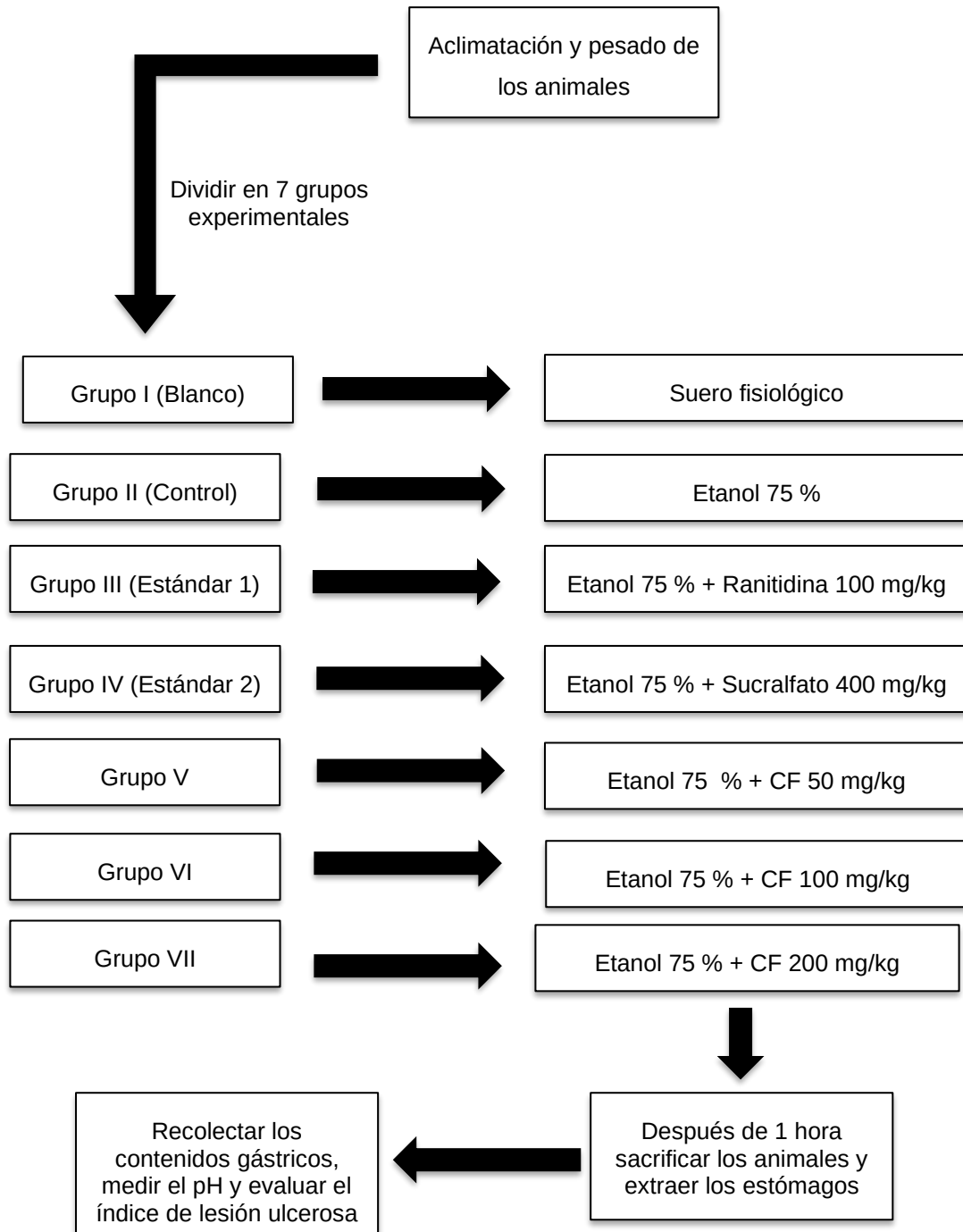
Anexo 11

Curva de calibración de ácido gálico para la cuantificación de fenoles totales



Anexo 12

Diagrama de flujo de la determinación del efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos.



Anexo 13

Proceso de determinación del efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos.



Anexo 14

Estómagos extraídos de los animales en experimentación.



Suero fisiológico



Etanol 75%



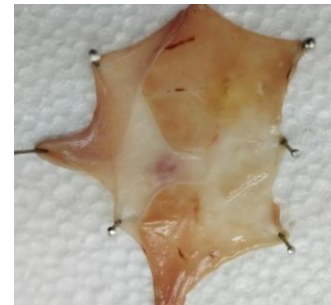
Ranitidina



Sucralfato



C.F. 50 mg/kg



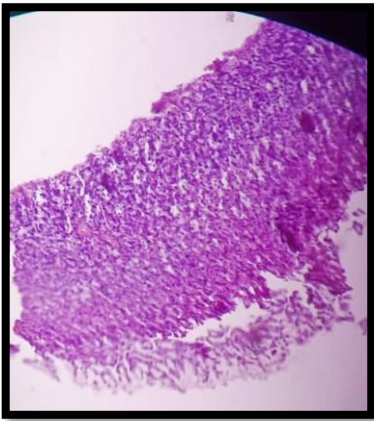
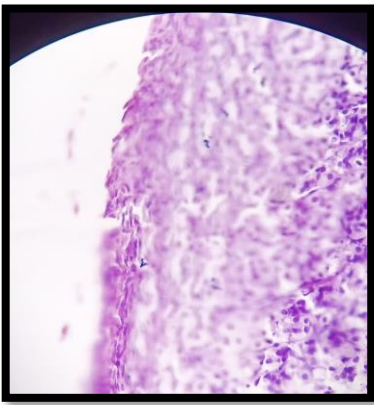
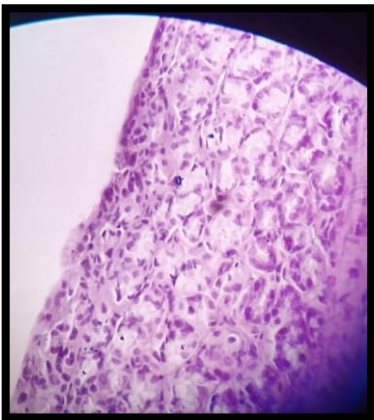
C.F. 100 mg/kg



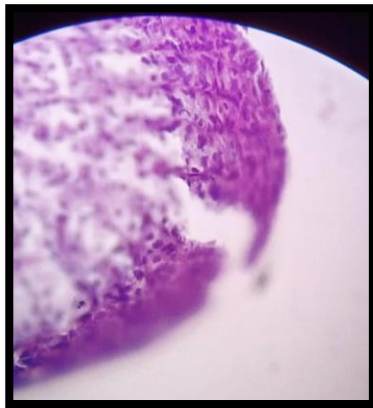
C.F. 200 mg/kg

Anexo 15

Estudio histopatológico de los estomago extirpados de los animales de experimentación inducidos a úlcera gástrica.

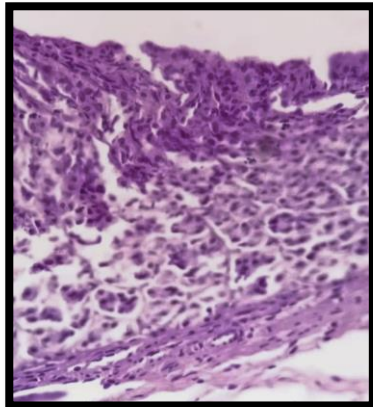
GRUPO	CORTE	OBSERVACIÓN
Blanco		No hay cambios evidentes en el epitelio gástrico y su aspecto histológico es el mismo que el de la mucosa gástrica normal, la superficie es homogénea, la estructura glandular está bien conservada, la lámina propia está claramente delimitada y los vasos sanguíneos no están congestionados.
Control		Epitelio gástrico se torna atrófico por efecto del etanol, el epitelio glandular se torna plano, se observó la descamación de las células epiteliales, se logra evidenciar algunas zonas erosivas en la región de la mucosa; también se observa las células inflamatorias en la mucosa.
Ranitidina 100 mg/kg		El epitelio gástrico se atrofia se torna plano compacto, por ende, existe aplanamiento del epitelio gástrico en 2-3 %

Sucralfato
400 mg/kg



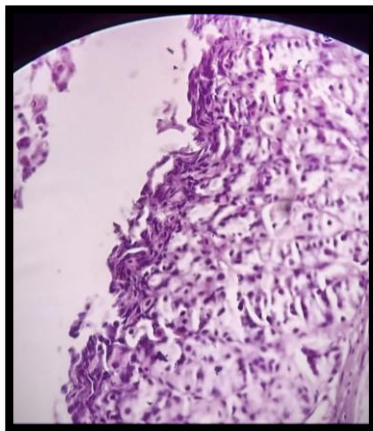
El epitelio gástrico se atrofia o se torna compacto en un 25 %.

C.F. 50
mg/kg



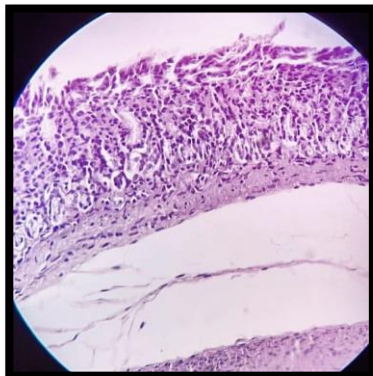
Disposición del epitelio gástrico en forma plana compacta en un 20 %.

C.F. 100
mg/kg



Aplanamiento del epitelio gástrico, el proceso de atrofia o tornarse compacto es mayor, el epitelio gástrico se torna aplanado en un 10-15 %.

C.F. 200
mg/kg



Se observa la normalización del epitelio gástrico, se recupera su estructura normal, en conclusión, se da la recuperación completa del epitelio gástrico.

Anexo 16

Valores de pH del contenido gástrico en ratas, tras la administración de los compuestos fenólicos y estándares.

Repeticiones	Blanco	Control	Ranitidina	Sucralfato	CF 50 mg/kg	CF 100 mg/kg	CF 200 mg/kg
1	3,00	4,00	6,00	4,00	3,00	4,00	5,00
2	3,00	2,00	6,00	3,00	4,00	4,00	5,00
3	4,00	3,00	5,00	4,00	4,00	4,00	6,00
4	2,00	3,00	6,00	4,00	4,00	5,00	6,00
5	3,00	2,00	4,00	4,00	4,00	5,00	6,00
Promedio	3,00	2,80	5,40	3,80	3,80	4,40	5,60
DE	0,71	0,84	0,89	0,45	0,45	0,55	0,55

Anexo 17

Valores de volumen del contenido gástrico en ratas, tras la administración de los compuestos fenólicos y estándares.

Repeticiones	Blanco	Control	Ranitidina	Sucralfato	CF 50 mg/kg	CF 100 mg/kg	CF 200 mg/kg
1	0,20	2,20	0,80	1,10	1,50	0,20	0,50
2	0,50	0,90	2,30	1,50	1,20	0,40	0,40
3	0,30	0,70	0,60	1,10	0,70	0,50	0,50
4	1,18	1,70	0,80	1,20	0,80	0,40	0,80
5	0,20	0,80	0,50	0,90	2,20	0,30	0,40
Promedio	0,48	1,26	1,00	1,16	1,28	0,36	0,52
DE	0,41	0,66	0,74	0,22	0,61	0,11	0,16

Anexo 18

Valores de índice de ulceración en ratas, tras la administración de los compuestos fenólicos y estándares.

Repeticiones	Blanco	Control	Ranitidina	Sucralfato	CF 50 mg/kg	CF 100 mg/kg	CF 200 mg/kg
1	0	13	3	3	5	5	3
2	0	13	4	4	4	4	2
3	0	13	3	3	5	3	2
4	0	13	5	2	6	4	3
5	0	13	5	3	6	5	3
Promedio	0,00	13,00	4,00	3,00	5,20	4,20	2,60
DE	0,00	0,00	1,00	0,71	0,84	0,84	0,55

Anexo 19

Análisis de varianza (ANOVA) del volumen del contenido gástrico, pH gástrico e índice de ulceración.

Indicador		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significancia
Contenido gástrico	Entre grupos	4,794	6	0,799	3,490	0,011
	Dentro de grupos	6,412	28	0,229		
	Total	11,206	34			
pH	Entre grupos	35,543	6	5,924	13,822	0,000
	Dentro de grupos	12,000	28	0,429		
	Total	47,543	34			
Índice de ulceración	Entre grupos	495,771	6	82,629	180,750	$6,25 \times 10^{-18}$
	Dentro de grupos	12,800	28	0,457		
	Total	508,571	34			

Anexo 20

Prueba de Post Hoc de Tukey del volumen de contenido gástrico.

Contenido gástrico (HSD Tukeya)		
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
CF 100 mg/kg	5	0,3600
SSF 0,9 %	5	0,4760
CF 200 mg/kg	5	0,5200
Ranitidina 100 mg/kg	5	1,0000
Sucralfato 400 mg/kg	5	1,1600
Etanol 75 %	5	1,2600
CF 50 mg/kg	5	1,2800
Sig.		0,067

Anexo 21

Prueba de Post Hoc de Tukey del pH gástrico.

pH del contenido gástrico (HSD Tukey ^a)				
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05		
		1	2	3
Etanol 75 %	5	2,8000		
SSF 0,9 %	5	3,0000		
Sucralfato 400 mg/kg	5	3,8000	3,8000	
CF 50 mg/kg	5	3,8000	3,8000	
CF 100 mg/kg	5		4,4000	4,4000
Ranitidina 100 mg/kg	5			5,4000
CF 200 mg/kg	5			5,6000
Sig.		0,230	0,771	0,091

Anexo 22

Prueba de Post Hoc de Tukey del índice de ulceración.

Índice de ulceración gástrica (HSD Tukeya)						
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0,05				
		1	2	3	4	5
SSF 0,9 %	5	0,0000				
CF 200 mg/kg	5		2,6000			
Sucralfato 400 mg/kg	5		3,0000	3,0000		
Ranitidina 100 mg/kg	5			4,0000	4,0000	
CF 100 mg/kg	5			4,2000	4,2000	
CF 50 mg/kg	5				5,2000	
Etanol 75 %	5					13,0000
Sig.		1,000	0,963	0,110	0,110	1,000

Anexo 23

Valores del porcentaje de inhibición ulcerogénica en ratas, tras la administración de los compuestos fenólicos y estándares.

Repeticiones	Ranitidina	Sucralfato	CF 50 mg/kg	CF 100 mg/kg	CF 200 mg/kg
1	76,9	76,9	61,5	61,5	76,9
2	69,2	69,2	69,2	69,2	84,6
3	76,9	76,9	61,5	76,9	84,6
4	61,5	84,6	53,8	69,2	76,9
5	61,5	76,9	53,8	61,5	76,9
Promedio	69,23	76,92	60,00	67,69	80,00

Anexo 24

Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas del porcentaje de inhibición ulcerogénica.

	Tratamiento	Shapiro-Wilk	gl	Sig.
%IUG	Ranitidina 100 mg/kg	0,821	5	0,119
	Sucralfato 400 mg/kg	0,883	5	0,325
	CF 50 mg/kg	0,881	5	0,314
	CF 100 mg/kg	0,881	5	0,314
	CF 200 mg/kg	0,684	5	0,006

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
%IUG	Se basa en la media	0,685	4	20	0,611

Anexo 25

Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de inhibición ulcerogénica

Indicador		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
%IUG	Entre grupos	1256,948	4	314,237	8,281	4,14X10 ⁻⁵
	Dentro de grupos	758,912	20	37,946		
	Total	2015,860	24			

Anexo 26

Prueba de Post Hoc de Tukey del porcentaje de inhibición ulcerogénica.

%IUG (HSD Tukey ^a)				
Subconjunto para alfa=0,05				
Tratamiento	N	a	b	c
CF 50 mg/kg	5	59,9600		
CF 100 mg/kg	5	67,6600	67,6600	
Ranitidina 100 mg/kg	5	69,2000	69,2000	69,2000
Sucralfato 400 mg/kg	5		76,9000	76,9000
CF 200 mg/kg	5			79,9800
Sig.		0,164	0,164	0,079

Anexo 27

Matriz de consistencia

TÍTULO: Efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” en ratas. Ayacucho 2023.

Problema	Objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables	Metodología
¿Tendrá efecto antiulceroso los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl? “matico” en ratas?	Objetivos generales, Evaluar el efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico” en ratas. Objetivos específicos: • Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”. • Determinar el porcentaje de inhibición ulcerogénica de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”. • Comparar el efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico” con la ranitidina y sucralfato.	• Antecedentes • <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”. • Clasificación taxonómica. • Descripción botánica. • Origen y distribución. • Composición química. • Uso medicinal. • Compuestos fenólicos. • Úlcera péptica. • Fármacos antiulcerosos. • Ranitidina • Sucralfato	Hi: Los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico” presentan efecto antiulceroso en ratas. Ho: Los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico” no presentan efecto antiulceroso en ratas.	Independiente Los compuestos fenólicos aislados de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”. Indicador: Dosis de 50, 100 y 200 mg/kg. Dependiente Efecto antiulceroso Indicador: • Porcentaje de inhibición de ulceragénica • Índice de ulceración gástrica. • pH del contenido gástrico • Volumen del contenido gástrico.	Tipo de investigación: Básica - experimental,¹ Población: Hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico” que crecen en la región de Ayacucho. Muestra: Dos kg de hoja frescas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico”. Unidad experimental: 42 ratas machos Wistar de 200 ± 20 g de peso. Método: • Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Piper elongatum</i> Vahl. “matico” • Obtención de los compuestos fenólicos • Identificación de los compuestos fenólicos • Evolución del efecto antiulceroso: Mediante el método de inducción de úlcera gástrica con etanol 75°. Análisis de datos: Los datos serán procesados según el análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza de 95% y la prueba de Tukey.

Fuente: Elaboración propia

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
RESOLUCIÓN DECANAL N°989-2024-UNSCH-FCSA-D

BACHILLER:

KEYDI INDIRA CARDENAS CARDENAS

En la ciudad de Ayacucho, siendo las tres y diez de la tarde del día trece del mes de septiembre del año dos mil veinticuatro, se reunieron en el auditorio de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: **Efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. "matico" en ratas. Ayacucho 2023**; presentando por la bachiller **KEYDI INDIRA CARDENAS CARDENAS**, para optar el título profesional de Químico farmacéutico. Los miembros del jurado de sustentación conformado por:

Presidente : Prof. Enrique Javier Aguilar Felices (Delegado por el Decano)
Jurados : Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo
 : Prof. Roxana Leon Arones
4to jurado : Prof. Danny Roosvell Cordova de la Cruz
Asesor : Prof. Edwin Carlos Enciso Roca
Secretario Docente : Prof. Edith Eveling Conislla Caceres

Con el quorum de reglamento se dio inicio la sustentación de tesis, como acto inicial el presidente de la comisión pide a la secretaria docente dar lectura a los documentos presentados por los recurrentes y da algunas indicaciones a la sustentante.

Acto seguido inicia la exposición la bachiller **KEYDI INDIRA CARDENAS CARDENAS**, una vez finalizado, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente se da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes.

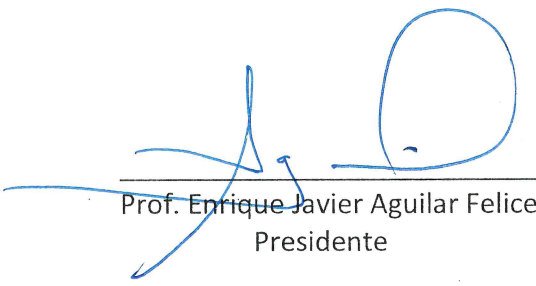
El presidente invita a la sustentante a abandonar el auditorio para que puedan proceder con la calificación.

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN FINAL

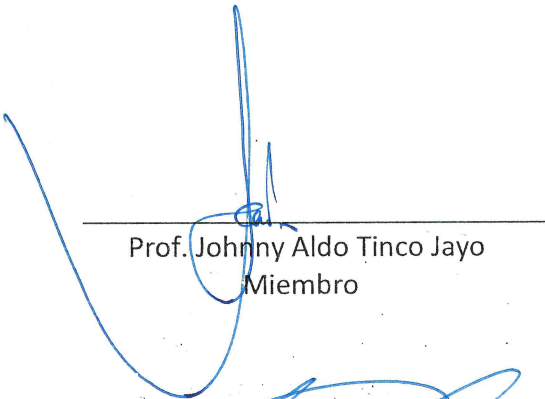
JURADOS	Texto	Exposición	Preguntas	P. final
Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo	17	17	17	17
Prof. Roxana León Arones	17	17	17	17
Prof. Danny R. Córdova de la Cruz	17	17	16	17
PROMEDIO FINAL				17

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar a la Bachiller **KEYDI INDIRA CARDENAS CARDENAS**; quien obtuvo la nota final de diecisiete (17), por el cual los miembros del jurado evaluador firman al pie

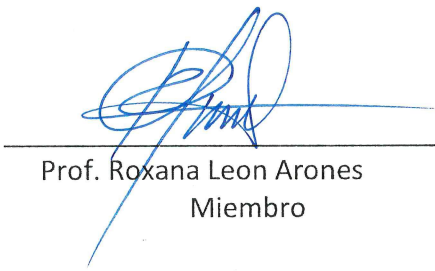
del presente, siendo las 4:55 de la mañana, se da por concluido el presente acto académico.



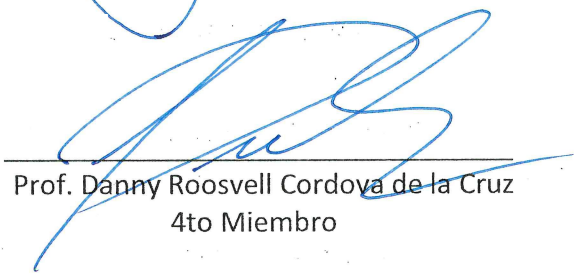
Prof. Enrique Javier Aguilar Felices
Presidente



Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo
Miembro



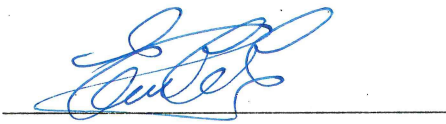
Prof. Roxana Leon Arones
Miembro



Prof. Danny Roosvell Cordova de la Cruz
4to Miembro



Prof. Edwin Carlos Enciso Roca
Asesor



Prof. Edith E. Conislla Cáceres
Secretaria Docente



UNSCH

FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:
TESIS DE PREGRADO

(C°32-2024-EPFB-UNSCH)

La que suscribe, directora de escuela y docente instructor en segunda instancia de Tesis de Pregrado, luego de verificar la originalidad de la tesis de la Escuela profesional de Farmacia y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en representación de la decana y delegada por Resolución Decanal N° 077-2021-UNSCH-FCSA/D, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

Efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. “matico” en ratas. Ayacucho 2023
Presentado por: Bach. Keydi Indira, Cardenas Cardenas

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **24% de índice de similitud**.

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13° del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de pregrado de la UNSCH. Por tanto, **ES PROCEDENTE** conceder la Constancia de originalidad en segunda instancia.

Ayacucho, 30 de agosto del 2024



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Mg. Maricela López Sierralta
DIRECTORA
Docente. Instructor
Segunda instancia

cc.
Archivo.

Efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de Piper elongatum Vahl. “matico” en ratas. Ayacucho 2023

por Keydi Indira, Cardenas Cardenas

Fecha de entrega: 30-ago-2024 10:11p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2441683280

Nombre del archivo: TESIS_INDIRA_CARDENAS.pdf (2.23M)

Total de palabras: 17268

Total de caracteres: 89276

Efecto antiulceroso de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de Piper elongatum Vahl. “matico” en ratas.

Ayacucho 2023

INFORME DE ORIGINALIDAD

24%

INDICE DE SIMILITUD

24%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

14%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	9%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	8%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
4	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	www.revfarmacia.sld.cu Fuente de Internet	1%
6	docplayer.es Fuente de Internet	1%
7	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	< 1%
8	repositorio.upads.edu.pe Fuente de Internet	< 1%

9	sedici.unlp.edu.ar Fuente de Internet	<1 %
10	repository.poligran.edu.co Fuente de Internet	<1 %
11	issuu.com Fuente de Internet	<1 %
12	repositorio.uchile.cl Fuente de Internet	<1 %
13	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
14	www.takeda.es Fuente de Internet	<1 %
15	repositorio.unajma.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
16	repositorio.utc.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
17	docs.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
18	www.mdpi.com Fuente de Internet	<1 %
19	repositorio.uigv.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
20	go.gale.com Fuente de Internet	<1 %

21

docobook.com

Fuente de Internet

<1 %

22

repositorio.uia.ac.cr:8080

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Excluir bibliografía

Activo