



**Facultad de Química-Farmacia
Departamento de Farmacia**

Tesis de Diploma

**Actividad gastroprotectora de la fracción
butanólica obtenida de hojas de *Capraria biflora* L.**

Tahimy Mastrapa Rodriguez

**Santa Clara
2017**

**Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas
Facultad de Química-Farmacia**

Departamento de Farmacia



TESIS DE DIPLOMA

**Actividad gastroprotectora de la fracción butanólica
obtenida de hojas de *Capraria biflora L.***

Autora:

Tahimy Mastrapa Rodriguez

Tutoras:

MSc. Arianna Valido Díaz

Dra.C. Liliana Vicet Muro

Profesores consultantes:

Dra. C. María A. Boffill Cárdenas

Santa Clara

2017

*“Las ciencias tienen las raíces
amargas, pero dulces los frutos”*

Aristóteles

A **Robert**, mi hijo: mi razón para vivir.

A **Taiza y Misael**, mis amados padres: quienes con amor, confianza y paciencia me han apoyado incondicionalmente dándome ejemplos dignos de superación y éxito.

A **Roberto**, mi otra mitad: mi fortaleza y mi debilidad. Por cada momento que hemos podido compartir, por hacerme sentir que hay alguien ahí siempre, sin importar la distancia. Por sus cuidados en este largo camino recorrido.

A **Dios** todo poderoso, por haberme dado la dicha de la vida y permitido llegar al final de la carrera.

A **Arianna y Liliana** por ser mis tutoras, por sus conocimientos, por tenerme mucha paciencia en el desarrollo del trabajo, por su asistencia, por educarme, por brindarme toda la ayuda posible e incondicional para que mi trabajo fuera un éxito.

A **Josefa** por su tiempo en recolectarme las plantas cuando me hacía falta.

A **Daylis** por siempre estar dispuesta para ayudarme en el laboratorio.

A **Norman Montenegro** por su tiempo en procesarme los datos del estadístico.

A **todos los profesores** que durante todo este tiempo me apoyaron y tuvieron confianza en mí.

A **mis padres** que jugaron un papel súper importante dentro del círculo de mi vida y la llenaron de alegría y cariño, por brindarme todo el apoyo siempre, para que pudiera hacer este sueño realidad. ¡Los amo con todo!

A **Robe** por ser mi amor, por el tesoro que me dio, nuestro hijo, y por su apoyo y fuerza que me brindó cuando me sentía agotada por el estudio.

A **mis compañeros del aula** por compartir los 2 últimos años del estudio conmigo. Nunca les voy a olvidar.

Al **gobierno de mi país**, por haberme dado la oportunidad de estudiar para lograr mi formación como profesional, como farmacéutica.

¡A todos, muchas gracias!

RESUMEN

Se determinó el efecto gastroprotector de una fracción butanólica a partir del extracto acuoso de *Capraria biflora* L., especie comúnmente empleada en patologías crónicas asociadas a procesos inflamatorios. Dicha fracción es rica en compuestos fenólicos y le ha sido estudiada su actividad antiinflamatoria por lo que pudiera comportarse como protectora de la mucosa gástrica. Para el estudio de la actividad gastroprotectora se evaluaron dos técnicas de producción de úlceras agudas utilizando como agentes ulcerogénicos al etanol absoluto (1 mL/250g) y la indometacina (50 mg/Kg) y una técnica de úlcera subaguda por indometacina en la cual se determinó la actividad de la enzima superóxido dismutasa. En el diseño experimental se utilizaron dosis de 50, 100 y 200 mg/Kg de peso y fueron empleados como controles positivos el omeprazol 20 mg/Kg (modelo de úlcera por etanol absoluto) y la ranitidina 100 mg/Kg (modelo de úlcera aguda y subaguda por indometacina). La fracción butanólica mostró efecto gastroprotector en los modelos agudos estudiados con grado de ulceración y porcentos de inhibición en la dosis de 200 mg/Kg similares a los controles positivos empleados para un $p \leq 0,05$. Similares resultados fueron obtenidos en el modelo de úlcera subaguda por indometacina, donde nuevamente la dosis de 200 mg/Kg mostró resultados comparables a la ranitidina. La administración de la fracción butanólica aumentó los valores de la enzima superóxido dismutasa con respecto al control negativo para un $p \leq 0,05$. La fracción butanólica a partir del extracto acuoso de *Capraria biflora* L. presenta actividad gastroprotectora en los modelos seleccionados.

Palabras Claves: *Capraria biflora* L., úlcera, fracción butanólica, indometacina, etanol absoluto, superóxido dismutasa.

ABSTRACT

Presently study is proven the gastroprotective effect of a butanol fraction from the aqueous extract of *Capraria biflora* L. This species it commonly used in chronic pathologies associated to inflammatory processes. The butanol fraction is rich in phenolic compound and its antiinflammatory activity has been studied. This can suggested that it could behave as gastric protector of the mucous. Were evaluated, for the study of gastroprotective activity, two techniques of production of acute ulcers using indomethacin (50mg/Kg) and absolute ethanol (1ml/250g) as ulcerogenic agents. Also a technique of subacute ulcers for indomethacin was developed and it was determined of the enzyme superoxide dismutase activity. In the experimental design dose of 50, 100 and 200 mg/Kg of weight were used and they were employees as positive controls the omeprazole 20 mg/Kg (of absolute ethanol model) and the ranitidine 100 mg/Kg (acute and subacute indomethacin model). The butanol fraction showed gastroprotective effect in the models studied with similar ulceration grade and inhibition percents in the dose of 200 mg/Kg, to the controls positive employees for a $p \leq 0,05$. Similar results were obtained in the subacute indomethacin model, where the dose of 200 mg/Kg showed results comparable to the ranitidine again. The administration of the butanol fraction increased the values of the enzyme superoxide dismutase with regard to the negative control for a $p \leq 0,05$. The butanol fraction from the aqueous extract of *Capraria biflora* L. presents gastroprotective activity in the selected models.

Key words: *Capraria biflora* L., ulcers, butanol fraction, indomethacin, absolute ethanol, superoxide dismutase.

ÍNDICE

_Toc485916768

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1.	Estómago. Fisiopatología	4
2.2.	Inflamación gástrica y úlcera péptica.....	5
2.2.1.	Inflamación gástrica	5
2.2.2.	Úlcera péptica. Concepto. Generalidades.....	6
2.2.3.	Factores etiológicos	8
2.3.	Citoprotección. Terapias actuales	10
2.4.	Fitoterapia gastroprotectora	12
2.5.	Acción gastroprotectora y sistema antioxidante	13
2.6.	Género <i>Capraria</i>	14
2.6.1.	Principales usos atribuidos a <i>Capraria biflora</i> L.....	15
2.6.2.	Evaluaciones farmacológicas previas.....	15
2.6.3.	Estudios toxicológicos previos	16
2.6.4.	Fracción butanólica del extracto acuoso de <i>Capraria biflora</i> L.....	17
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1.	Equipos, Materiales y Reactivos empleados.....	18
3.2.	Procesamiento del material vegetal	18
3.2.1.	Recolección	18
3.2.2.	Secado y molinado	19
3.2.3.	Obtención de la fracción butanólica	19
3.3.	Modelo biológico	19
3.3.1.	Suministro y Cuarentena.....	19

3.3.2.	Aleatorización y alojamiento	20
3.3.3.	Método de identificación	20
3.3.4.	Alimentación y agua de bebida	20
3.4.	Evaluación de la actividad gastroprotectora.....	20
3.4.1.	Modelo experimental de úlcera gástrica inducida por etanol absoluto.....	21
3.4.2.	Modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina	22
3.4.3.	Modelo experimental de úlcera gástrica subaguda inducida por indometacina	23
3.4.3.1.	Determinación de la Actividad de la enzima Superóxido Dismutasa.....	23
3.5.	Bioseguridad y Ética	24
3.6.	Análisis estadístico	24
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1.	Procesamiento del material vegetal	27
4.1.1.	Recolección	27
4.1.2.	Secado y molinado	28
4.1.3.	Obtención de la fracción butanólica	28
4.2.	Evaluación de la actividad gastroprotectora de la <i>Capraria biflora</i> L.....	28
4.2.1.	Modelo experimental de úlcera gástrica inducida por etanol absoluto.....	28
4.2.2.	Modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina	32
4.2.3.	Modelo experimental de úlcera gástrica subaguda inducida por indometacina	36
4.2.3.1.	Determinación de la Actividad de la enzima Superóxido Dismutasa.....	38
CONCLUSIONES		42
RECOMENDACIONES		44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		
ANEXOS		

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
UP	Úlcera péptica
UG	Úlcera gástrica
UD	Úlcera duodenal
AINEs	Antinflamatorios no esteroideos
AAS	Ácido acetilsalicílico
PG	Prostaglandinas
IBP	Inhibidores de la bomba de protones
SOD	Superóxido dismutasa
GSH	Glutación
MPO	Mieloperoxidasa
UTEX	Unidad de Toxicología Experimental
UCLV	Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas
CENPALAB	Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio
PNO	Normativos Operacionales
UGC	Unidad de Garantía de la Calidad
DNA	Ácido desoxirribonucleico
PGE2	Prostaglandinas E2

INTRODUCCIÓN

Las plantas con atributos medicinales fueron las primeras medicinas utilizadas para la cura de varias enfermedades. Estas todavía constituyen un importante campo de la investigación farmacológica, encontrando que varios de sus componentes se encuentran en forma de medicamento vegetal o de materia prima en la industria farmacéutica. Aunque los conocimientos ancestrales con fines terapéuticos de las plantas han sido de vital importancia a lo largo de la historia, no podemos limitarnos a la sabiduría popular ya que la validación científica de ciertas propiedades de las plantas medicinales es una necesidad (Quintana, 2012).

En la actualidad, hay un sensible aumento de la demanda de fármacos con extractos vegetales estandarizados y existe un enfoque particular en la búsqueda de nuevos principios activos provenientes de las plantas (Marrassini et al., 2010, Mena, 2015). Este significativo aumento en la utilización de los vegetales, que constituyen una importante alternativa terapéutica, obedece no solo a los cambios culturales de muchos pueblos, sino también fundamentalmente al elevado costo de los fármacos sintéticos (Vivo et al., 2012).

En 1991, el Ministerio de Salud Pública elaboró y puso en práctica un plan director para extender masivamente y en corto plazo la medicina verde en el Sistema Nacional de Salud de Cuba. Los productos de plantas son menos potentes y en general, causan menos reacciones adversas que los productos farmacéuticos sintéticos y su empleo en la atención médica primaria puede lograr que se hagan ahorros en las cuentas destinadas a la atención médica en el país (Boffill et al., 2008).

Muchas especies vegetales usadas tradicionalmente con propiedades gastroprotectoras han sido objeto de investigaciones en los últimos años, en aras de evaluar sus usos tradicionales y descubrir los metabolitos responsables de tal acción (Scoparo et al., 2014, Carlotto et al., 2015, Hertel et al., 2016).

Se conoce que la gastritis y enfermedad ulcero péptica son mediadas por procesos inflamatorios. En este sentido, plantas con actividad antiinflamatoria han demostrado ser gastroprotectoras (Tadić et al., 2012, Tamil Jothi et al., 2013).

La especie *Capraria biflora* L. (Schrophulareaceae) es una planta recomendada en afecciones que involucran episodios dolorosos o mediados por inflamación (Roig, 1988). Esta actividad farmacológica fue comprobada en un extracto acuoso obtenido de sus hojas a diferentes dosificaciones (200, 400 y 800 mg/Kg) tanto en modelos de inflamación aguda (edema plantar por carragenina, migración leucocitaria) como crónica, mediante la inducción de granulomas por discos de algodón. Dosis similares fueron empleadas en modelos de úlcera por etanol e indometacina, así como en modelos de analgesia mostrando actividad a las dosis ensayadas (Vicet, 2009, Valido, 2011).

En estudios precedentes se realizó un fraccionamiento del extracto acuoso de esta planta obteniéndose tres fracciones (n- hexano, acetato de etilo y n- butanol). Se pudo comprobar que la fracción butanólica resultó una de las más complejas desde el punto de vista fitoquímico. Los flavonoides resultaron más abundantes en esta, presumiblemente de tipo flavona, flavonol, o flavanona según las evidencias descritas para el ensayo de Shinoda (Andrene, 2007). En este sentido se comprobó la actividad antiinflamatoria de esta fracción empleando la dosis de 300µg/mL mediante la técnica de migración leucocitaria en modelo de peces cebras (Vicet, 2009).

Tomando en consideración estos aspectos se propone el **siguiente problema científico**:

La acción antiinflamatoria comprobada a la fracción butanólica de la especie *Capraria biflora* L. sugiere que esta pueda proteger la mucosa gástrica; sin embargo, no existen investigaciones preclínicas referenciadas que corroboren dichos usos, por lo que es preciso realizar estudios farmacológicos que avalen esta actividad.

Este trabajo científico parte de la **hipótesis** de que la fracción butanólica obtenida de las hojas de *Capraria biflora* L. pueda presentar actividad gastroprotectora en ratas de la línea Sprague-Dawley.

Para comprobar dicha hipótesis se plantea el siguiente **objetivo general**:

Evaluar la acción gastroprotectora de la fracción butanólica obtenida de las hojas de *Capraria biflora* L. en ratas de la línea Sprague-Dawley.

A partir de este objetivo general se proponen los siguientes **objetivos específicos**:

1. Determinar el efecto gastroprotector de la fracción butanólica obtenida de las hojas de *Capraria biflora* L. mediante los modelos agudos de úlcera por etanol absoluto e indometacina.
2. Determinar el efecto gastroprotector de la fracción butanólica obtenida de las hojas de *Capraria biflora* L. mediante el modelo de úlcera subaguda por indometacina.
3. Determinar la actividad de la enzima Superóxido Dismutasa en la mucosa gástrica de ratas en las que se empleó el modelo subagudo de indometacina.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Estómago. Fisiopatología

La fisiología gástrica es compleja y dinámica, pues mantiene una interacción constante entre estructuras anatómicas, sus secreciones, el medio y los factores exógenos aportados por el individuo (Coronel, 2016). El estómago es un ensanchamiento con forma de “J” del tubo digestivo, localizado por debajo del diafragma en el epigastrio, la región umbilical y el hipocondrio izquierdo. Conecta el esófago con el duodeno, la primera porción del intestino delgado. Su posición exacta y tamaño varían continuamente (Salazar, 2013). Desde un punto de vista topográfico, presenta cinco regiones que son: el cardias (unión gastroesofágica), el fondo, el cuerpo, el antro y finalmente el píloro. El estómago de un adulto mide aproximadamente 25 centímetros de longitud y 10 centímetros de ancho, con una capacidad de 1,5 litros (Coronel, 2016).



Figura 1. Anatomía del estómago. Tomado de (Salazar, 2013).

La pared del estómago está compuesta por las mismas cuatro capas que el resto del tubo digestivo, con algunas modificaciones. La superficie de la mucosa es una capa de células epiteliales cilíndricas simples llamadas células mucosas superficiales. La mucosa contiene una lámina propia (tejido conectivo aereolar) y una *muscularis mucosae* (músculo liso). Tres capas adicionales yacen debajo de la mucosa. La submucosa, la muscular que tiene tres capas de músculo liso (una capa longitudinal externa, una capa circular media, y una capa oblicua interna), y

la serosa que está compuesta por epitelio pavimentoso simple (meostelio) y por tejido conectivo aereolar (Salazar, 2013).

Las funciones básicas son el almacén de los alimentos, la exposición de los alimentos al medio ácido, proveer una barrera que no permita el paso de los microorganismos al intestino y brindar protección a la mucosa de agresiones endógenas y exógenas (Holtmann and Talley, 2014). En él comienza la digestión de las proteínas. Almacena la comida deglutida, mezcla la comida con los ácidos gástricos y luego la envía hacia el intestino delgado. Constituye un reservorio en el cuál el alimento ingerido se impregna en jugo gástrico que contiene enzimas y ácido clorhídrico y, posteriormente libera espasmódicamente al duodeno mediante el peristaltismo gástrico (Quintana, 2012).

En el estómago, los jugos ácidos (gástricos) se liberan de las glándulas de la mucosa estomacal. Estos jugos rompen los alimentos en un fluido grueso, que luego se mueve en el intestino delgado. Cuando el alimento descompuesto está en el intestino delgado, los nutrientes de los alimentos se absorben en el torrente sanguíneo. Los residuos se mueven en el intestino grueso (intestino grueso), donde los líquidos se reabsorben de nuevo en el cuerpo y el resto se pasa fuera del cuerpo como una evacuación intestinal (USOC, 2015).

1.2. Inflamación gástrica y úlcera péptica

1.2.1. Inflamación gástrica

La Gastritis es una inflamación de la mucosa del estómago que puede ser de tipo agudo, de aparición rápida y resolución en pocos días, o de tipo crónico, en cuyo caso puede persistir durante años y producir úlcera péptica (Salazar, 2013). Puede ser solo superficial y, por tanto, poco nociva, o penetrar profundamente en la mucosa gástrica y provocar una atrofia casi completa de sus glándulas, si su evolución es prolongada. En algunos casos, es aguda e intensa, con ulceraciones mucosas debidas a la propia secreción del estómago (Guyton and Hall, 2016).

Esta patología se ha convertido en una enfermedad de Salud pública a nivel mundial, según datos recientes de la Organización Mundial de la Salud, el 80% de la población mundial padece de gastritis (Quintana, 2012). Desde el punto de vista

histológico estaría asociada con un aumento del número de células inflamatorias de la mucosa, caracterizada por un dolor fijo y quemante en el epigastrio, que aumenta por la presión y la ingestión de toda clase de sustancias, acompañadas de náuseas y vómitos (sobre todo cuando la enfermedad sigue una marcha aguda), calentura, ansiedad y de hipo (Fernández, 2014).

Los malos hábitos alimenticios, el estrés y la bacteria llamada *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) son los principales desencadenantes de este mal que no se presenta a una edad específica. Según Hernán Valladares, gastroenterólogo, incluso los niños pueden llegar a desarrollar la enfermedad. Puede ser causada por una infección bacteriana o viral, enfermedades autoinmunes, por el reflujo de bilis hacia el estómago (reflujo biliar), o por irritación (Marten et al., 2013).

Esta infección responde a menudo a un ciclo intensivo de medicamentos antibacterianos. Además, la ingestión de algunas sustancias irritantes lesiona en particular la barrera protectora de la mucosa gástrica, constituida por las glándulas mucosas y las uniones estrechas entre las células epiteliales del revestimiento gástrico, y suele acarrear una gastritis aguda o crónica grave (Guyton and Hall, 2016).

1.2.2. Úlcera péptica. Concepto. Generalidades

El término úlcera péptica (UP) lo utilizó, por primera vez, Quincke (1882) e indicaba que las propiedades digestivas del jugo gástrico eran las responsables de su producción o mantenimiento, y se creía que el agente productor era la pepsina (Pérez et al., 2004). Actualmente el concepto de UP presupone la existencia de una lesión de carácter erosivo en la pared interna de la mucosa gástrica o de la primera porción del intestino delgado (Chirri, 2013, Mena, 2015).

Una úlcera se define como la pérdida de la integridad de la mucosa del estómago o del duodeno que produce un defecto local o excavación a causa de inflamación activa y que en profundidad alcanza la submucosa. Esta es una de las patologías más frecuentes del aparato digestivo (García, 2015). El dolor epigástrico quemante, exacerbado por el ayuno y que mejora con la alimentación, es un complejo sintomático que la caracteriza (Del Valle, 2008).

Las úlceras se producen en el estómago o el duodeno, y con frecuencia son de naturaleza crónica (Del Valle, 2008). Aparecen en cualquier porción del estómago, pero la localización más frecuente corresponde a los primeros centímetros del píloro. Además, las UP afectan a menudo a la curvatura menor del extremo antral del estómago o, más rara vez, al extremo inferior del esófago, hacia donde refluyen los jugos gástricos (Guyton and Hall, 2016).

Ha sido reportado que es difícil tener una tasa de incidencia y prevalencia estable de UP, esto es debido a la dificultad de encontrar pacientes con sintomatología sugerente de presencia úlcera gástrica (UG) o úlcera duodenal (UD) documentada por medio de endoscopia (Camacho, 2014). Es una importante causa de morbilidad y coste sanitario, que cada año afecta a 4 millones de personas a nivel mundial, de las que un 10% - 20% desarrolla complicaciones como hemorragia, perforación y estenosis (García, 2015, Hurtado, 2014). En Cuba, durante el 2014, la úlcera digestiva constituyó la vigésima causa de muerte, ocurriendo 372 defunciones para una tasa de 3,3 por cada 100 000 habitantes (Santana, 2016).

La UP es una enfermedad heterogénea atribuible a una serie de factores, anatómicos, psicológicos, ambientales, farmacológicos, bacterianos y los estilos de vida, que de forma aislada o en combinación, actúan produciendo un desequilibrio entre los elementos agresivos y defensivos de la mucosa gastroduodenal que necesariamente lleva a la aparición de lesiones en el estómago y/o en el duodeno (Hurtado, 2014). Se ha descrito que el uso inadecuado de ácido acetilsalicílico (AAS) y de los antiinflamatorios no esteroides (AINEs) está asociado con un incremento en el número de las complicaciones de la UP, entre las cuales se encuentran la hemorragia digestiva alta y la perforación de la mucosa gástrica o duodenal (Arroyo et al., 2013).

En países del primer mundo, como EE. UU., estas complicaciones tienen un considerable impacto económico, sobre todo en relación a la pérdida de productividad en el trabajo, estimándose estas pérdidas en 5,65 billones de dólares americanos por año. En los Países Bajos se calcula que el costo per cápita por caso de hemorragia, perforación, o una combinación de ambos es de 12 000, 19 000 y 26 000 euros, respectivamente (Arroyo et al., 2013).

Las UD y las UG comparten muchos rasgos patogénicos, diagnósticos y terapéuticos, aunque existen diversos factores que las diferencian (Hurtado, 2014). En la UD la acción del ácido supondría el factor agresivo, mientras que en la UG fracasarían los factores defensivos (Del Valle, 2008).

Se consideran como factores agresivos el ácido, la pepsina, el tabaco, el alcohol, los ácidos biliares, los AINEs, y *H. pylori*. Mientras que dentro de los defensivos nos encontraríamos con la barrera de la mucosa gástrica, la formación y secreción de mucus, la secreción de bicarbonato, la regeneración epitelial, el flujo sanguíneo, las prostaglandinas, los mecanismos intrínsecos de secreción gástrica y hormonales, y el estado de salud y factor básico de crecimiento de los fibroblastos (Chirri, 2013, García, 2015).

También ha sido reportado que los bifosfonatos orales, el cloruro de potasio, medicamentos inmunosupresivos, y la disminución de los niveles de prostaglandinas relacionados con la edad, muestran su contribución a la enfermedad úlcero péptica. Sin embargo, el aislamiento de *H. pylori* y su identificación lideran las investigaciones acerca del papel de la inflamación y la cascada de citoquinas asociada a la secreción gástrica (MINSAL, 2013, Escorcía, 2014, Sisa, 2015).

1.2.3. Factores etiológicos

H. pylori es un bacilo espiral flagelado Gram (–) que se adquiere principalmente en la infancia, productor de ureasa, que se encuentra en el estómago de cerca del 90 - 95% de los pacientes con UD y del 60-80% de aquellos con UG. La infección por esta bacteria provoca, principalmente, una disminución de la concentración de somatostatina y una disminución de la población de células D (productoras de somatostatina). Se pierde el efecto inhibitorio sobre la gastrina, con la consiguiente hipergastrinemia que origina un aumento de células parietales y un aumento de la secreción ácida. Además, produce la liberación de una serie de compuestos que aumentarán el daño celular: citotoxinas, óxido nítrico, proteína del shock térmico (García, 2015).

H. pylori evade el ataque del sistema inmune causando una inflamación crónica e indolente por varios mecanismos, puede dañar el sistema de defensa de la mucosa y reducir el grosor de la capa de mucus, disminuye el flujo de sangre a la mucosa, e interactúa con el epitelio gástrico a través de los estadios de la inflamación. La infección por esta bacteria puede también incrementar la secreción de ácido gástrico por la producción de antígenos, factores de la virulencia, y mediadores solubles, induce la inflamación aumentando la masa de células parietales y así la capacidad de secretar ácido. Asociado al gen CagA puede jugar un importante role interfiriendo las vías de señalización epitelial que regula la respuesta celular y posiblemente contribuya a la disrupción apical de la barrera gástrica, la secreción de interleukina-8, y cambios fenotípicos en las células epiteliales gástricas (Escorcía, 2014).

Los AINEs inhiben la actividad de la Ciclooxygenasa 1 (Cox-1) lo que ocasiona una disminución en la síntesis de prostaglandinas (PG), prostaciclina y tromboxanos. Las PG tienen un efecto citoprotector de la mucosa gástrica ya que aumentan, la secreción de mucus, la secreción de bicarbonato, el flujo sanguíneo y la restauración epitelial. Su inhibición altera los mecanismos de protección y permite que los ácidos biliares, la pepsina y el ácido clorhídrico ataquen a la mucosa (García, 2015).

El alcohol se conoce como una sustancia necrotizante y su ingestión excesiva puede resultar en gastritis, caracterizada por edema de la membrana mucosa, hemorragias sub epiteliales, exfoliación celular e infiltración de células inflamatorias. Así, las enfermedades del tracto gastrointestinal relacionadas con el consumo excesivo de alcohol juegan un papel importante en la gastroenterología clínica (Saturnino et al., 2011).

El tabaco se ha implicado como factor etiológico de la UD, retardando la cicatrización y aumentando las recurrencias. Este efecto se realiza a través de diferentes mecanismos como: aumento de la secreción ácida en el estómago, disminución de secreción pancreática de bicarbonato, disminución de síntesis de PG y estimulación del reflujo del contenido duodenal hacia el estómago (Gaibor, 2013).

La úlcera por estrés se suele presentar en pacientes politraumatizados, quemados, enfermos con hipertensión endocraneal, después de una cirugía mutilante, en pacientes con sepsis y en aquellos que han sufrido shock hemorrágico. Aparece también en enfermos sometidos a ventilación mecánica y en general en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos con motivo de enfermedades graves (Hurtado, 2014).

1.3. Citoprotección. Terapias actuales

Aunque la secreción ácida gástrica y la presencia del *H. pylori* han dominado en los últimos tiempos la fisiopatología de la enfermedad ulcerosa péptica, la apreciación de los medios por los cuales la mucosa gástrica se protege a sí misma del daño ha sugerido enfoques terapéuticos adicionales, llevando a establecer el concepto de “citoprotección” (Ferrer et al., 2010). Hoy día, se estudia el efecto citoprotector de las PG, prostaciclina, óxido nítrico, sulfhídricos y otros mediadores y mecanismos endógenos de la gastroprotección (Arrieta et al., 2009). De esta manera, la adquisición de conocimientos cada vez más profundos en el campo de la fisiopatología del sistema gastrointestinal ha devenido en el desarrollo de una gran variedad de productos sintéticos que, tomando como base los conceptos actuales de citoprotección, son capaces de ejercer múltiples efectos beneficiosos en este sentido.

Los antihistamínicos H₂ (Cimetidina, Ranitidina, Famotidina, Nizatidina) producen la inhibición de la secreción ácida por bloqueo de los receptores específicos de producción de ácido (H₂ de la histamina). Estas han demostrado ser eficaces y seguras en la cicatrización de las lesiones ulcerosas, así como en la disminución de las recidivas si se administran de forma continua. En cuatro semanas consiguen cicatrizar el 80-85% de las UD y el 70-75% de las UG. A las 6 semanas estas cifras ascienden a un 90-92% y a un 80-85% respectivamente. La ranitidina ha demostrado ser eficaz en la prevención de la UD cuando se administran AINEs, pero no evita la aparición de lesiones gástricas a dosis estándar. Son significativamente menos eficaces que omeprazol y misoprostol en la cicatrización de lesiones ya presentes si se sigue administrando el AINE (Gaibor, 2013).

Los protectores de la mucosa como el Sucralfato actúan formando como un parche que se deposita en la úlcera y esto impide el ataque de los ácidos del estómago en la zona dañada. Estos medicamentos no se absorben. El Dicitrato bismutato tripotásico además de producir una capa protectora de la mucosa, puede tener un efecto inhibidor de la bacteria *H. pylori*. Otra sustancia protectora es el Acexamato de zinc, que parece también estabilizar los mastocitos e inhibir la secreción de histamina. La Pirenzepina produce un bloqueo nervioso (colinérgico) de la secreción de ácidos, por ello también produce sequedad de boca (3,9%) y visión borrosa (1,7%) (Mena, 2015).

Los inhibidores de la bomba de protones (IBP) son fármacos que actúan inhibiendo de manera irreversible la enzima H /K -ATPasa de las células parietales de la mucosa gástrica. Disminuyen, por tanto, la secreción ácida al actuar en el último eslabón fisiológico del proceso. Aunque la semivida en plasma es corta (de 1 a 2 horas) su efecto es más prolongado debido a que la inhibición irreversible requiere la síntesis de nuevas bombas de protones para reanudar la secreción ácida. La máxima supresión ácida se alcanza, en promedio, a los 3 días de tratamiento (Gaibor, 2013).

El omeprazol, el lansoprazol y el pantoprazol inhiben la secreción gástrica de forma muy efectiva. Son más rápidos y eficaces que los bloqueadores H₂ en lograr alivio sintomático y cicatrizar las lesiones. En cuatro semanas cicatrizan el 92-96% de las UD y un 85% de las UG. A las ocho semanas de tratamiento más del 95% de las lesiones, tanto duodenales como gástricas, están cicatrizadas. Tanto omeprazol como lansoprazol inhiben *in vitro* el crecimiento de *H. pylori* y cuando se administran *in vivo*, aunque no consiguen la erradicación, si disminuyen el número de colonias y por esto se utilizan como parte del tratamiento de la infección por esta bacteria, además de mejorar la eficacia de los antimicrobianos (Gaibor, 2013). Ahora bien, el tratamiento con misoprostol es caro y produce efectos colaterales gastrointestinales como diarreas en un 10% de los casos y no se puede utilizar en el embarazo, y el Omeprazol por su parte, en tratamientos prolongados, puede producir anaclorhidria (Esplugues and Barrachina, 2014).

Como se puede apreciar el cada vez más sofisticado arsenal de medicamentos conlleva a un elevado costo de producción, lo que encarece también su adquisición, y a la par de sus efectos beneficiosos sobre la patología gastrointestinal, también provocan en su gran mayoría, una serie de efectos adversos o secundarios que comprometen otras funciones. De aquí que haya ido cobrando mayor importancia, de una manera más pronunciada en los últimos tiempos, el rescate de la medicación a partir de productos de origen natural, opción conocida y practicada por el hombre desde su propio surgimiento.

1.4. Fitoterapia gastroprotectora

Muchos compuestos químicos se han aislado de plantas medicinales con actividad antiulcerosa. Esta es una razón importante para estudiar los efectos antiulcerogénicos de las plantas tradicionalmente utilizadas en la medicina popular para el tratamiento de enfermedades gástricas (Condori and Torres, 2013, Boeing et al., 2016, Rodrigo et al., 2016). Entre las principales clases de componentes bioactivos químicos capaces de ofrecer gastroprotección se encuentran los alcaloides, las saponinas, los flavonoides, las xantonas, los triterpenos y los taninos (Saturnino et al., 2011, Akuodor et al., 2013).

Se ha demostrado un efecto antisecretorio y gastroprotector al evaluar los extractos etanólico y metanólico de *Piper aduncum* (matico) así como sus respectivos fitofármacos en cápsulas, esta actividad parece estar presente también en otras especies del género *Piper*. Los extractos de diclorometano, cloroformo, hexano y metanol, lograron una disminución de la inflamación de más del 66% en este sentido el extracto etanólico presentó una actividad de 100% para disminuir el número de bandas hemorrágicas mientras que el extracto clorofórmico mostró una actividad antiulcerosa de 75% (Arroyo et al., 2013).

En este sentido *Piper carpunya* (Guaviduca) mostró efectos en la mucosa gástrica de ratas Wistar al disminuir el área ulcerada, impidió la infiltración de neutrófilos inducida por la administración de AINE *in vivo*, e inhibió la liberación de la enzima mieloperoxidasa proteolítica de los neutrófilos estimulados con el ionóforo de calcio A23187. El efecto gastroprotector del *P. carpunya* en este modelo

experimental se le atribuyen a mecanismos antiinflamatorios y antiradicales que pudiera presentar la planta (Quintana, 2012).

Estudios realizados a la semilla de *Elettaria cardamomum* L. (cardamomo) demostraron su efecto sobre la UP. Se extrajeron de los frutos secos y pulverizados, extractos y fracciones con diferentes disolventes, y por diferentes métodos de extracción. El estudio se llevó a cabo en ratas de la línea Wistar a diferentes dosis y se comprobó su capacidad para inhibir lesiones gástricas, inducidas por aspirina, etanol y ligadura pilórica, debido a sus efectos sobre la mucosa de la pared y la producción de ácidos gástricos (García, 2016).

1.5. Acción gastroprotectora y sistema antioxidante

Los organismos aerobios han desarrollado un sistema de defensa antioxidante para protegerse de la continua oxidación a la que están sometidos por el mero hecho de existir, este es requerido intra y extracelularmente para mantener la homeostasis del estado oxidativo. Actuando a través de diversos componentes enzimáticos y no enzimáticos, dicho sistema consigue contrarrestar la acción tanto de los pro-oxidantes derivados del metabolismo celular como de aquellos presentes en nuestra dieta. En conjunto, actuarían a tres niveles posibles: prevención de la formación de radicales libres, interceptación de los mismos y reparación del daño oxidativo generado (Carrasco, 2014).

En general, las enzimas que componen el sistema antioxidante suponen la principal defensa intracelular. Muchas de ellas son metaloenzimas que dependen de minerales aportados por la dieta para realizar su función. Por ejemplo, la enzima superóxido dismutasa (SOD), que acelera la conversión del radical O_2^- en H_2O_2 . Existen tres formas de esta enzima, clasificadas en función del metal que actúa como cofactor: las formas que necesitan manganeso (Mn-SOD), presentes en la mitocondria, y las que requieren cobre y zinc (Cu-SOD y Zn-SOD), mayoritariamente en el citosol (Carrasco, 2014, Cota, 2014, Riera, 2015).

Se ha comprobado que la actividad SOD es imprescindible para la vida. Niveles anormalmente altos o bajos de SOD (como los presentes en enfermos de Síndrome de Down, que muestran una disminución en la expresión de las formas Cu-SOD y Zn-SOD, como resultado de una mutación en el gen codificante

localizado en el cromosoma 21) dan lugar a efectos deletéreos sobre el organismo. La enzima SOD también ejerce su función antioxidante de forma indirecta previniendo la liberación de iones de hierro desde los clusters hierro-sulfuro y, por tanto, evitando la descomposición de H_2O_2 en $OH\cdot$ mediada por iones de hierro (reacción de Fenton), así como otros fenómenos (Castillo and Riverón, 2014, Pulido, 2014).

Existen estudios reportados en la literatura donde relacionan la actividad gastroprotectora y la implicación del sistema antioxidante (Tae et al., 2013, Sánchez et al., 2014). En este sentido Quintana (2012) comprobó la actividad antiulcerogénica del extracto hidroalcohólico de *Achillea millefolium* L. frente a lesiones gástricas inducidas por etanol y ácido acético al 80%. El tratamiento redujo las úlceras gástricas crónicas inducidas por ácido acético y promovió una regeneración importante de la mucosa gástrica. Previno la reducción de los niveles de glutatión (GSH) y la actividad de la SOD. En dosis de 10 mg/Kg inhibió la actividad de mieloperoxidasa (MPO) en úlcera gástrica inducida por el ácido acético (Quintana, 2012).

Por otra parte, la administración oral del extracto hidroalcohólico de *Maytenus robusta* Reissek (10mg / Kg), mediante el modelo de úlceras inducidas por ácido acético, redujo el área de la UG y produjo la regeneración de la mucosa gástrica en análisis histológico realizados. Además, el tratamiento con este extracto aumentó la mucina gástrica el contenido y reducción del estrés oxidativo e Inflamatorios en el sitio de la úlcera (Mota et al., 2015).

Así pues, el reino vegetal puede proporcionar una fuente muy útil de nuevos compuestos gastroprotectores que se desarrollen como preparaciones farmacéuticas alternativas o complementarias a las terapias ya existentes (Mena, 2015).

1.6. Género *Capraria*

El género *Capraria* al que pertenece la especie *Capraria biflora* L., se conoce en nuestro país por varios nombres, en la zona central como escabiosa o esclaviosa, como magüiro o magüira en Vueltarriba y Vueltabajo y majuito en la parte occidental. En Camagüey algunos le llaman magüiro y otros le dicen viuda (Roig,

1988). Es conocida por otros nombres en otros países del área caribeña, como té del país en Puerto Rico, escobo en Colombia, en México es conocida como claudiosa; coat-weed en EUA y Jamaica (Morais et al., 1995), fregosa y piñon en Venezuela; en Martinica se conoce como the d'Amérique; the du pays en Guadalupe y chá-de-Calcada en Brasil (Matos, 1994).

1.6.1. Principales usos atribuidos a *Capraria biflora* L.

La especie *Capraria biflora* L. en particular es usada como té de hierbas (D'ARCY, 1979) y algunos autores le atribuyen una acción análoga al té de China (Ideker, 1996) y es la única de su género a la que se le confieren usos medicinales.

La medicina natural le ha atribuido muchos usos medicinales a esta especie, así, por ejemplo, Roig (1988), la reconoce como tónico digestivo, antidiarreico, y como astringente en las heridas; en baños o loción en afecciones ováricas y uterinas. Morais y colaboradores (1995) como sudorífica, febrífuga y en afecciones del tracto urinario (Morais et al., 1995). En Jamaica es empleada para el tratamiento de la fiebre, la influenza e indigestiones (Mitchell and Ahmad, 2006). Las hojas y tallos se utilizan en Venezuela para las molestias estomacales (Puerta and León, 2009); además son usadas para aliviar algunos desordenes dérmicos, como escabiosis y escozor, para el combate de dolores estomacales, dispepsia y en asociación con otras plantas como estimulante digestiva (Aquino et al., 2006).

1.6.2. Evaluaciones farmacológicas previas

Las primeras investigaciones se desarrollaron por Gongalves de Lima en 1954 y 1958, al evaluar la actividad antimicrobiana frente a bacterias gram positivas y otros gérmenes de un principio activo denominada biflorina aislada a partir de las raíces de la planta (Goncalves de Lima et al., 1954, Gongalves de Lima et al., 1958).

Se desarrollaron otras investigaciones con esta molécula que permitieron verificar la actividad citotóxica y el potencial antioxidante de la biflorina tanto *in vitro* como *in vivo*. Se demostró además que esta molécula es capaz de incrementar la respuesta lograda por el 5-fluorouracilo (5-FU) inoculado en modelos de tumores,

lo cual demostró que la biflorina actúa como un agente inmunoadyuvante (Vasconcellos et al., 2007).

En estudios realizados se comprobó, a través de técnicas experimentales el efecto analgésico (test de contorsiones y plato caliente) del extracto acuoso obtenido a partir de las hojas de *C. biflora*. Adicionalmente Vicet (2009), evaluó los efectos antiinflamatorio agudo (edema plantar por carragenina, peritonitis inducida por carragenina y evaluación de la migración leucocitaria en embriones de *Danio rerio*. Estos experimentos demostraron que el extracto posee una potente actividad antiinflamatoria a dosis de 200 mg/Kg de peso por vía intraperitoneal y 400 mg/Kg vía oral, así como una moderada actividad analgésica a dosis de 200 mg/Kg de peso al comparar con los fármacos de referencia utilizados (Vicet, 2009).

Valido (2011), evaluó la actividad antiinflamatoria crónica y gastroprotectora del extracto acuoso de las hojas de esta planta, mediante varios modelos. El efecto antiinflamatorio se comprobó mediante el modelo experimental de granulomas inducidos por discos de algodón, concluyendo que posee actividad a todas las dosis estudiadas 200, 400 y 800 mg/Kg. Para comprobar la actividad gastroprotectora se emplearon las técnicas de úlcera gástrica inducida por etanol absoluto y por indometacina; con el primer modelo se obtuvo actividad gastroprotectora a todas las dosis estudiadas, con porcentajes de inhibición similares a la atropina, mientras que con el modelo de úlcera por indometacina, resultó que las dosis más activas fueron las de 400 y 800 mg/Kg, con porcentajes de inhibición comparables a la ranitidina (Valido, 2011).

1.6.3. Estudios toxicológicos previos

Se realizó un estudio de toxicidad límite a dosis única con objetivo de evaluar el posible grado de toxicidad del extracto acuoso de *C. biflora*. El ensayo se realizó según las regulaciones de la Organización para la Cooperación Económica y para el Desarrollo (OECD, 2014), a través del test de dosis límite a un nivel de dosis de 2000 mg/Kg por vía oral (CYTED, 2002). El ensayo concluyó que no se observaron afectaciones en los animales tanto en el peso vivo ni en el análisis

macroscópico de los órganos lo que muestra que no existió evidencias de ningún signo de toxicidad ni mortalidad en los grupos tratados (Vicet, 2009).

En 2013 se evaluó la toxicidad por dosis repetida (28 días) del extracto acuoso de las hojas de esta planta en ratas de la línea Sprague-Dawley administrando por vía oral en las dosis de 400, 800 y 1600 mg/Kg de peso vivo. El ensayo concluyó que el extracto no evidenciaba efectos tóxicos en los animales (Canto, 2013). Recientemente Cathrina (2015), evaluó el potencial genotóxico *in vivo* del extracto acuoso de las hojas de esta especie empleando una dosis de 800 mg/Kg en ratones de la línea BALB/c/Cenp., mediante los modelos de Médula Ósea y sangre periférica. Los resultados obtenidos le permitieron demostrar el bajo potencial genotóxico del extracto en los modelos seleccionados (Cathrina, 2015).

1.6.4. Fracción butanólica del extracto acuoso de *Capraria biflora* L.

Andrene (2007), evaluó tres fracciones provenientes del fraccionamiento del extracto acuoso de *Capraria biflora* L. (n- hexano, acetato de etilo y n- butanol). En este se pudo comprobar que la fracción n- butanólica resultó una de las fracciones más complejas desde el punto de vista fitoquímico, pues se obtuvieron resultados positivos para el ensayo de Shinoda, espuma, Liebermann-Burchard, cloruro férrico y Fehling, demostrando la presencia de saponinas flavonoides y otros compuestos fenólicos, así como azúcares y compuestos relacionado. Cuando se analizaron los resultados de este estudio con respecto a los flavonoides, como metabolito de interés, se observó que estos estaban presentes en 2 de las fracciones evaluadas (butanólica, acetato de etilo) aunque resultaron más abundantes en la fracción butanólica, presumiblemente de tipo flavona, flavonol, o flavanona según las evidencias descritas para el ensayo de Shinoda (Andrene, 2007). En este sentido se comprobó la actividad antiinflamatoria de esta fracción empleando la dosis de 300µg/mL mediante la técnica de migración leucocitaria en modelo de peces cebras obteniendo solo un 33, 3% de migración leucocitaria (Vicet, 2009).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Unidad de Toxicología Experimental (UTEX) de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, y en el Departamento de Farmacia de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas (UCLV), en el año 2017.

2.1. Equipos, Materiales y Reactivos empleados

Balanza analítica digital (Sartorius, BS-124S, Alemania), Balanza técnica digital (Sartorius, TE 12000, Alemania), Estufa (Binder, USA), Rotoevaporador (BUCHI R-200, Alemania), Plancha de calentamiento (IKA C-MAG HP7, Alemania), Manta de calentamiento (Electrothermal MX, Rusia), Molino de cuchillas (IKA-MF 10B, Alemania), Espectrofotómetro (T60 UV-Visible Spectrophotometer, USA). Utensilios y cristalería de laboratorio.

- N-butanol
- NaOH (Panreac 141686):1000g.
- EDTA (Ácido etilendiaminotetracético) (Sigma ED):500g.

2.2. Procesamiento del material vegetal

2.2.1. Recolección

La recolección del material vegetal se realizó en áreas cercanas a la UCLV, en el mes de febrero del 2017; las partes aéreas se trasladaron en bolsas de nylon hasta el laboratorio de Farmacognosia donde se lavaron con abundante agua potable y se procedió a la selección de las hojas como material de interés. Previo al procesamiento del material, se realizó la comprobación botánica de la especie por el Dr. Cristóbal Ríos Albuerne, especialista en Taxonomía Vegetal del citado Centro de Estudios del Jardín Botánico de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Ejemplares de la planta se compararon con muestras identificadas en el herbario localizado en el Jardín Botánico de la citada institución, bajo el número 08132.

2.2.2. Secado y molinado

El secado se realizó mediante calor artificial durante 3 días a una temperatura de 40°C con aire recirculado (Vicet, 2009), utilizando una estufa. Se almacenó en bolsas de polietileno en una desecadora protegida de la luz y la humedad, hasta el momento de su utilización. La droga seca se trituró en un Micromolino de cuchillas de 5 pulgadas, con un tamaño de partículas de 3mm.

2.2.3. Obtención de la fracción butanólica

Procedimiento:

Se pesaron 100 g de la muestra vegetal seca y molinada y se transfirieron a un balón. La droga se humectó con agua y se completó volumen hasta 1L. El material vegetal fue sometido a un proceso de extracción sólido-líquido (por reflujo) durante 30 min. El extracto fue filtrado y concentrado en baño de María en una plancha de calentamiento hasta obtener un extracto sólido. Posteriormente se redisolvió en 100 mL de agua destilada y se extrajo en un embudo separador con N-butanol saturado en agua (1L). Finalmente, la fracción butanólica se concentró hasta sequedad en un rotoevaporador (Vicet, 2009).

2.3. Modelo biológico

Se utilizaron 90 ratas machos (60 para estudios agudos y 30 para estudio subagudo) de la línea Sprague-Dawley (S/D) de 6-8 semanas de edad y con un intervalo de peso inicial entre 180- 200g. Esta línea es ampliamente utilizada en técnicas de farmacología experimental por la facilidad de su manipulación, su fácil manutención, la reproducibilidad de los resultados obtenidos en los estándares establecidos internacionalmente, y la amplia base de datos fármaco- toxicológicos con que se cuenta de las líneas producidas en el país (Berenguer et al., 2005).

2.3.1. Suministro y Cuarentena

Los animales fueron suministrados por el Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB) acompañados del correspondiente certificado de calidad Genética e Higiénico Sanitaria (Anexo 1).

Una vez recibidos los animales procedentes del Centro Suministrador, se inspeccionaron para corroborar el estado de salud general de la colonia y se seleccionaron, al azar, el 10% de los animales recibidos, incluyendo los moribundos, para realizarles exámenes de hematología y patología. El período de cuarentena fue de 5 días.

2.3.2. Aleatorización y alojamiento

Los animales que presentaron un estado de salud general aceptable al finalizar la cuarentena se asignaron de forma aleatoria a los grupos experimentales. Los animales fueron alojados en cajas T- 4 con fondo de rejilla a razón de 6 animales/caja. Durante el estudio se mantuvo una temperatura de $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de 30-70% y ciclo de luz oscuridad 12/12.

2.3.3. Método de identificación

Los animales se identificaron individualmente mediante el método de ponche en la oreja. Las cajas se identificaron mediante tarjetas que contuvieron la siguiente información: número del Protocolo, número de la caja, grupo de tratamiento, número del animal, sexo, especie y línea.

2.3.4. Alimentación y agua de bebida

El alimento consistió en pienso peletizado esterilizable, específico para ratas y ratones todo propósito, con fórmula EAO1004 certificado por el productor (CENPALAB) (Anexo 2), el cual se suministró a razón de 25 g/animal/día y agua de bebida apta para el consumo humano. El acceso se realizó a libre demanda. Los animales se mantuvieron en ayuna durante 24 horas antes de comenzar la experiencia en cajas de fondo de rejilla para evitar la ingestión de heces y cama, dejándolos únicamente con agua *ad libitum*.

2.4. Evaluación de la actividad gastroprotectora

Para comprobar la actividad gastroprotectora se emplearon las siguientes técnicas:

1. Modelo experimental de úlcera gástrica aguda inducida por etanol absoluto.

2. Modelo experimental de úlcera gástrica aguda inducida por Indometacina.
3. Modelo experimental de úlcera gástrica subaguda inducida por indometacina.

Se confeccionaron 5 grupos experimentales de 6 animales cada uno para cada modelo experimental.

Grupo 1 Tratado únicamente con el vehículo, agua destilada (control negativo).

Grupo 2 Tratado con el fármaco patrón, omeprazol (modelo etanol absoluto) y ranitidina (modelo de indometacina).

Grupo 3 Tratado con la fracción 50 mg/Kg.

Grupo 4 Tratado con la fracción 100 mg/Kg.

Grupo 5 Tratado con la fracción 200 mg/Kg.

Para la producción de úlceras se utilizó etanol absoluto a razón de 1 mL /250g e indometacina 50 mg/Kg de peso vivo.

2.4.1. Modelo experimental de úlcera gástrica inducida por etanol absoluto

Los productos fueron administrados vía oral, mediante intubación con cánula intragástrica, media hora antes de la administración del etanol, en una proporción de 10 mL/Kg de peso del animal. Transcurrida 1 hora de la administración del etanol, los animales fueron anestesiados y sacrificados por dislocación cervical e inmediatamente se les efectuó laparotomía en el tercio anterior de la línea media, extrayéndoles el estómago que fue abierto por la curvatura mayor lavándose cuidadosamente con una corriente suave de agua. Se extendieron los estómagos sobre una tabla de poliespuma mediante alfileres, observándose y cuantificándose las úlceras formadas. El recuento se efectuó visualmente utilizando un microscopio estereoscópico para la detección de las lesiones, midiéndose la longitud de las mayores usando un pie de rey y sumándolas (Mizui and Doteuchi, 1983).

El grado de ulceración se cuantificó mediante la escala de Marhuenda (CYTED, 1995).

0: sin lesión.

1: Úlceras hemorrágicas, finas, dispersas y de longitud menor de 2 mm.

2: Una úlcera hemorrágica fina de longitud mayor de 2 mm.

3: Más de una úlcera de grado 2.

4: Una úlcera de longitud menor de 5 mm y diámetro menor de 2 mm.

5: De una a tres úlceras de grado 4.

6: De cuatro a cinco úlceras de grado 4

7: Más de seis úlceras de grado 4

8: Lesiones generalizadas de la mucosa con hemorragia.

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

$$\% \text{ Inhibición} = [(I.U.c - I.U.p) / I.U.c] \times 100$$

I.U.c – índice de ulceración medio del lote control

I.U.p – índice de ulceración medio del lote problema o patrón

2.4.2. Modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina

Los productos fueron administrados vía oral, mediante intubación con cánula intragástrica, media hora antes de la administración de indometacina, en una proporción de 10 mL/Kg de peso del animal. Transcurridas 5 horas de la administración de la indometacina los animales fueron sacrificados siguiendo el mismo procedimiento del modelo anteriormente expuesto (Djahanguiri, 1968).

El recuento se efectuó de igual manera que la técnica de etanol absoluto. El grado de ulceración se expresa como el total de mm contados. Cuando la úlcera es

puntiforme se considera una longitud de 0.5 mm. Los resultados se expresan en porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración del lote control.

2.4.3. Modelo experimental de úlcera gástrica subaguda inducida por indometacina

Los productos fueron administrados vía oral, mediante intubación con cánula intragástrica, tres días antes de la administración de indometacina, en una proporción de 10 mL/Kg de peso del animal. Al tercer día transcurridas 5 horas de la administración de la Indometacina los animales son sacrificados siguiendo el mismo procedimiento del modelo anteriormente expuesto. El recuento y la expresión de los resultados fueron realizados similar al modelo anterior (CYTED, 1995).

2.4.3.1. Determinación de la Actividad de la enzima Superóxido Dismutasa

La medición de la actividad de la enzima Superóxido Dismutasa se realizó según el método indirecto de hematoxilina de Martin (Martin et al., 1987) el cual se basa en el principio de la disminución mediada por SOD, en la velocidad de autooxidación de hematoxilina en solución acuosa alcalina (Berenguer et al., 2005).

Se pesaron aproximadamente 20 mg de mucosa gástrica, esta fue homogeneizada en tampón fosfato que contenía EDTA y tritón, utilizando una dilución 1:150 (1 mg tejido/150 μ L de tampón) y en frío, luego se centrifugó y se decantó. Se añadieron soluciones de muestra (40 μ l) a tampón fosfato 920mM (pH 7,4) que contenía EDTA 1mM y 40 μ l de hematoxilina 5mM y se mezcló a fondo. La mezcla se incubó a 25°C durante 2 min y la absorbancia se midió en un espectrofotómetro a 560nm. Los resultados se expresaron como el porcentaje (%) de inhibición de la velocidad de autooxidación de la hematoxilina con respecto a la mezcla de reacción sin el compuesto de ensayo (Gege-Adebayo et al., 2013).

Preparación de los reactivos

Soluciones:

A: KH_2PO_4 0.1 M (6.8 g/0.5 l)

B: NaOH 0.1 M (2 g / 0.5 l)

Tampón fosfato potásico (KH_2PO_4) 50mM y pH 7.8, para la preparación de patrones.

Se preparó el tampón pH= 7.8: 250 mL de A + 195 mL de B (volumen total = 445 mL).

Tampón fosfato potásico 50mM + EDTA (29mg/L) + 0.1 % de tritón, pH 7.8 (para homogeneizar las muestras).

2.5. Bioseguridad y Ética

Los estudios se ejecutaron teniendo en cuenta las Buenas Prácticas de Laboratorio en Farmacología Experimental y todas las actividades se realizaron según lo establecido por los Procedimientos Normativos Operacionales (PNO) y sujetos a las inspecciones programadas por la Unidad de Garantía de la Calidad (UGC) de la Unidad de Toxicología Experimental (UTEX).

Los datos se plasmaron en los modelos de datos primarios correspondientes y las planillas elaboradas al efecto. Se cumplieron las normas de Bioética y Bioseguridad relacionadas con la experimentación animal (Dueñas, 2000). El protocolo y el informe final se archivaron en la Unidad de Garantía de la Calidad (UGC) de la Unidad de Toxicología Experimental (UTEX).

2.6. Análisis estadístico

En el análisis se utilizó el paquete de programas estadísticos SPSS para Windows versión 22 del 2013. Primero que todo se realizó un análisis descriptivo de los datos para conocer su naturaleza y sus principales tendencias. Para ello se calcularon las principales medidas de tendencia central y de dispersión de los grupos de dosis. Luego se realizó un análisis de la normalidad de los datos

utilizando el test de Shapiro-Wilk, el cual arrojó como resultado que los datos no se distribuían normalmente, por lo que se procedió a la utilización de pruebas no paramétricas. Luego se comparó el número de úlceras y el área dañada (modelo de indometacina) y el grado de ulceración en el modelo de etanol absoluto entre los grupos de dosis. Para ello se utilizaron el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para el análisis de varianzas de los diferentes grupos y luego el test de Mann Whitney para localizar las diferencias entre las parejas de grupos, con un intervalo de confianza del 95%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Procesamiento del material vegetal

3.1.1. Recolección

Para la recolección de material vegetal con fines farmacéuticos debe asegurarse la identidad de la droga; que debe ser recolectada e identificada por un personal experto y capacitado. En el presente trabajo, se realizó, la identificación taxonómica del material vegetal por un especialista en la temática, como criterio seguro de su identidad botánica, observándose una total correspondencia con las características del material recogido en herbario y con la descripción botánica establecida en la literatura (León 1957, Roig, 1988), (Figura 3).



Figura 2. Características macromorfológicas de la *Capraria biflora* L.

A: Material vegetal recolectado

B: *Capraria biflora* L. tomado de: Flora of Panama. D'Arcy. 1979

En la droga que nos ocupa la recolección del material se realizó de forma manual, pues es la técnica que se aconseja para plantas silvestres. Se realizó en horas tempranas de la mañana, tomando las partes aéreas y procurando dejar ramas suficientes para garantizar el normal desarrollo de la planta y así un uso sostenible

de este recurso natural. El lavado cuidadoso con agua potable garantizó la limpieza del material vegetal.

3.1.2. Secado y molinado

El secado mediante calor artificial permitió eliminar suficiente cantidad de humedad como para favorecer la conservación de la calidad de la droga y prevenir el deterioro de la misma, ya sea por enmohecimiento, acción de enzimas y/o bacterias y posibles alteraciones químicas por este concepto. Esta operación resulta ventajosa pues adicionalmente a que se fijan los constituyentes, se facilitan los procesos de trituración necesarios para obtener una forma más conveniente para su comercialización y almacenamiento.

3.1.3. Obtención de la fracción butanólica

Se obtuvo una fracción de color pardo amarillo rojizo, transparente, sin partículas en suspensión una vez rotoevaporado rindió 3,56 g de un semisólido de color oscuro (Andrene, 2007).

3.2. Evaluación de la actividad gastroprotectora de la *Capraria biflora* L.

Para el estudio del efecto de los medicamentos sobre la úlcera gástrica, se han establecido una serie de investigaciones que han permitido la profundización en el conocimiento de los mecanismos de acción de varios agentes ulcerogénicos. La producción de úlceras agudas puede lograrse mediante varios modelos experimentales, dentro de los más utilizados están: el etanol absoluto y administración oral de indometacina (CYTED, 1995).

3.2.1. Modelo experimental de úlcera gástrica inducida por etanol absoluto

En los estudios de gastroprotección se tienen en cuenta dos variables, el número de lesiones y su severidad. El número de úlceras, aunque es indicativa de posible protección en la mucosa, en la mayoría de los casos no se corresponde con la

severidad de las lesiones (Boffill et al., 2008) por lo que el grado de ulceración es determinante y decisivo en este tipo de técnicas.

Al analizar macroscópicamente los animales sacrificados del grupo control negativo, encontramos en los estómagos una gran distensión, sus mucosas estaban enrojecidas y en ocasiones completamente hemorrágicas, además se pudo constatar en ellas un número considerable de ulceraciones, la mayoría de gran severidad (Figura 3. A). Por el contrario, en los grupos a los cuales se les administraron las dosis de la fracción, los estómagos se mostraron menos distendidos, sus mucosas no presentaban enrojecimiento y se apreció en ellas una evidente disminución en el número y la severidad de las lesiones ulcerosas (Figura 3. B y C).

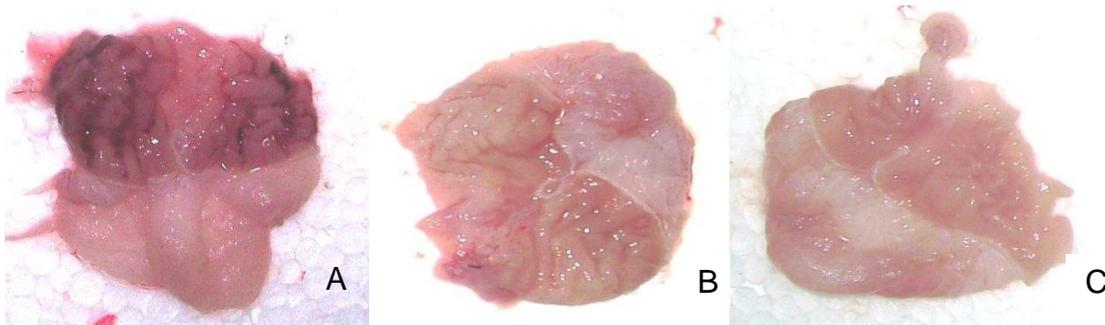


Figura 3. Observación macroscópica de los estómagos. Modelo etanol absoluto. A: Control negativo, B: Control positivo y C: Dosis de 200 mg/Kg.

El etanol es considerado un factor de riesgo en el desarrollo de úlceras gástricas, este penetra rápidamente la mucosa gástrica debido a su propiedad física de solubilizar el moco gástrico. Por consiguiente, expone a la mucosa gástrica a la acción hidrolítica y proteolítica del ácido clorhídrico y la pepsina respectivamente, causando un mayor daño a la membrana (Béjar, 2016).

La patogénesis del daño gástrico inducido por etanol implica un aumento del estrés oxidativo en particular de radicales $\text{OH}\cdot$ y de anión superóxido y afecta la disponibilidad de óxido nítrico. El tratamiento agudo con etanol produce lesiones y erosiones de la mucosa gástrica, aumentando el estrés oxidativo, la peroxidación lipídica y específicamente las cifras del malondialdehído, el daño del ácido desoxirribonucleico (DNA) y reduce el contenido de glutatión de la mucosa gástrica de rata (Fernández, 2014, Callohuari et al., 2016).

El daño gástrico por el etanol también se debe a su acción vasoconstrictora sobre las venas y arterias de la mucosa gástrica, lo que produce congestión, inflamación y daño tisular a acciones que pueden ser prevenidas por las prostaglandinas E2 (PGE2), la cual aumenta la secreción de mucus e inhibe la motilidad gástrica (Coronel, 2016).

La tabla I muestra la comparación de las estadísticas del grado de ulceración entre los grupos experimentales y los grupos control (negativo y positivo). El control negativo conserva el mayor grado de ulceración como era de esperar, mientras que los grupos experimentales y el control positivo muestran los menores.

Tabla I. Grado de ulceración. Modelo etanol absoluto.

Grupos	N	Grado de ulceración (mm ²)	DE
Control -	6	7.50 a	0.75
Control +	6	0.63 d	1.18
Dosis 50 mg/Kg	6	4.63 b	1.84
Dosis 100 mg/Kg	6	1.75 c	1.28
Dosis 200 mg/Kg	6	0.88 cd	0.83

ab- letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$: Test Kruskal-Wallis y Mann-Whitney). DE: Desviación Estándar

Al comparar el grado de ulceración entre los grupos experimentales y el grupo control negativo. El análisis de varianza de Kruskal-Wallis demostró, que existían diferencias significativas entre los 4 grupos (significación 0.000, menor que 0.01 (altamente significativa)). El grado de las lesiones ulcerosas en el grupo control negativo mantiene rangos altos y disminuyen en los grupos experimentales al ir aumentando la dosis. Los resultados se muestran en el Anexo 3.

Al analizar el test de Mann-Whitney, encontramos que todos los grupos se diferencian significativamente del control negativo (letras desiguales marcan diferencias significativas al 5%), de igual forma todos los grupos se diferencian del control positivo, excepto el grupo al que se le administró la dosis de 200 mg/Kg para un $p \leq 0.05$. Por otra parte, las dosis de 50 y 100 mg/Kg mostraron diferencias

significativas. Finalmente, la dosis de 200 mg/Kg no se diferenció estadísticamente de la de 100 mg /Kg ($p \leq 0.05$), a pesar de presentar menor grado de ulceración con respecto a esta.

En la tabla II se muestran los porcentajes de inhibición en cuanto al grado de ulceración de las dosis experimentales y del control positivo. Se puede observar un aumento progresivo del porcentaje de inhibición desde 38,2% a la dosis de 50 mg/Kg, hasta 88.3% a 200 mg/Kg, cercano al omeprazol con 91,6%.

Tabla II. Porcentajes de inhibición en cuanto al grado de ulceración de las dosis experimentales y del control positivo (Modelo etanol absoluto).

Grupo	% de inhibición
Control positivo (Omeprazol 20 mg/Kg)	91,6
Dosis 50 mg/Kg	38,2
Dosis 100 mg/Kg	76,6
Dosis 200 mg/Kg	88,3

El omeprazol es una base débil que se convierte a su forma activa únicamente en el medio ácido de la célula parietal. Ahí inhibe la enzima H^+ , K^+ -ATPasa, es decir, el último paso de la producción del ácido gástrico. La inhibición es dosis dependiente y afecta tanto la secreción basal como la estimulada, independientemente del tipo de estímulo. El omeprazol no actúa sobre los receptores histaminérgicos. El tratamiento con omeprazol produce, al igual que los antagonistas H_2 , una reducción en la acidez del estómago y esto provoca un incremento en la secreción de gastrina proporcional a la reducción de la acidez. Este aumento de la gastrina es reversible (CECMED, 2015).

Hurtado (2014), evaluó el extracto hidroalcohólico de hojas de *Juglans neotropica* Diels “Nogal peruano”, en modelo de etanol absoluto utilizando dosis de 50, 250 y 500 mg/Kg, demostrando que el tratamiento con el extracto produjo una inhibición de las úlceras gástricas de 84,61% y 94,77% a dosis de 250 y 500 mg/Kg respectivamente. Atribuyó tales efectos a la presencia de flavonoides. La fracción

empleada en nuestro estudio mostró resultados similares a la dosis de 200 mg/Kg (88.3%) (Hurtado, 2014).

Utilizando el mismo modelo, Callohuari et al (2016), evaluaron el extracto acuoso de las vainas de *Caesalpinia spinosa* (Molina), empleando dosis de 100, 400 y 800 mg/Kg, mostrando esta última dosis el mayor porcentaje de protección (99,7%), atribuyeron tales efectos a la presencia de flavonoides y taninos en la composición del extracto (Callohuari et al., 2016)

Por otra parte, el extracto metanólico obtenido de las semillas de *Elettaria cardamomum* L (cardamomo) redujo las lesiones gástricas inducidas por etanol en un 70% según García (2016). También demostró que el aceite esencial era eficaz en la disminución de un 65% de la úlcera gástrica inducida por alcohol, pero el volumen total de la secreción gástrica, acidez total y el espesor de la pared mucosa no se vieron afectadas (García, 2016).

Scoparo et al., (2014), evaluaron la fracción de acetato de etilo proveniente del fraccionamiento del extracto hidroalcohólico proveniente de las hojas de *Camellia sinensis* mediante el modelo de etanol absoluto. La misma mostró un porcentaje de inhibición de 56%, inferior al mostrado por nuestro estudio a las dosis de 100 y 200 mg/ Kg (Scoparo et al., 2014).

En este sentido Pinto y Bustamante (2008) evaluaron el *Plantago major* (llantén) en modelo de etanol absoluto utilizando dosis de 500 mg/Kg, para varios extractos, donde el extracto acuoso mostró un porcentaje de inhibición de 90.72% ligeramente superior al obtenido para el extracto de *Capraria* a dosis de 200 mg/Kg. Estos autores atribuyeron tal acción a la presencia de flavonoides y taninos como la apigenina y luteolina, metabolitos que como se dijo anteriormente han sido identificados en la especie objeto de estudio en la presente investigación (Pinto and Bustamante, 2008).

3.2.2. Modelo experimental de úlcera gástrica inducida por indometacina

En el modelo de la indometacina no se visualizaron diferencias macroscópicas tan marcadas como en el modelo del etanol, en relación con la distensión gástrica y el estado de la mucosa. Las úlceras inducidas por la indometacina tienen su origen

en que dicho compuesto es un inhibidor de la ciclooxigenasa y por consiguiente de la síntesis de las prostaglandinas. Esta produce úlceras predominantemente lineales, en el segmento glandular en forma de lesiones mucosales, su acción no es sólo tópica pues cuando este compuesto es administrado por vía intraperitoneal también se producen úlceras gástricas y en el intestino (Ferrer, 2007). (Figura 4. B). El grupo control (Ranitidina 100 mg/Kg) y los grupos tratados con las diferentes dosis de los extractos, no mostraron distensión ni estados críticos de la mucosa. (Figura 4. Estómago C).

El consumo de indometacina resulta muy usual en nuestro medio. Luego de un período inicial en el cual la presencia de indometacina produce acortamiento y distorsión de vellosidades, y trombosis de la vasculatura, con exfoliación del epitelio superficial y espasmo vascular con compresión de las estructuras subyacentes, aparece un período que se caracteriza por la llegada de neutrófilos, a la microcirculación. Estos neutrófilos se adhieren al endotelio vascular y este parece ser un punto clave en la fisiopatología del daño por AINEs (San Miguel, 2000).



Figura 4. Observación macroscópica de los estómagos. Modelo indometacina agudo. A: Control negativo, B: Control positivo y C: Dosis de 200 mg/Kg.

La tabla III muestra la comparación de las estadísticas del grado de ulceración entre los grupos experimentales y los de ambos grupos control, (negativo y positivo). El control negativo conserva, igual que el modelo anterior, el mayor grado de ulceración seguido de la dosis de 50 mg/Kg, mientras que los grupos experimentales de 100 mg/Kg, 200 mg/Kg y el control positivo muestran los menores.

Tabla III. Grado de ulceración. Modelo agudo indometacina.

Grupos	N	Grado de ulceración (mm ²)	DE
Control -	6	6.81 a	5.19
Control +	6	0.84 c	1.34
Dosis 50 mg/Kg	6	2.06 b	0.87
Dosis 100 mg/Kg	6	1.31 c	0.62
Dosis 200 mg/Kg	6	0.97 c	1.03

ab- letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$: Test Kruskal-Wallis y Mann-Whitney). DE: Desviación Estándar

Al comparar el grado de ulceración entre los grupos experimentales a las diferentes dosis y el control negativo, el test de Kruskal-Wallis demuestra que hay diferencias significativas entre los 4 grupos (significación 0.00 menor que 0.01 (altamente significativas)). El grupo control negativo mantiene rangos altos, le sigue la dosis de 50 mg/Kg y disminuye progresivamente en las dosis de 100 y 200 mg/Kg. Los resultados se muestran en el Anexo 4.

El test de Mann-Whitney (Anexo 4) muestra que existen diferencias entre los grupos experimentales y el control negativo. La dosis de 50 mg/Kg difiere significativamente del control positivo utilizado para un $p \leq 0.05$, mientras que las dosis de 100 y 200 mg/Kg no lo hacen, incluso tampoco se diferencian entre ellas.

Tabla IV. Porcentajes de inhibición en cuanto al grado de ulceración de las dosis experimentales y del control positivo (Modelo agudo Indometacina).

Grupo	% de inhibición
Control positivo (Ranitidina 100 mg/Kg)	87,6
Dosis 50 mg/Kg	69,7
Dosis 100 mg/Kg	80,7
Dosis 200 mg/Kg	85,7

Al analizar el porcentaje de inhibición (tabla IV) en cuanto al grado de ulceración de las dosis experimentales y del control positivo, se puede observar una inhibición de las lesiones ulcerosas a las concentraciones empleadas, incluso con valores muy cercanos a la ranitidina (87%).

El extracto etanólico proveniente de las hojas de *Markhamia tomentosa*, fue evaluado mediante los modelos de úlcera por etanol e indometacina a las dosis de 50, 100 y 150 mg/Kg. Similares dosis fueron empleadas para la evaluación de la fracción de acetato de etilo proveniente del fraccionamiento del citado extracto en el modelo de indometacina. Esta fracción mostró la mayor actividad antiulcerogénica a la dosis de 150 mg/Kg con un 72% de inhibición, resultados inferiores a los mostrados por *C.biflora* empleando el mismo modelo a las dosis de 100 y 200 mg/Kg (Sofidiya et al., 2014).

Por otra parte, León (2016), evaluó el extracto hidroalcohólico de *Plantago lanceolata* L. (llantén menor), en modelo de indometacina a dosis única de 80 mg/Kg vía subcutánea utilizando dosis de 200 y 400 mg/Kg. El autor demostró que el extracto presentó efecto antiulceroso con un porcentaje de inhibición de 83,1% y 98,9% respectivamente, similar al mostrado por nuestra fracción a la dosis de 200 mg/Kg (85,7%). Atribuyeron tales efectos a la presencia de flavonoides y taninos (León, 2016).

García (2016), emplea el modelo de úlceras inducidas por indometacina al evaluar diferentes fracciones obtenidas del extracto metanólico de *Elettaria cardamomum* L. (cardamomo). Se pudo comprobar que la fracción extraída con éter de petróleo, inhibía las lesiones en casi un 100% a una dosis de 12,5 mg/Kg (García, 2016).

Delgado et al., (2015), evaluó el extracto liofilizado del fruto de *Capsicum annum* L. (pucunucho, ají mono), en modelo de indometacina utilizando dosis de 10, 100 y 1000 mg/Kg, demostrando que el extracto presentó efecto antiulceroso con porcentajes de inhibición de 60,4%, 66,7% y 81,63% respectivamente, similares a los obtenidos en nuestro estudio (Delgado et al., 2015).

Alaribe et al., (2014), evaluaron el extracto y la fracción butanólica de *Nauclea latifolia*, empleando el modelo de úlcera por aspirina y misoprostol como control positivo. Fueron estudiadas para el extracto dosis de 50 mg/Kg y 100 mg/Kg

mientras que para la fracción solo se seleccionó la dosis de 50 mg/Kg, la cual mostró para la fracción y el extracto porcentajes de inhibición de 4.4% y 28.1% respectivamente, resultados inferiores a los mostrados por nuestra fracción (69,7%) al emplear la misma dosis (Alaribe et al., 2014).

3.2.3. Modelo experimental de úlcera gástrica subaguda inducida por indometacina

En el modelo subagudo de la indometacina no se observaron estados críticos de la mucosa ni distensión gástrica, aunque el control negativo mostró enrojecimiento y úlceras definidas y puntuales como es característico de este agente injuriante.

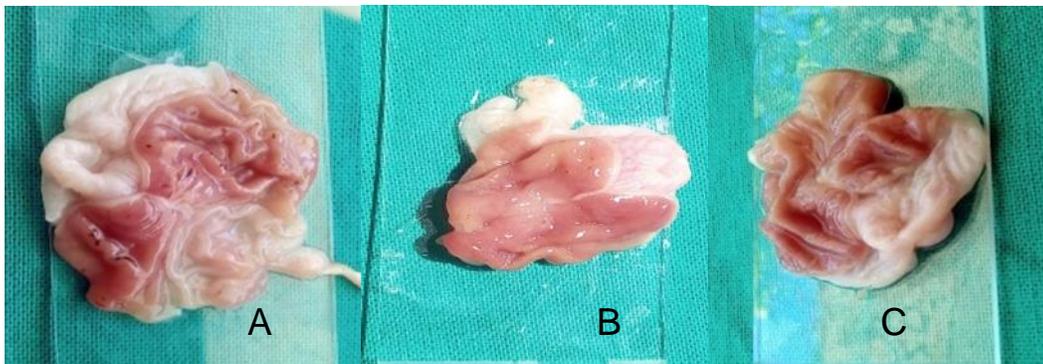


Figura 5. Observación macroscópica de los estómagos. Modelo indometacina subagudo. A: Control negativo, B: Control positivo y C: Dosis de 200 mg/Kg.

El grupo control (Ranitidina 100 mg/Kg) y los grupos tratados con las diferentes dosis de los extractos, no mostraron distensión ni estados críticos de la mucosa. Además, se pudo visualizar que estos grupos experimentales poseían un menor número de úlceras (Figura 5. Estómagos B, y C). Resultados que probablemente estén relacionados con una mayor gastroprotección a dosis repetida de la fracción evaluada.

En la tabla V se muestran los resultados del grado de ulceración empleando el modelo de úlcera subaguda por indometacina. Como se puede apreciar el control negativo conserva, igualmente que el modelo anterior, el mayor grado de ulceración seguido de la dosis de 50 mg/Kg, mientras que los grupos experimentales de 100 mg/Kg, 200 mg/Kg y el control positivo muestran los menores valores.

Tabla V. Grado de ulceración. Modelo subagudo indometacina.

Grupos	N	Grado de ulceración (mm ²)	DE
Control -	6	6.25 a	3.32
Control +	6	0.12 d	0.13
Dosis 50 mg/Kg	6	1.31 b	0.79
Dosis 100 mg/Kg	6	0.81 bc	0.47
Dosis 200 mg/Kg	6	0.47 cd	0.50

ab- letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$: Test Kruskal-Wallis y Mann-Whitney). DE: Desviación Estándar

El test de Kruskal-Wallis nuevamente demuestra que hay diferencias significativas entre los 4 grupos (significación 0.00 menor que 0.01 (altamente significativas)), en cuanto al grado de ulceración. Los resultados se muestran en el Anexo 4.

El test de Mann-Whitney (Anexo 4) muestra que existen diferencias entre los grupos experimentales y el control negativo. La dosis de 50 mg/Kg difiere significativamente del control positivo utilizado y de la dosis de 200 mg/Kg para un $p \leq 0.05$, sin embargo, no lo hace con respecto a la dosis de 100 mg/Kg ni esta con la dosis de 200 mg/Kg. Por último, la dosis de 200 mg/Kg tampoco se diferenció estadísticamente del control positivo para un $p \leq 0.05$, aunque es válido destacar que sus valores fueron ligeramente inferiores.

Tabla VI. Porcentajes de inhibición en cuanto al grado de ulceración de las dosis experimentales y del control positivo (Modelo agudo Indometacina).

Grupo	% de inhibición
Control positivo (Ranitidina 100 mg/Kg)	98,0
Dosis 50 mg/Kg	79,0
Dosis 100 mg/Kg	87,0
Dosis 200 mg/Kg	92,4

La dosis de 50 mg/Kg muestra el menor valor 79%, seguido de las dosis de 100 y 200 mg/Kg con un 87 y 92% respectivamente, el control positivo muestra la mayor inhibición con un 98%. Valores superiores a los encontrados al administrar el extracto y el control positivo por un día.

La fracción butanólica de *Virola oleifera* fue evaluada en el modelo de indometacina y etanol empleando dosis de 10 y 100 mg/Kg. Los mayores porcentajes de inhibición fueron mostrados en el modelo de etanol con porcentajes de inhibición de 95% y 97% respectivamente. Mientras que en el modelo de indometacina fueron determinados un 66% y 59% respectivamente. Si bien en nuestro estudio fueron obtenidos similares resultados en el modelo de indometacina el comportamiento en el modelo de etanol absoluto no fue el mismo pues reflejó valores inferiores a los mostrados por *Virola oleifera* (Hertel et al., 2016).

Empleando nuevamente el modelo de indometacina fue evaluado el extracto metanólico obtenido de las hojas de *Barleria prionitis* Linn. Fueron empleadas dosis de 250 y 500 mg/Kg las cuales mostraron porcentajes de inhibición de 52,2 y 67,7% porcentajes inferiores a los obtenidos en nuestro estudio (Manjusha et al., 2013).

En estudios previos, consideran aceptables porcentajes de inhibición cercanos al 50% y atribuyen estos valores a los principios activos presentes en cada especie (Karimi et al., 2004). Los porcentajes de inhibición en los modelos desarrollados son superiores a este valor en todas las dosis estudiadas excepto la dosis de 50 mg/Kg en el modelo de etanol absoluto. Estos resultados demuestran la capacidad como protectora de la mucosa gástrica de esta planta. Demostrando en este caso un incremento del efecto gastroprotector a medida que aumenta la dosis ya que los extractos administrados a la dosis de 200 mg/Kg arrojaron los mayores porcentajes de inhibición en los modelos seleccionados.

3.2.3.1. Determinación de la Actividad de la enzima Superóxido Dismutasa

Existen evidencias concernientes en cuanto a la participación de las especies reactivas de oxígeno en la etiología y fisiopatología de las enfermedades en el

humano como, desordenes neurodegenerativos, inflamación, infecciones virales, patologías autoinmunes y desordenes del sistema digestivo como inflamaciones gastrointestinales y úlceras gástricas (Gege-Adebayo et al., 2013).

En la tabla VII se reflejan los porcentajes de inhibición con respecto a la tasa de autoxidación de hematoxilina para la enzima superóxido dismutasa. El test de Kruskal-Wallis demuestra que hay diferencias significativas entre los 5 grupos (significación 0.00 menor que 0.01 (altamente significativas)), en cuanto al porcentaje de inhibición de la enzima.

Tabla VII. Porcentajes de inhibición de la enzima Superóxido Dismutasa (Modelo subagudo de Indometacina).

Grupo	% de inhibición	DE
Control negativo agua destilada (10 ml/Kg)	26.57a	0.87
Control positivo (Ranitidina 100 mg/Kg)	48.30d	0.90
Dosis 50 mg/Kg	33.43b	0.86
Dosis 100 mg/Kg	36.43b	0.90
Dosis 200 mg/Kg	41.24c	0.55

ab- letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$: Test Kruskal-Wallis y Mann-Whitney). DE: Desviación Estándar

El test de Mann-Whitney (Anexo 4) muestra que existen diferencias entre los grupos experimentales y el control negativo. Similares resultados se obtienen al comparar con el control positivo pues las dosis experimentales también se diferencian de este para un $p \leq 0.05$. La dosis de 50 mg/Kg y 100 mg/Kg difieren significativamente de la dosis de 200 mg/Kg, pero no lo hacen entre ellas para un $p \leq 0.05$. El tratamiento previo con la fracción de la planta, protege frente al agente lesionante, ya sea directamente, neutralizando los radicales libres generados en un proceso inflamatorio, como también la modulación del estado redox por aumentos en el potencial de defensa antioxidante endógeno, incrementando probablemente la actividad de ciertas enzimas antioxidantes como SOD (González et al., 2007).

Quintana (2012), evaluó la actividad gastroprotectora las fracciones de *Achillea millefolium* L (Achillea) y *Piper carpunya* R. (Guaviduca). Las fracciones fueron administradas previamente y luego fueron expuestas tanto a lesiones gástricas agudas inducidas por etanol como úlceras gástricas inducidas por el 80% de ácido acético. La administración oral de *Achillea millefolium* L a las dosis de 30, 100 y 300 mg/Kg inhibió las lesiones gástricas inducidas por etanol en un 35, 56 y 81%, respectivamente. El tratamiento previno la reducción de los niveles de GSH y la actividad de SOD después de inducida las lesiones gástricas.

El tratamiento previo con *P. carpunya* disminuyó el área ulcerada e impidió la infiltración de neutrófilos inducida por la administración de AINE en vivo. Los resultados obtenidos sugieren que el efecto gastroprotector del *P. carpunya* en este modelo experimental aparece a través de mecanismos anti-inflamatorios y anti-radical (Quintana, 2012).

Gege-Adebayo et al., (2013), evaluó la actividad gastroprotectora y antioxidante del extracto metanólico de *Ocimum Gratissimumon*. Los grupos fueron pretratados con el extracto empleando dosis de 100 y 300 mg/Kg obteniéndose porcentajes de inhibición de autooxidación de hematoxilina de 29.43 y 39.83% respectivamente, resultados similares a los obtenidos en nuestro estudio (Gege-Adebayo et al., 2013).

La presencia de los polifenoles (flavonoides) que se encuentran en la fracción butanólica pudieran explicar el aumento de la actividad de la SOD ya que estas no solo retiran aniones superóxido sino radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquean la acción deletérea de dichas sustancias sobre las células (Martínez et al., 2002). Los flavonoides son importantes para el control de las concentraciones intracelulares del glutatión tal como se observa en un estudio donde la presencia de flavonoide induce la actividad de gamma glutamil cisteína sintetasa (Myhrstad et al., 2002).

Se puede apreciar que los compuestos fenólicos, en especial los flavonoides, parecen ser metabolitos determinantes en la protección de la mucosa gástrica. Numerosos mecanismos han sido propuestos para explicar el efecto gastroprotector de los flavonoides, como por ejemplo el aumento del contenido

mucosal de prostaglandinas, disminución de la secreción de histamina, eliminación de radicales libres, aumento de la perfusión vascular y reducción de la adherencia leucocitaria (Borrelli and Izzo, 2000). Algunos de ellos, reducen la motilidad gastrointestinal prolongando el tiempo de contacto de los extractos con las paredes del estómago y aumentando de esta manera el efecto gastroprotector. Por tanto, previenen lesiones en la mucosa gástrica inducida por diferentes métodos y la protegen contra distintos agentes necróticos (Lorente, 2003).

Los compuestos fenólicos como taninos y flavonoides; y algunos terpenos, actúan como antioxidantes, infiriendo así un efecto citoprotector, que en diferentes plantas ya se ha comprobado su efecto gastroprotector, antisecretor, antiinflamatorio e inhibidor de la migración de las células inflamatorias y actividad ante los radicales libres; los flavonoides son considerados protectores celulares, conociendo su actividad como antioxidantes, además incrementan las prostaglandinas que se encuentran disminuidas por inhibición de la COX posterior al uso de AINEs. Sánchez Calero et al demostraron que el extracto acuoso de *Rhizophora mangle* posee propiedades antioxidantes frente al daño oxidativo de biomoléculas como proteínas y ADN, donde los compuestos fenólicos son los principales responsables de la actividad (Hurtado, 2014).

En el caso de los flavonoides su actividad antioxidante resulta de una combinación de sus propiedades donadores de protones, hidroxilo y quelantes de hierro. Son secuestradores de radicales libres: anión superóxido, radicales hidroxilo, hidroperóxido y peróxidos lipídicos, así mismo son conocidos antiinflamatorios porque inhiben a las enzimas ciclooxigenasa y 5-lipooxigenasa (Béjar, 2016).

En este contexto las hojas de *Capraria biflora* L. pueden resultar una terapia alternativa y/o complementario en el tratamiento de patologías gástricas.

CONCLUSIONES

1. La fracción butanólica de las hojas de *Capraria biflora* L. mostró efecto gastroprotector en los modelos de úlcera aguda por etanol absoluto e indometacina con grado de ulceración y porcentaje de inhibición en la dosis de 200 mg/Kg similares a los controles positivos empleados.
2. La fracción butanólica de las hojas de *Capraria biflora* L. mostró efecto gastroprotector en el modelo de úlcera subaguda por indometacina, a todas las dosis estudiadas, con grado de ulceración y porcentaje de inhibición en la dosis de 200 mg/Kg similar al control positivo empleado.
3. La administración de la fracción butanólica de las hojas de *Capraria biflora* L. provocó un aumento de la actividad de la enzima superóxido dismutasa con porcentajes de inhibición con respecto a la tasa de autooxidación de hematoxilina diferentes al control negativo empleado.

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios donde se evalúe la actividad gastroprotectora del crudo de flavonoides.
2. Realizar estudios donde se evalúe la actividad gastroprotectora crónica con vistas a justificar su empleo en la medicina tradicional.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKUODOR, G., ESSIEN, A. & DAVID, O. 2013. Gastroprotective effect of the aqueous leaf extract of *Guiera senegalensis* in Albino rats. *Elsevier*, 111-123.
- ALARIBE, C. S., ADESEGUN, S., IDOWU, A. O., EGERE, O., IHEMEDU, C., COKER, H. A. B. & SMITH, S. 2014. Healing, Cytoprotective and Anti-Helicobacter pylori activities of stem bark extracts and butanol fraction of *Nauclea latifolia*. *7*, 15-24.
- ANDRENE, C. 2007. *Evaluación fitoquímica y toxicológica del extracto acuoso obtenido a partir de las hojas de Capraria biflora L.* Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
- AQUINO, T., LIMA, C., ALBUQUERQUE, U. & AMORIM, E. 2006. *Capraria biflora L.* (Scrophulariaceae): uma Revisão. *Acta Farm. Bonaerense*, 25 (3), pp. 460-7.
- ARRIETA, J., REYES, B., REYES, A., RODRÍGUEZ, J. & E, S. M. 2009. Papel de los grupos sulfhidrilos, las prostaglandinas y el óxido nítrico endógeno, en la gastroprotección del lanosterol sobre las lesiones gástricas inducidas por etanol en rata. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*.
- ARROYO, J., BONILLA, P., MORENO, L., RONCEROS, G., TOMÁS, G., HUAMÁN, J., RAEZ, E., QUINO, M. & RODRÍGUEZ, J. 2013. Efecto gastroprotector y antisecretor de un fitofármaco de hojas de matico (*Piper aduncum*). *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 30, 608-615.
- BÉJAR, E. 2016. *Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de Jungia paniculata (dc.) A. Gray "matico serrano" en un modelo de daño gástrico en ratas inducido por etanol 70%*. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- BERENQUER, B., VILLEGAS, I., SÁNCHEZ, S., ALARCÓN, C., MOTILVA, V. & MARTÍN, J. 2005. *Manual de técnicas experimentales utilizadas en el estudio preclínico de fármacos con actividad gastrointestinal*.
- BOEING, T., MOTA, L. & BORDIGNON, L. 2016. Antiulcer mechanisms of *Vernonia condensata* Baker: A medicinal plant used in the treatment of gastritis and gastric ulcer.
- BOFFILL, M., MARCEL, R., MONTEAGUDO, E., SÁNCHEZ, C., DÍAZ, L. & IGLESIAS, N. 2008. Efecto gastroprotector del fruto de la musa ABB sobre las úlceras experimentales inducidas por indometacina. *Medicentro*, 12(1).
- BORRELLI, F. & IZZO, A. 2000. The plant Kingdom as a source of antiulcer remedies. .
- CALLOHUARI, R., SANDOVAL, M. & HUAMÁN, O. 2016. Efecto gastroprotector y capacidad antioxidante del extracto acuoso de las vainas de *Caesalpinia spinosa* 'tara', en animales de experimentación. 12-17.
- CAMACHO, J. E. 2014. Úlcera péptica. *Revista medica de costa rica y centroamerica*, 12-31.
- CANTO, M. 2013. *Evaluación de la toxicidad por dosis repetida del extracto acuoso de las hojas de Capraria biflora L.* Tesis, Universidad Central de las Villas, Cuba.
- CARLOTTO, J., DA SILVA, L. M., DARTORA, N., MARIA-FERREIRA, D., SABRY, D. D. A., ARQUIMEDES FILHO, P., DE PAULA WERNER, M. F., SASSAKI, G. L., GORIN, P. A. & IACOMINI, M. 2015. Identification of a dicaffeoylquinic acid isomer from *Arctium lappa* with a potent anti-ulcer activity. *Talanta*, 135, 50-57.
- CARRASCO, C. 2014. *Efecto antioxidnte sobre un modelo experimental de pancreatitis aguda inducida por ceruleína en rata*. Tesis Doctoral, Universidad de Extremadura.

Referencias Bibliográficas

- CASTILLO, Y. & RIVERÓN, G. 2014. Superóxido dismutasa citosólica y enfermedades genéticas., 19-31.
- CATHRINA, D. 2015. *Evaluación del potencial genotóxico del extracto acuoso de las hojas de Capraria biflora L.* Tesis de Diploma, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba.
- CECMED 2015. Centro para el control estatal de medicamentos, equipos y dispositivos médicos. Ministerio de salud pública de Cuba., 1-9.
- CONDORI, M. & TORRES, L. 2013. Efecto antiulceroso de los extractos del phoradendron crassifolium (sueda consueda) sobre la úlcera gástrica inducida en ratas *Revista Científica "Investigación Andina"*.
- CORONEL, E. 2016. *Efecto regenerador del extracto acuoso de semilla de Linum usitatissimum (Linaza) sobre la mucosa gástrica con úlcera inducida por etanol en ratas.* Tesis de Grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- COTA, A. I. 2014. *Actividad de las enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, en el espermatozoide y líquido seminal de conejo nueva zelanda y su relación con el sobrepeso.* Tesis de Grado, Universidad Autónoma Metropolitana.
- CYTED 1995. *Manual de técnicas de investigación. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos en Plantas de la Región. Subprograma X. Química Fina Farmacéutica. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.*
- CYTED 2002. *Métodos de evaluación de la actividad farmacológica de plantas medicinales. Programa iberoamericano de ciencia y tecnología para desenvolvimiento.*
- CHIRRI, W. H. 2013. *Estudio comparativo de la acción gastroprotectora del Plantago major y el omeprazol sobre la gastritis inducida por la administración de ketorolaco en dosis usuales en la terapia analgésica-antiinflamatoria estomatológica.* Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- D'ARCY 1979. Flora of Panama. Annals of the Missouri Botanical Garden; 66: 209-210.
- DEL VALLE, J. 2008. Úlcera péptica y trastornos relacionados. In: FAUCCI, A. (ed.) *Principios de Medicina Interna-Harrison 17 Edición.*
- DELGADO, R., FLORES, D. & VILLALOBOS, E. 2015. Efecto del Capsicum annum L (pucunucho, ají mono) en úlcera gástrica experimental inducida en ratas. *Rev. gastroenterol. Perú.*
- DJAHANGUIRI, B. 1968. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 4, 265-267.
- DUEÑAS, R. 2000. El sistema Nacional de Bioseguridad. Identificación de prioridades y necesidades. La Habana. In: BIOLÓGICA, C. N. D. S. (ed.).
- ESCORCIA, C. J. 2014. Protocolo manejo de enfermedad ácido péptica. 2-14.
- ESPLUGUES, L. & BARRACHINA, M. 2014. Mediadores celulares II. Eicosanoides, óxido nítrico y factor activador de plaquetas. In: FLÓREZ (ed.).
- FERNÁNDEZ, J. C. 2014. Incidencia actual de la gastritis: una breve revisión. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 45, 10-17.
- FERRER, I., PÉREZ, J. & HERRERÍAS, J. 2010. Guía de seguimiento farmacoterapéutico sobre úlcera péptica. *Espai Gráfico Anagráfic*, 9-21.
- FERRER, J. 2007. *Prescripción de antiulcerosos en Granada en el período 2000-2005 y efecto de la autorización de especialidades farmacéuticas genéricas, de los precios de referencia y de los precios máximos en los medicamentos.* Tesis, Universidad de Granada.
- GAIBOR, D. 2013. *Determinación de la actividad gastroprotectora de Savia de Sande (Brosimum utile) en ratas (Rattus norvegicus) con lesiones gástricas inducidas.* Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

Referencias Bibliográficas

- GARCÍA, M. 2016. *Monografía de la semilla de cardamomo. Control de calidad*. Tesis de Grado, Universidad de Sevilla.
- GARCÍA, S. 2015. *Revisión bibliográfica de la actualización del tratamiento farmacoterapéutico de la úlcera péptica*. Tesis de Grado, Universidad Complutense.
- GEGE-ADEBAYO, G., IGBOKWE, V. U. & SHAFE, M. O. 2013. Anti-ulcer effect of ocimum gratissimum on indomethacin induced ulcer and percentage of superoxide dismutase on wistar rats. *J Med Medical Sci*, 4, 8-12.
- GONCALVES DE LIMA, O., D'ALBUQUERQUE, O., LOUREIRO, P., CARMONA, C. & BERNARD, B. 1954. Novas observacoes sobre a biblorina, antibiotico asolado da *Capraria biflora* L. *Revista Química Industrial*, 28-30.
- GONGALVES DE LIMA, O., MAGALHAES, N. & ALBUQUERQUE, M. 1958. Breve nota sobre a actividade antimicrobiana da biflorina purificada por particao Craig. *Revista do Instituto de Antibioticos*, 95-98.
- GONZÁLEZ, J., SÁNCHEZ, C. & TUÑÓN, M. 2007. Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. . 11-26.
- GUYTON, A. & HALL, J. E. 2016. *Tratado de Fisiología Médica 13 Edición*.
- HERTEL, A. C., LENZ, D., VALENTIM, B., SCHERER, R., UGGERE, T., BARCELLOS, H., ROMÃO, W., COSTA, T. M. & COUTINHO, D. 2016. Gastroprotective activity of the resin from *Virola oleifera*. *Pharmaceutical Biology*, 55, 472-480.
- HOLTMANN, G. & TALLEY, N. J. 2014. The stomach–brain axis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 28, 967-979.
- HURTADO, P. E. 2014. *Evaluación de la actividad gastro protectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de Juglans neotropica Diels "Nogal peruano"*. Tesis de Grado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- IDEKER, L. 1996. *Capraria Mexicana* (Scrophulariaceae) endangered addition to the United States flora.
- KARIMI, G., HOSSEINZADEH, H. & ETEHAD, N. 2004. Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of *Portulaca oleracea* L. extracts in mice. *Phytotherapy Research*, 18, 484-487.
- LEÓN, A. 1957. *Flora de Cuba. Contribuciones ocasionales del Museo de Historia Natural del Colegio La Salle. 2da. España: Masson*. .
- LEÓN, M. 2016. *Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de Plantago lanceolata (llantén menor) sobre la úlcera gástrica inducida en ratas*. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- LORENTE, M. 2003. *Estudio farmacognóstico de Euphorbia hirta L.* . Tesis, Universidad de Granada.
- MANJUSHA, VIPIN, K. & SURENDER, S. 2013. Gastroprotective Activity of Methanol Leaves Extract of *Barleria prionitis* Linn. on Ethanol and Indomethacin Induced Ulcer in Rats. 11-23.
- MARRASSINI, C., GOZALCZANY, S. & FERRARO, G. 2010. Actividad analgésica de dos especies de *Urtica* con usos etnomédicos en la República Argentina. *Dominguezia*, 26, 21-29.
- MARTEN, D., RAMÍREZ, M. C., RODRÍGUEZ, H., FERNÁNDEZ, J. & CABEZAS, E. P. 2013. Impacto de la triple terapia aplicada a pacientes con úlcera gastroduodenal. Hospital General Docente "Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso", Santiago de Cuba, Cuba.
- MARTIN, J., DAILEY, M. & SUGARMAN, E. 1987. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 255, 329-336.
- MARTÍNEZ, M., JIMÉNEZ, J., CRUZ, R., JUÁREZ, E., GARCÍA, R., CERVANTES, A. & MEJÍA, R. 2002. Los géneros de la familia Euphorbiaceae en México. 108-122.
- MATOS, F. L. 1994. *Farmacias vivas. Editorial UFC, Fortaleza CE. Pág. 210*.

- MENA, Y. 2015. *Evaluación farmacognóstica, toxicológica y gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de Cnidocolus chayamansa Mc. Vaugh.* Tesis de Maestría, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba.
- MINSAL 2013. Tratamiento de erradicación de *Helicobacter pylori* e el paciente con úlcera péptica.
- MITCHELL, S. & AHMAD, M. A. 2006. Review of Medicinal Plant Research at the University of the West Indies, Jamaica, 1948–2001. *West Indian Med*, 55 (4), pp. 243-68.
- MIZUI, T. & DOTEUCHI, M. 1983. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 33, 939-945.
- MORAIS, N., NOGUEIRA, C., LÓPEZ, M. & VASCONSELOS, N. 1995. *Inorganic analytical study of medicinal plants.*
- MOTA, L., BOEING, T., BORDIGNON, L., JUDAH, B., BISPO, V. M., CONRADO, A., NIERO, R., CECHINEL, V., SANTIN, J. R. & FALONI, S. 2015. Evidence of gastric ulcer healing activity of *Maytenus robusta* Reissek: in vitro and in vivo studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 175, 75-85.
- MYHRSTAD, M. C., CARLSEN, H., NORDSTRÖM, O., BLOMHOFF, R. & MOSKAUG, J. Ø. 2002. Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the γ -glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. *Free Radical Biology and Medicine*, 32, 386-393.
- OECD 2014. Guideline for the testing of chemical. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. 10-22.
- PÉREZ, R., MÁRMOL, S. & GONZÁLEZ, P. 2004. Alteraciones del tracto digestivo superior e infección por *Helicobacter pylori* en 23 pacientes receptores de trasplante renal Instituto Nacional de Nefrología. *Revista Cubana Médica*.
- PINTO, J. & BUSTAMANTE, Z. 2008. Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (Plantago major). 40-41.
- PUERTA, L. & LEÓN, M. 2009. Uso de plantas medicinales en la comunidad de Higuerón del estado Yaracuy. Investigación participativa. *INIA Divulga*, 11-31.
- PULIDO, S. Y. 2014. *Evaluación de la actividad enzimática de superóxido dismutasa Cu/Zn en frijol (Phaseolus vulgaris L.) bajo diferentes condiciones de déficit hídrico.* Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Colombia.
- QUINTANA, K. E. 2012. *Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de achillea (Achillea millefolium L) y guaviduca (Piper carpunya Ruiz & Pav.) en ratas (Rattus norvegicus) con lesiones gástricas inducidas.* Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- RIERA, M. 2015. Superóxido Dismutasa: un candidato terapéutico para el estrés oxidativo. 12-18.
- RODRIGO, B., MIKULIS, B. & DA SILVA, A. 2016. Anti-ulcer mechanisms of polyphenols extract of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns (Euphorbiaceae).
- ROIG, J. 1988. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba-La Habana. *Cuba. Ed. Científico-Técnica*, 2, 3-5.
- SALAZAR, G. C. 2013. *Análisis de patrones alimentarios, hábitos de consumo y estilos de vida en pacientes diagnosticados gastritis crónica atrófica en el Hospital General Enrique Garcés.* Tesis de Grado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- SAN MIGUEL, P. 2000. Fisiopatología del daño mucoso por AINEs. III^o Simposio Internacional de Patología Gastroduodenal
- SÁNCHEZ, M., CRUZ, L. & CUPIDO, G. 2014. Gastroprotective activity of caryophyllene oxide: the role of nitricoxide, prostaglandins and sulfhydryls. 4, 1-5.
- SANTANA, S. 2016. Úlcera Péptica. Tratamiento. *Bibliomed*.

- SATURNINO, E., CECHINEL, V., NIEROB, R., KURZ, B., OLAITAN, S. & TABAJARA, D. 2011. Pharmacological mechanisms underlying the anti-ulcer activity of methanol extract and canthin-6-one of *Simaba ferruginea* A. St-Hil. in animal models. *Journal of ethnopharmacology*, 134, 630-636.
- SCOPARO, C., BORATO, D., SOUZA, L., DARTORA, N., SILVA, L., MARIA, D., SASSAKI, G., GORIN, P., BAGGIO, C. & IACOMINI, M. 2014. Gastroprotective bio-guiding fractionation of hydro-alcoholic extracts from green-and black-teas (*Camellia sinensis*). *Food research international*, 64, 577-586.
- SISA, P. A. 2015. *Actividad gastroprotectora de los extractos metanólico, hexánico, y de acetato de etilo de Oreocallis grandiflora sobre ratones mediante el modelo de úlcera inducida por etanol/HCl*. Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- SOFIDIYA, M. O., AGUNBIADÉB, F. O., KOORBANALLYB, F. O., SOWEMIMO, A., SOESANA, D. & FAMILUSIA, T. 2014. Antiulcer activity of the ethanolic extract and ethyl acetate fraction of the leaves of *Markhamia tomentosa* in rats. 23-31.
- TADIĆ, V., JEREMIC, I., DOBRIC, S., ISAKOVIC, A., MARKOVIC, I., TRAJKOVIC, V., BOJOVIC, D. & ARSIC, I. 2012. Anti-inflammatory, gastroprotective, and cytotoxic effects of *Sideritis scardica* extracts. 18-26.
- TAE, K., JEONG, J. & YOUNG, C. 2013. Gastroprotective Effects of Grape Seed Proanthocyanidin Extracts against Nonsteroid Anti-Inflammatory Drug-Induced Gastric Injury in Rats. *Gut and Liver*, 7, 282-289.
- TAMIL JOTHI, E., VIMALA, G., VAMSI, C. & SUBA, V. 2013. Analgesic, anti-inflammatory and anti-ulcer activity of ethanol and ethyl acetate extracts of *Tecomaria capensis* leaves., 14-23.
- USOC 2015. Understanding Stomach and Oesophageal Cancers. Bell, Joanne
- VALIDO, A. 2011. *Evaluación preclínica de la actividad antiinflamatoria y gastroprotectora del extracto acuoso a partir de las hojas de Capraria biflora L.* Tesis de Maestría, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
- VASCONCELLOS, M., BEZERRA, D., FONSECA, A., PEREIRA, M., LEMOS, T. & PESSOA, O. 2007. Antitumor Activity of Biflorin, an o-Naphthoquinone Isolated from *Capraria biflora*. *Biol Pharm Bull.*, 15-35.
- VICET, M. 2009. *Contribución a la farmacología antiinflamatoria de la especie Capraria biflora, L.* Tesis Doctoral, Universidad de Ciencias Médicas de La Habana.
- VIVO, T., SÁNCHEZ, C., CACIK, F. & SEQUIN, C. 2012. Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). *Cienc. docencia tecnol.*, 45.

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de Calidad Genética e Higiénico Sanitaria

GC.CC.10.13 Dirección de Aseguramiento de la Calidad  **CENPALAB**
 Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio
 Folio: 0020 Grupo de Aseguramiento de la Calidad

CERTIFICADO DE CALIDAD DE ROEDORES SPF. Salud y Zootecnia

Especie	Banco Genético	Colonia Expansión	Colonia Producción	Línea	Lote	Total de cajas
Rata				Cenp:SD	11002017	11

Machos	Hembras	Total	Peso	Edad	Centro de destino	Fecha Expedición	Hora
110	-	110	150-300g	5-10 sem	F.C.H. Villa Clara	17/03/17	10:50

Dictamen Zootécnico e Inspección Clínica

Los animales en el momento de la expedición se encuentran clínicamente sanos, sus características morfológicas, fisiológicas y reproductivas se corresponden con la especificación de calidad de este producto. Proceden de una colonia con ambiente controlado y mantenidos en un sistema de producción intensivo aprobados para la línea, la alimentación se realiza con alimentos concentrados fórmula **ALYco**® EMO 1002 esterilizable a razón de 22.4 a 30 g diarios. Dicha producción se encuentra bajo las BPP y un Sistema de Gestión de la Calidad que garantiza el estado higiénico sanitario de los animales que se expiden.

Resultados de Bacteriología *

Entidad	Método	Pos.	Neg.	No Test.	Fecha	Entidad	Método	Pos.	Neg.	No Test.	Fecha
Salmonella sp.	Cult/ Serot		X		21/10/16	Streptococcus pneumoniae	Cult/ Serot		X		28/07/16
Streptobacillus moniliformis	Cultivo			X	-	Pasteurella pneumotropica.	Cult/ELISA		X		28/07/16
Streptococcus β hemolítico	Cult/ Serot		X		28/07/16	Clostridium piliformis	Insp. Clínica		X		08/02/16
Bordetella bronchiseptica	Cult/ ELISA		X		28/07/16	Leptospira sp.	ELISA/ Micg		X		29/06/16
Helicobacter sp	Cultivo		X		08/02/16	Mycoplasma arthritidis	Cult/ELISA		X		19/04/16
Corynebacterium kutscheri	Cult/ ELISA		X		21/10/16	Mycoplasma pulmonis	Cult/ELISA		X		19/04/16
Dermatofitos	Insp. Clínica/Cultivo		X		08/02/16						

Resultados de Parasitología *

Entidad	Método	Pos.	Neg.	No Test.	Fecha
Endoparásitos	DIR/ FLOT		X		19/10/16
Toxoplasma gondii	ELISA		X		16/09/16
Trichosomoides crassicauda	Sedimentación		X		03/02/16
Ectoparásitos	Insp. Clínica		X		19/10/16

Resultados de Patología *

Fecha: 19/10/16
 Examen macroscópico:
 No se observan lesiones macroscópicas compatibles con alteraciones patológicas.

Resultados de Virología * (Serología)

Entidad	Método	Pos.	Neg.	No Test.	Fecha	Entidad	Método	Pos.	Neg.	No Test.	Fecha
Virus Sialodacryadenitis/ Virus corona (SDA/RCV)	IFA		X		09/11/16	Coriomeningitis linfocitaria (LCM)	IFA		X		09/11/16
Virus Pneumonia (PVM)	IFA		X		09/11/16	Virus Sendai	ELISA/IFA		X		09/11/16
Virus Encefalomielitits Theiler (TMEV)	IFA		X		09/11/16	Reovirus Tipo 3 (REO 3)	IFA		X		09/11/16
Virus Toolan (H-1)	IFA		X		09/11/16	Virus Kilham (KRV)	IFA		X		09/11/16
						Virus Hantaan	IFA			X	-

* Según lo certificado por la Dirección de Aseguramiento de la Calidad del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, de acuerdo al cronograma de monitoreo de los roedores criados y mantenidos en sistemas protegidos y que consta en los expedientes de la línea archivados en la Dirección de Calidad. Documento de referencia "Recomendaciones del monitoreo microbiológico para Roedores mantenidos y criados en condiciones controladas".

Válido a partir de **ENERO/2017** hasta **MARZO/2017**

Este certificado es copia fiel de la original que se elabora a partir de la liberación de la línea para su comercialización.

Realizado por	Revisado por
Cargo: Especialista Liberación de Aseg. Calidad	Cargo: Distribuidor
Firma: 	Firma: 

Anexo 2. Certificado de Autorizo de Alimento Concentrado

FP-CA-0114		Dirección de Alimentación y Nutrición		VICENPALAB	
00000298		Grupo de Producción de Alimentos Concentrados		CENTRO NACIONAL PARA LA PRODUCCIÓN DE ANIMALES DE LABORATORIO	
CERTIFICADO DE AUTORIZO DE ALIMENTO CONCENTRADO					
Formula	Ciclo	Lote	Fecha de Producción	Presentación	
EAO 1004	I	0652017	10/02/2017	Pellets 15mm	
Especificaciones para su uso					
Dieta completa concentrada para el mantenimiento y reproducción de ratas y ratones de laboratorio. Todo propósito. Esterilizable. Conservar en lugar fresco y ventilado, protegido de la humedad y de vectores. Este alimento conserva sus propiedades nutritivas durante 60 días a partir de la fecha de fabricación.					
Componentes					
Maíz, Trigo, Harina de Soya, Harina de pescado, Azúcar, Metionina, Lisina, Fosfato monocalcico, Carbonato de calcio, Sal Común, Pre-Mezcla Minero-Vitamínica y Biotronic.					
Análisis calculado *					
Descripción	UM	Valor	Descripción	UM	Valor
Proteína bruta (Min.)	%	19.91	Calcio	%	1.06
Energía Metabolizable (Min.)	kcal/ g	2.83	Fósforo	%	0.78
Fibra bruta (Máx.)	%	3.76	Relación Calcio/ Fósforo	%	1.36
Grasa bruta (Min.)	%	2.35			
* Según análisis calculado por la Dirección de Alimentación - Nutrición del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio.			Realizado por:	Cargo	Firma
Recibirá el Certificado de Calidad en un periodo de 10 días posteriores a este documento a través de la Dirección de Comercialización.			Dirección de Producción		
			Revisado por:	Cargo	Firma
			Distribuidor		

Anexo 3. Procesamiento estadístico. Modelo de etanol absoluto.

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Grupo		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Cant Úlceras (1)	Agua Destilada	.153	8	.200*	.941	8	.626
	Omeprazol	.443	8	.000	.601	8	.000
	Dosis 50 mg/Kg	.280	8	.065	.805	8	.032
	Dosis 100 mg/Kg	.196	8	.200*	.962	8	.828
	Dosis 200 mg/Kg	.325	8	.013	.774	8	.015
Grado de Ulceración	Agua Destilada	.371	8	.002	.724	8	.004
	Omeprazol	.451	8	.000	.607	8	.000
	Dosis 50 mg/Kg	.170	8	.200*	.969	8	.893
	Dosis 100 mg/Kg	.221	8	.200*	.938	8	.592
	Dosis 200 mg/Kg	.228	8	.200*	.835	8	.067

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Kruskal Wallis Test

Test Statistics^{a,b}

		Cant Úlceras (1)	Grado de Ulceración
Chi-Square		24.740	29.808
Df		4	4
Asymp. Sig.		.000	.000
Monte Carlo Sig.	Sig.	.000 ^c	.000 ^c
	99% Confidence Interval		
	Lower Bound	.000	.000
	Upper Bound	.000	.000

a. Kruskal-Wallis Test

b. Grouping Variable: Grupo

c. Based on 10000 sampled tables with starting seed 1131884899.

Mann-Whitney Test

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Cant Úlceras (1) * Grupo	40	100.0%	0	0.0%	40	100.0%
Grado de Ulceración * Grupo	40	100.0%	0	0.0%	40	100.0%

Report

Mean

Grupo	Cant Úlceras (1)	Grado de Ulceración
Agua Destilada	5.13	7.50
Omeprazol	.38	.63
Dosis 50 mg/Kg	2.13	4.63
Dosis 100 mg/Kg	3.25	1.75
Dosis 200 mg/Kg	.88	.88
Total	2.35	3.08

Means

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Cant Úlceras (1) * Grupo	40	100.0%	0	0.0%	40	100.0%
Grado de Ulceración * Grupo	40	100.0%	0	0.0%	40	100.0%

Report

Std. Deviation

Grupo	Cant Úlceras (1)	Grado de Ulceración
Agua Destilada	1.808	.756
Omeprazol	.744	1.188
Dosis 50 mg/Kg	1.458	1.847
Dosis 100 mg/Kg	1.832	1.282
Dosis 200 mg/Kg	.991	.835
Total	2.202	2.912

Anexo 4. Procesamiento estadístico. Modelo de indmetacina (agudo y subagudo).

Kruskal-Wallis Test

Test Statistics^{a,b}

			Cant Úlceras (1)	Área Dañada(mm)(1)	Cant Úlceras (3)	Área Dañada(mm) (3)
Chi-Square			17.471	18.575	12.770	26.514
df			4	4	4	4
Asymp. Sig.			.002	.001	.012	.000
Monte Carlo Sig.			.001 ^c	.000 ^c	.009 ^c	.000 ^c
Sig.	99% Confidence Interval	Lower Bound	.000	.000	.007	.000
		Upper Bound	.001	.000	.012	.000

a. Kruskal-Wallis Test

b. Grouping Variable: Grupo

c. Based on 10000 sampled tables with starting seed 2000000.

Mann-Whitney Test

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Cant Úlceras (1) * Grupo	40	100.0%	0	0.0%	40	100.0%
Área Dañada(mm)(1) * Grupo	40	100.0%	0	0.0%	40	100.0%
Cant Úlceras (3) * Grupo	40	100.0%	0	0.0%	40	100.0%
Área Dañada(mm) (3) * Grupo	40	100.0%	0	0.0%	40	100.0%

Report

Mean

Grupo	Cant Úlceras (1)	Área Dañada(mm)(1)	Cant Úlceras (3)	Área Dañada(mm) (3)
Agua Destilada	3.88	6.8125	3.88	6.2500
Ranitidina	1.00	.8438	.50	.1250
Dosis 50 mg/Kg	7.63	2.0625	2.25	1.3125
Dosis 100 mg/Kg	4.38	1.3125	1.75	.8125
Dosis 200 mg/Kg	2.37	.9688	1.62	.4688
Total	3.85	2.4000	2.00	1.7938

Report

Std. Deviation

Grupo	Cant Úlceras (1)	Área Dañada(mm)(1)	Cant Úlceras (3)	Área Dañada(mm) (3)
Agua Destilada	3.563	5.19572	2.949	3.32738
Ranitidina	1.414	1.34256	.535	.13363
Dosis 50 mg/Kg	3.543	.87372	1.165	.79899
Dosis 100 mg/Kg	1.923	.62321	1.165	.47716
Dosis 200 mg/Kg	2.200	1.03887	2.066	.50775
Total	3.393	3.27813	2.025	2.72799