



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“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

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

KAROLINA ELIZABETH QUINTANA GUILLÉN

RIOBAMBA – ECUADOR

2012

DEDICATORIA

A Dios que nos concede lo que él sabe que es mejor para nuestras vidas.

A mis amados padres con amor, (Antonio e Isabel) fuentes de inspiración en mi vida, quienes con amor, confianza y paciencia me han apoyado incondicionalmente dándome ejemplos dignos de superación y éxito.

A mis queridos hermanos, (Vicente y Marcelo) por sus cuidados en este largo camino recorrido y por haber fomentado en mí el deseo de superación.

A toda mi familia que me ha brindado sus consejos y su compañía a lo largo de esta etapa en mi vida.

AGRADECIMIENTO

Mi gratitud esencialmente está dirigida a Dios por haberme dado la dicha de la vida y permitido llegar al final de la carrera.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por su acogida y los conocimientos impartidos a lo largo de mi vida estudiantil.

A la Escuela de Bioquímica y Farmacia por ser esa fuente del saber enseñándome que los conocimientos científicos deben ir de la mano con los valores humanos.

Al BQF. Fausto Contero y al Dr. Oswaldo Duque por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente Tesis quienes con su contribución hicieron posible la culminación de este presente trabajo investigativo.

Al BQF. German Toapanta por su desinteresada asesoría y consejos, los cuales ayudaron en el desarrollo de mi tesis, al Dr. Xavier Robles y al BQF. Diego Vinuesa por su valiosa colaboración.

A mis padres que fueron mi inspiración y me brindaron su apoyo incondicional necesario para la culminación de una más de mis metas.

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**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**”, de responsabilidad de la señorita egresada Karolina Elizabeth Quintana Guillén, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Yolanda Díaz

DECANA FAC. DE CIENCIAS

Dr. Luis Guevara

DIRECTOR DE ESCUELA

BQF. Fausto Contero

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Oswaldo Duque

MIEMBRO DE TRIBUNAL

Tc. Carlos Rodríguez

DIRECTOR CENTRO

DE DOCUMENTACIÓN

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, Karolina Elizabeth Quintana Guillén, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

KAROLINA ELIZABETH QUINTANA GUILLÉN

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AT	Actividad Terapéutica
C	Contenido de cenizas en porcentaje de masa
D ₂₅	Densidad relativa a 25°C
H	Humedad
MP	Materia Prima
NMP	Número más probable
OMS	Organización Mundial de Salud
pH	Potencial de Hidrógeno
Ss	Sustancias solubles en base deshidratada
St	Sólidos totales
T	Temperatura
TLC	Cromatografía en capa fina
UFC	Unidad formadora de colonias
η	Índice de Refracción

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPITULO I	1
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1 GASTRITIS	1
1.1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.2 DEFINICIONES GENERALES	2
1.1.2.1 Estómago	2
1.1.2.2 Mucosa Gástrica	3
1.1.2.3 Úlcera Gástrica	4
1.1.2.4 Secreción Gástrica	4
1.1.2.5 Acidez estomacal.....	5
1.1.2.5 Dolor abdominal.....	5
1.1.2.6 Flatulencia	5

1.1.3	DEFINICIÓN	6
1.1.4	CLASIFICACIÓN.....	6
1.1.4.1	Gastritis tipo A (gastritis autoinmune)	8
1.1.4.2	Gastritis tipo B (gastritis asociadas a <i>Helicobacter pylori</i>).....	8
1.1.4.2	Gastritis tipo C.....	8
1.1.4.3	Gastritis Aguda.....	9
1.	GASTRITIS AGUDAS INFECCIOSAS	10
2.	GASTROPATÍA AGUDA EROSIVO-HEMORRÁGICA	10
1.1.4.4	Gastritis Crónica.....	11
1.	GASTRITIS CRÓNICAS NO ATRÓFICA.....	11
1.1	GASTRITIS CRÓNICA SUPERFICIAL	11
1.2	GASTRITIS ANTRAL DIFUSA	11
2.	GASTRITIS CRÓNICA ATRÓFICA.....	12
1.1.5	CAUSAS, INCIDENCIA Y FACTORES DE RIESGO	12
1.1.6	SIGNOS Y SINTOMAS	14
1.1.7	DIAGNÓSTICO.....	14
1.1.8	COMPLICACIONES	15
1.1.9	TRATAMIENTO	16
1.1.10	ALIMENTOS ACONSEJADOS.....	16
1.1.11	ALIMENTOS PERMITIDOS	17
1.2	GASTROPROTECTOR.....	17
1.2.1	METABOLITOS RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA.....	18

1.2.1.1	Quercetina.....	18
1.2.1.2	Rutina	19
1.3	OMEPRAZOL.....	19
1.3.1	EFFECTOS SECUNDARIOS Y TOXICIDAD.....	20
1.4	ACHILLEA (<i>Achillea millefolium L.</i>).....	21
1.4.1	USOS TRADICIONALES (HISTORIA DE LA ACHILLEA).....	21
1.4.2	NOMBRE CIENTÍFICO	23
1.4.3	NOMBRES COMUNES	23
1.4.4	HÁBITAT Y CARACTERÍSTICAS	24
1.4.5	RECOLECCIÓN	24
1.4.6	COMPOSICIÓN QUÍMICA	25
1.4.7	ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA	25
1.4.8	PROPIEDADES MEDICIANLES	26
1.4.9	PRECAUCIONES Y TOXICIDAD.....	27
1.4.10	EFFECTO GASTROPROTECTOR DE LA ACHILLEA.....	27
1.5	GUAVIDUCA (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>).....	28
1.5.1	USOS TRADICIONALES (HISTORIA DE LA GUAVIDUCA).....	28
1.5.2	NOMBRE CIENTÍFICO.....	29
1.5.3	NOMBRES COMUNES	29
1.5.4	HÁBITAD Y CARACTERÍSTICAS.....	29
1.5.5	RECOLECCIÓN	30
1.5.6	COMPOSICIÓN QUÍMICA	30
1.5.7	PROPIEDADES MEDICIANLES	30

1.5.8	EFECTO GASTROPROTECTOR DE LA GUAVIDUCA.....	30
1.6	PROCESO DE OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO	31
1.6.1	OBTENCIÓN DE LA MUESTRA	31
1.6.2	CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA	31
1.6.3	PERCOLACIÓN	32
1.6.4	CONTROL DE CALIDAD	32
	CAPÍTULO II.....	33
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	33
2.1	LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.....	33
2.2	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	33
2.2.1	MATERIAL BIOLÓGICO	33
2.2.1.1	Clasificación	33
2.2.1.2	Descripción.....	34
2.2.1.3	Condiciones	34
2.2.2	MATERIA PRIMA	35
2.2.3	EQUIPOS	35
2.2.4	MATERIALES DE LABORATORIO Y OTROS.....	35
2.2.4	REACTIVOS.....	37
2.3	MÉTODOS Y TÉCNICAS	38
2.3.1	CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA	38
2.3.1.1	DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.....	38
2.3.1.2	DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES.....	39
2.3.1.3	DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	40

2.3.1.4 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO	40
2.3.1.5 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES	41
2.3.1.6 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES	42
2.3.1.7 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES	42
2.3.2 ELABORACIÓN DE EXTRACTOS	43
2.3.2.1 EXTRACTO FLUIDO	43
2.3.3 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS	44
2.3.3.1 DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS	44
Determinación del Color	44
Determinación del Olor	44
Determinación del Sabor	44
Determinación del Aspecto	44
2.3.3.2 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA	44
2.3.3.3 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN	45
2.3.3.4 DETERMINACIÓN DEL PH	46
2.3.3.5 DETERMINACIÓN DE LOS SÓLIDOS TOTALES	46
2.3.4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO	46
2.3.4.1 REACCIONES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES	47
Ensayo de Dragendorff	47
Ensayo de Wagner	47
2.3.4.2 REACCIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS LACTÓNICOS	47
Ensayo de Baljet	47

2.3.4.3 REACCIÓN PARA IDENTIFICACIÓN DE QUINONAS.....	47
Ensayo de Borntrager	48
2.3.4.4 REACCIÓN PARA IDENTIFICACIÓN DE TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	48
Ensayo de Liebermann – Buchard.....	48
2.3.4.5 REACCIÓN DE IDENTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES	48
Ensayo de Shinoda	48
2.3.4.6 REACCIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CATEQUINAS.....	49
Ensayo de Catequinas	49
2.3.4.7 REACCIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE RESINAS	49
Ensayo de Resinas	49
2.3.4.8 REACCIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES	49
Ensayo de Fehling	49
2.3.4.9 REACCIÓN DE IDENTIFICACIÓN DE SAPONINAS	49
Ensayo de Espuma.....	50
2.3.4.10 REACCIÓN DE IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y/O TANINOS.....	50
Ensayo de Cloruro férrico.....	50
2.3.4.11 REACCIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS GRASOS ..	50
Ensayo de Sudan.....	51
2.3.4.12 REACCIÓN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ESTRUCTURAS C ₆ -C ₃ -C ₆ DEL GRUPO DE LOS FLAVONOIDES	51
Ensayo de Antocianidinas	51
2.3.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	51

2.3.5.1 MÉTODO DE CONTEO DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES EN PLACA	51
2.3.5.2 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES.....	52
A)PRUEBA PRESUNTIVA	52
B)PRUEBA CONFIRMATORIA	52
2.3.6 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS ACHILLEA Y GUAVIDUCA EN RATAS	53
2.3.6.1 PROTOCOLO EXPERIMENTAL	53
2.3.6.2 ANÁLISIS MACROSCÓPICO	55
2.3.6.3 ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO.....	55
2.3.6.4 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	55
2.3.7 ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA	56
CAPÍTULO III	57
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA ACHILLEA (<i>Achillea millefolium</i> L.) y GUAVIDUCA (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>)	57
3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD	57
3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS.....	58
3.1.3 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES.....	58
3.1.4 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA....	59
3.1.5 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES	59

3.2	CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS.....	61
3.2.1	DESCRIPCION ORGANOLÉPTICA	61
3.2.2	DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS.....	61
3.2.3	TAMIZAJE FITOQUÍMICO	62
3.2.4	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOÓ.....	65
3.3	ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA (<i>Achillea millefolium L.</i>) y GUAVIDUCA (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>).	65
3.4	ESTUDIO DE LA TOXICIDAD AGUDA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA (<i>Achillea millefolium L.</i>) y GUAVIDUCA (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>).	67
	CAPÍTULO IV	744
4.	CONCLUSIONES.....	744
	CAPÍTULO V	766
5.	RECOMENDACIONES	766
	CAPÍTULO VI	777
6.	RESUMEN	777
	CAPÍTULO VII	80
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	80
	CAPÍTULO VIII	80
8.	ANEXOS.....	89

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N°1:	Humedad de las plantas Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>) utilizada como materia prima.....	57
CUADRO N°2:	Cenizas de la de las plantas Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>) utilizada como materia prima.	58
CUADRO N°3:	Sustancias solubles presentes en las plantas Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>) utilizada como materia prima.	59
CUADRO N°4:	Rf de una muestra de Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>) cromatografía en capa fina.	59
CUADRO N°5:	Rf de una muestra de Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) cromatografía en capa fina.	60
CUADRO N°6:	Rf de una muestra de Quercetina como referencia para la presencia de flavonoides.....	60
CUADRO N°7:	Concentración de flavonoides expresado en % de Quercetina de las plantas Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>) utilizada como materia prima.	61
CUADRO N°8:	Descripción organoléptica de los extractos fluidos Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>).....	61
CUADRO N°9:	Parámetros físicos de los extractos fluidos Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>).....	62
CUADRO N°10:	Tamizaje Fitoquímico los extractos fluidos Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>).....	63

CUADRO N°11:	Número de microorganismos aerobios mesófilos y coliformes totales en los extractos fluidos de Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>).....	65
CUADRO N°12:	Protocolo farmacológico de evaluación de actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>).....	66
CUADRO N°13:	Control de peso inicial y final de los animales de experimentación en el proceso de evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea y Guaviduca.....	67
CUADRO N°14:	Grado de ulceración de los estómagos de los animales de experimentación en el proceso de evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea y Guaviduca según escala Marhuenda.....	67
CUADRO N°15:	Porcentaje de inhibición de úlceras gástricas en los animales de experimentación después de seis días de tratamiento.....	68
CUADRO N°16:	Protocolo histopatológico de la evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>) en ratas.....	69
CUADRO N°17:	Análisis de Varianza de los porcentajes de inhibición de úlceras gástricas según los tratamientos administrados.....	70
CUADRO N°18:	Análisis de varianza del control de peso inicial y final de los animales de experimentación en el proceso de evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea y Guaviduca.....	71

CUADRO N°19:	Método Tukey HSD al 95.00% del control de peso inicial y final de los animales de experimentación en el proceso de evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea y Guaviduca	72
CUADRO N°20:	Protocolo farmacológico del estudio de la toxicidad aguda de los extractos de Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>) en ratones	72
CUADRO N°21:	Protocolo histopatológico de la toxicidad aguda de los extractos de Achillea (<i>Achillea millefolium L.</i>) y Guaviduca (<i>Piper carpunya Ruiz & Pav.</i>) en ratones	73

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1:	Clasificación de la gastritis crónica según el sistema Sydney actualizado. Factores etiológicos y sinónimos.....	7
TABLA N°2:	Características más relevantes de las gastritis crónicas según la clasificación del sistema Sydney.	12
TABLA N°3:	Protocolo farmacológico de evaluación de actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea y Guaviduca en ratas.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1: Anatomías del estómago	2
FIGURA N°2: Mucosa del estómago	3
FIGURA N°3: Gastritis aguda (visión gastroscópica).....	9
FIGURA N°4: <i>Achillea millefolium L</i>	23
FIGURA N°5: <i>Piper carpunya</i>	29

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N°1: Establecimiento de la región crítica para el rechazo o la aceptación de la hipótesis estadística.....	70
---	----

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N°1:	Determinación de humedad de las drogas crudas Achillea y Guaviduca utilizadas como materia prima	93
FOTOGRAFÍA N°2:	Determinación de cenizas de la de las drogas crudas Achillea y Guaviduca utilizadas como materia prima	93
FOTOGRAFÍA N°3:	Determinación flavonoides por cromatografía en capa fina...	94
FOTOGRAFÍA N°4:	Placas cromatográficas extracto de Achillea, Guaviduca y solución de Quercetina.	94
FOTOGRAFÍA N°5:	Proceso de reflujo y filtrado.....	95
FOTOGRAFÍA N°6:	Molienda de materia prima, proceso de percolación y concentración de extractos de Achillea y Guaviduca.....	95
FOTOGRAFÍA N°7:	Determinación de los parámetros físicos de los extractos fluidos Achillea y Guaviduca	96
FOTOGRAFÍA N°8:	Tamizaje Fitoquímico de los extractos fluidos Achillea y Guaviduca.....	96
FOTOGRAFÍA N°9:	Determinación de Aerobios mesófilos y Coliformes totales en extractos Achillea y Guaviduca.....	97
FOTOGRAFÍA N°10:	Aclimatación de animales de experimentación.....	97
FOTOGRAFÍA N°11:	Preparación de materiales a utilizar para la administración por vía oral.....	98
FOTOGRAFÍA N°12:	Período de anestesia de ratas.....	98
FOTOGRAFÍA N°13:	Manipulación de ratas previa la administración por vía oral...	98
FOTOGRAFÍA N°14:	Administración por vía oral del agente necrosante.....	99
FOTOGRAFÍA N°15:	Administración por vía oral de los extractos de Achillea y Guaviduca	99
FOTOGRAFÍA N°16:	Administración por vía oral de los Omeprazol	100
FOTOGRAFÍA N°17:	Preparación de materiales a utilizar para la disección de animales de experimentación	100

FOTOGRAFÍA N°18: Disección y extracción de estómagos de los animales de experimentación luego de 6 días de tratamiento	101
FOTOGRAFÍA N°19: Preparación de estómagos para análisis macroscópico	101
FOTOGRAFÍA N°20: Análisis macroscópico estómago sano	101
FOTOGRAFÍA N°21: Análisis macroscópico estómago ulcerado sin tratamiento	102
FOTOGRAFÍA N°22: Análisis macroscópico estómago con tratamiento Omeprazol	102
FOTOGRAFÍA N°23: Análisis macroscópico estómago con tratamiento extracto de Achillea	102
FOTOGRAFÍA N°24: Análisis macroscópico estómago con tratamiento extracto de Guaviduca	103
FOTOGRAFÍA N°25: Análisis macroscópico estómago con tratamiento extracto de Achillea + Guaviduca	103
FOTOGRAFÍA N°26: Preparación de muestras para análisis microscópico	103
FOTOGRAFÍA N°27: Placas con cortes histológicos para análisis microscópico estudio de gastroprotección	104
FOTOGRAFÍA N°28: Placas con cortes histológicos para análisis microscópico estudio de toxicidad aguda	104
FOTOGRAFÍA N°29: Sacrificio del animal de experimentación por dislocación cervical	105
FOTOGRAFÍA N°30: Disección de ratones estudio de toxicidad aguda	105
FOTOGRAFÍA N°31: Extracción de hígados para estudio histopatológico	106
FOTOGRAFÍA N°32: Extracción de riñones para estudio histopatológico	106

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N°1: Escala Marhuenda.....	89
ANEXO N°2: Protocolo histopatológico de la evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea y Guaviduca en ratas con lesiones gástricas inducidas	90
ANEXO N°3: Protocolo histopatológico de la toxicidad aguda de los extractos de Achillea y Guaviduca en ratones	91
ANEXO N°4: Resultados del Análisis Microbiológico	92
ANEXO N°5: Fotografías	93

INTRODUCCIÓN

Las plantas con atributos medicinales fueron las primeras medicinas utilizadas para la cura de varias enfermedades, esto hasta la actualidad no ha cambiado considerablemente; ya que las plantas medicinales todavía constituyen un importante campo de la investigación farmacológica, encontrando varios de sus componentes que servirán en el tratamiento de determinadas patologías ya sea en forma de medicamento vegetal o de materia prima para la industria farmacéutica.

Muchas plantas son utilizadas con fines terapéuticos conocidos según conocimientos ancestrales, pero no podemos limitarnos a la sabiduría popular ya que la validación científica de ciertas propiedades de las plantas medicinales es una necesidad.

El Ecuador por ser un país multicultural y poseer una elevada biodiversidad, se convierte en un paraíso para los intereses de la industria farmacéutica, puesto que su mayor riqueza está reflejada en el saber ancestral relacionado al mundo vegetal. (18)

La gastritis 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. La gastritis es una dolencia muy común entre el 70% de la población de Latinoamérica. (35) (46)

Achillea millefolium L. con su nombre común Achillea es utilizada en todo el mundo para el tratamiento de trastornos gastrointestinales. Diversas propiedades medicinales se han informado de sus componentes incluyendo las propiedades fungistáticas, antibacterianas

y antioxidante para el aceite esencial. Varios flavonoides, como la apigenina, quercetina y la rutina, han demostrado que tiene una acción protectora espasmolítica, anti-inflamatoria y gástrica. (25)

Estudios realizados en la Universidad Federal de Paraná indican que las propiedades antioxidantes que posee la *Achillea* pueden contribuir a la actividad gastroprotectora y; que además inhibe la actividad de MPO (mieloperoxidasa) en úlcera gástrica inducida con ácido acético promoviendo la regeneración significativa de la mucosa gástrica después de la inducción. (29)

Piper Carpunya Ruiz & Pav., con su nombre común Guaviduca es ampliamente utilizado en la medicina popular en los países tropicales y subtropicales de América del Sur como un remedio antiinflamatorio, antiulceroso, antidiarreico y antiparasitario, así como una enfermedad para las irritaciones de la piel. (9)

Estudios fitoquímicos en fracciones realizados en la Universidad de Sevilla sugieren que los flavonoides aislados del extracto etanólico (vitexina, isovitexin, rhamnopyranosylvitexin y isoembigenin) pueden contribuir a la actividad anti-MPO, así como a su actividad anti-*Helicobacter pylori*. Estos flavonoides también pueden ser responsables de la inhibición importante de H (+), K (+)-ATPasa. También los fitosteroles y fitol obtenidos a partir del extracto etanólico, podrían estar involucrados en estas actividades gastroprotectoras. (28)

Debido a la diversidad de plantas medicinales existentes en el Ecuador que no han sido estudiadas a profundidad es necesario realizar la evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de *Achillea* (*Achillea millefolium L.*) y Guaviduca (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) ya que se desconoce de estudios realizados con las especies de nuestro país. Como sabemos el tipo de suelo, clima, temperatura, etc. pueden provocar una variación en los componentes químicos de cada especie.

Evaluando la actividad gastroprotectora que poseen los extractos de Achillea (*Achillea millefolium* L.) y Guaviduca (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) se logrará desarrollar la importancia que estos tienen en el tratamiento de enfermedades como la gastritis, así también esto puede contribuir al desarrollo de nuevos preparados farmacéuticos o fitomedicamentos que sean destinados para mejorar problemas relacionados con esta enfermedad, más económicos, accesibles a la población y haciendo uso de recursos nacionales sin dependencia extranjera.

En el presente trabajo, se analizaron los extractos obtenidos de Achillea (*Achillea millefolium* L.) y Guaviduca (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*), para evaluar su actividad gastroprotectora, con el propósito de validar el uso popular de estas especies.

El objetivo general que se planteó antes de iniciar este trabajo fue: comprobar y evaluar la actividad gastroprotectora de los extractos de Guaviduca y Achillea en ratas con lesiones gástricas inducidas con etanol.

Se planteó la hipótesis: los extractos de Achillea (*Achillea millefolium* L.) y Guaviduca (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) son eficaces en la gastroprotección de lesiones gástricas inducidas.

El presente trabajo de investigación fue realizado en el Laboratorio de Fitoquímica, Laboratorio de Farmacología, Laboratorio de Microbiología y en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, se utilizaron extractos fluidos de Achillea y Guaviduca obtenidos mediante el método de percolación, administrándose a ratas de experimentación con lesiones gástricas inducidas con la administración oral de etanol, gracias a los exámenes histopatológicos se comprobó el efecto gastroprotector con la regeneración de la mucosa gástrica.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 GASTRITIS

1.1.1 INTRODUCCIÓN

Somos lo que comemos, frase que engloba una profundidad absoluta, ya que nos quiere indicar que la vida va a depender de lo que nos alimentemos, tanto en cantidad como en calidad. (14)

En el transcurso de los últimos años, hemos encontrado un intenso auge en todo lo que se refiere a alimentación pero, sobre todo, cuando se habla de lo “natural”; esto no es solo en unas partes sino en todo el mundo, porque es una nueva y vieja tradición de cualquier cultura, de cualquier país. (14)

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. La gastritis puede ser causada por una infección bacteriana o viral, enfermedades autoinmunes o por el reflujo de bilis hacia el estómago (reflujo biliar). La gastritis también puede ser causada por irritación. (23) (41)

La Gastritis 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. (35)

Los malos hábitos alimenticios, el estrés y la bacteria llamada *Helicobacter 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. (35)

1.1.2 DEFINICIONES GENERALES

1.1.2.1 Estómago

Es un órgano que se encuentra entre el esófago y el intestino delgado. En él comienza la digestión de las proteínas. El estómago cumple con tres funciones. Almacena la comida deglutida. Mezcla la comida con los ácidos gástricos. Luego envía la mezcla hacia el intestino delgado. Es un reservorio en forma de J del tracto digestivo 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. (8) (32)

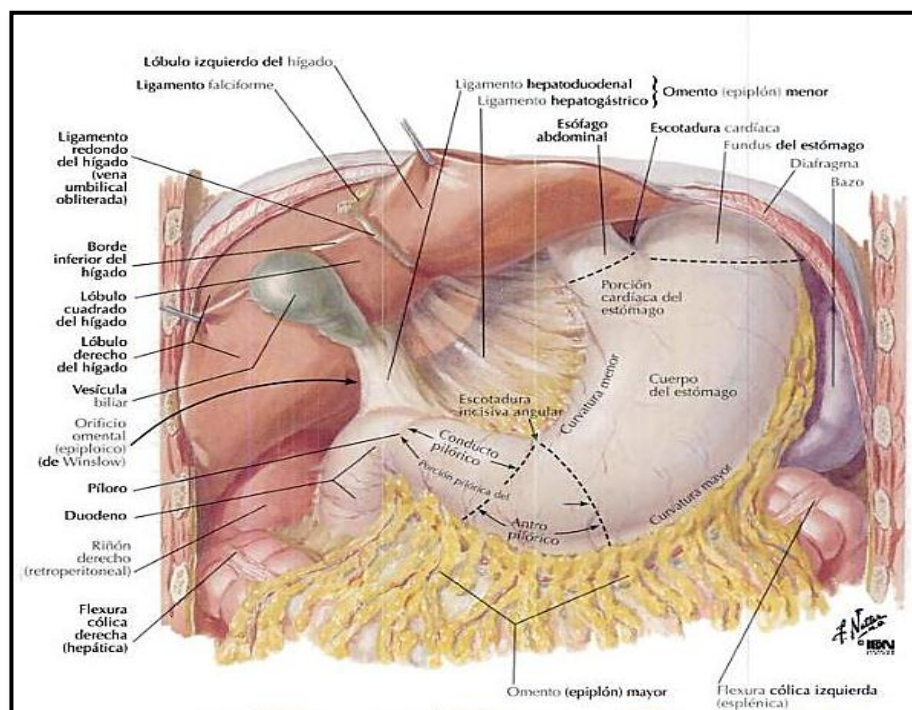


FIGURA No. 1 ANATOMÍA DEL ESTÓMAGO
FUENTE: BOOKS.GOOGLE.COM.EC NETTER GASTROENTEROLOGÍA (2006)

1.1.2.2 Mucosa Gástrica

La membrana mucosa o epitelio gástrico de color gris rojizo del estómago, comprende una capa única de células columnares en la unión gastroesofágica está nítidamente delimitado de la mucosa esofágica, estratificada y más gruesa. Las células epiteliales son de tipo mucoide y contienen gránulos de mucígeno en sus porciones externas y su núcleo ovoide en su base. (8)

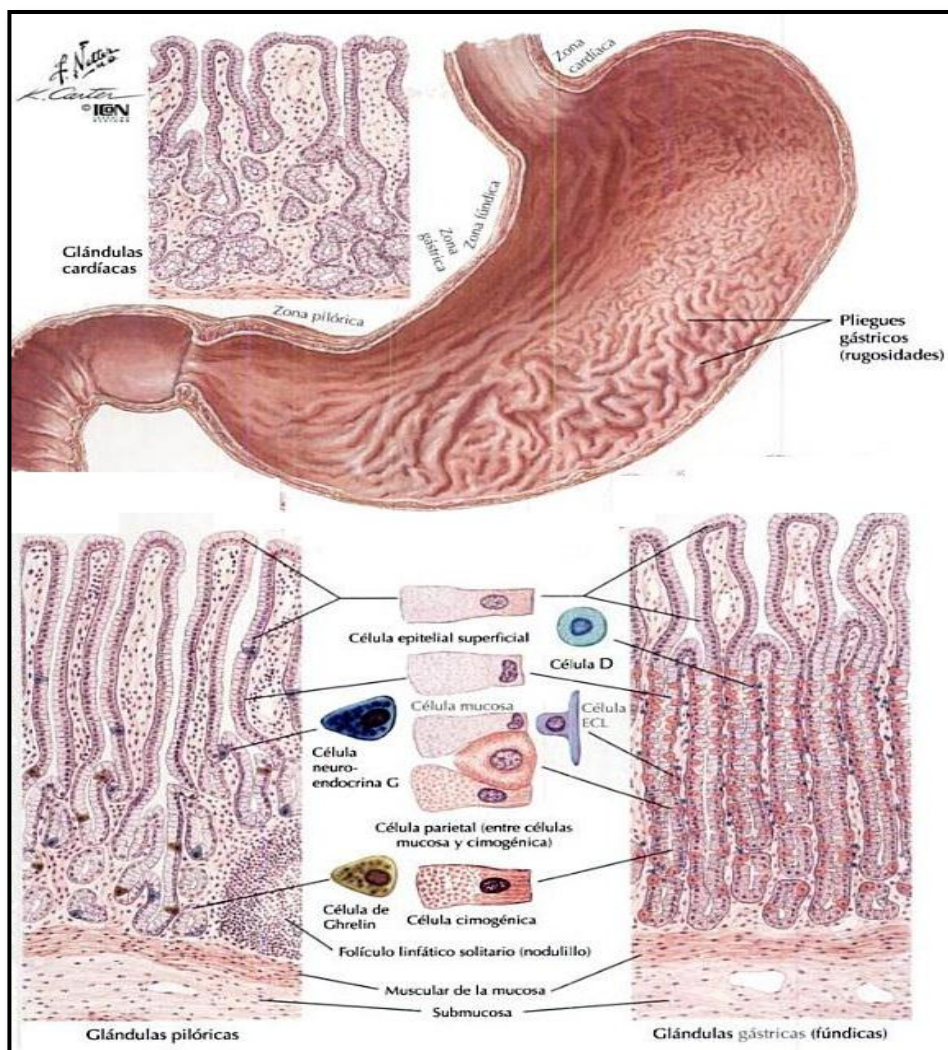


FIGURA No. 2 MUCOSA DEL ESTÓMAGO
FUENTE: BOOKS.GOOGLE.COM.EC NETTER GASTROENTEROLOGÍA (2006)

1.1.2.3 Úlcera Gástrica

Úlcera gástrica es una pérdida focal de tejido que compromete al menos todo el espesor de la mucosa y parte de la submucosa, pudiendo extenderse a todo el espesor del órgano; se cura por reparación de las túnicas subyacentes a la mucosa y por regeneración atípica de la mucosa. Se diferencia de la erosión gástrica en que ésta es una pérdida focal de tejido que compromete solamente parte del espesor de la mucosa, con destrucción de epitelios y lámina propia, que cura por regeneración de la porción de la mucosa perdida. (32)

1.1.2.4 Secreción Gástrica

La función principal del estómago es de tipo secretoria y digestiva a través del almacenamiento, procesamiento y vaciamiento al intestino de los alimentos ingeridos. La secreción gástrica es considerada como la primera fase significativa de la digestión está controlada por mecanismos neurohormonales de estimulación y de inhibición. La secreción gástrica requiere de una compleja red de interacciones neurales, endocrinas, autocrinas y paracrinas que funcionan como un todo, para lograr un delicado equilibrio fisiológico que permita la digestión y absorción de nutrientes. Comprende tres fases, la primera la cefálica que ocurre por la llegada de información aferente de la periferia al SNC, como estímulos visuales, auditivos u olfatorios que por vía vagal eferente hace producir HCl y gastrina en el estómago; la segunda es la fase gástrica por la presencia de comida en el estómago, la cual es un estímulo mecánico que desencadena un reflejo local que produce secreción de HCl y un estímulo químico que hace verter gastrina producida en el antro la sangre. El alcohol y la cafeína localmente aumentan la secreción gástrica. La última fase es la intestinal por la presencia de la comida en el duodeno produce estímulos mecánicos y químicos que desencadenan reflejos que producen hormonas como la secretina, péptido inhibidor de la gastrina y la secretina que tienen efecto inhibitor sobre secreción y la motilidad gástrica. (22) (33)

1.1.2.5 Acidez estomacal

Es una sensación de quemazón en el estómago y/o en el pecho. Por lo general se presenta cuando el ácido clorhídrico (HCl), que es utilizado en el estómago para digerir los alimentos, se devuelve al esófago e irrita los tejidos sensibles. Normalmente el músculo esfínter esofágico se comprime y evita que el ácido estomacal ascienda. Sin embargo, cuando el esfínter no funciona correctamente, el ácido puede pasar e introducirse al esófago. Ese fenómeno se denomina eflujo gastroesofágico. Las personas que sufren hernia hiatal a menudo sufren de acidez estomacal. Este problema de salud también puede deberse al consumo excesivo de alimentos condimentados, fritos o grasosos, así como también el consumo elevado de alcohol, café, frutas cítricas, chocolate o alimentos a base de tomate. Otros factores que pueden contribuir a la acidez estomacal son las úlceras, problemas de la vesícula biliar, el estrés, las alergias y la deficiencia de enzimas. (4)

1.1.2.5 Dolor abdominal

Se localiza en el epigastrio. Se lo refiere como quemazón, molestia o pesadez. (2)

1.1.2.6 Flatulencia

Es la excesiva producción de gas en el estómago o en el intestino, que causa su emisión por la boca (eructo) o por el ano (ventosidad). El meteorismo, en cambio, consiste en una excesiva cantidad de gas en el intestino, y puede ir o no seguido de la emisión de gas. La flatulencia gástrica puede deberse a la excesiva ingestión de bebidas carbónicas, pero normalmente se debe al hábito de tragar aire de origen nervioso. El gas adicional que se encuentra en el colon se produce cuando las bacterias digieren ciertos componentes de los alimentos que no son totalmente absorbidos. Las principales fuentes de gas en el colon son:

Comidas ricas en fibra tales como los granos enteros, los azúcares que se encuentran en hongos y en algunas frutas y vegetales, la lactosa en pacientes con intolerancia a la lactosa, edulcorantes tales como sorbitol o xilitol.

Los gases más comunes producidos en el intestino son hidrógeno, anhídrido carbónico y metano, ninguno de los cuales tiene mal olor. El mal olor del gas intestinal es causado por ínfimas cantidades de proteínas, grasas y carbohidratos degradados por ciertas bacterias. (11) (53)

1.1.3 DEFINICIÓN

La Gastritis es la inflamación de la mucosa gástrica, que 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. (2) (10)

1.1.4 CLASIFICACIÓN

La clasificación de Sydney incluye dos tipos de clasificaciones, una histológica y otra endoscópica (aunque esta última no ha tenido el éxito esperado, debido fundamentalmente a la mencionada falta de correlación entre los aspectos endoscópicos e histológicos de la gastritis. (37)

La clasificación histológica se basa en tres parámetros:

- a) la etiología
- b) la cronología y topografía (afectación predominante de cuerpo, de antro o pangastritis).

c) la morfología (que incluye cinco variables cuantificables, como inflamación, actividad, atrofia, metaplasia intestinal y densidad de *Helicobacter pylori*, así como otras no cuantificables). (37)

TABLA No. 1 CLASIFICACIÓN DE LA GASTRITIS CRÓNICA SEGÚN EL SISTEMA SYDNEY ACTUALIZADO. FACTORES ETIOLÓGICOS Y SINÓNIMOS.

TIPO	FACTORES ETIOLÓGICOS	SINÓNIMOS
No atrófica	<u>H. pylori</u> ¿Otros?	Superficial Antral difusa Folicular Hipersecretora Tipo B
Atrófica		
Autoinmune	Autoinmunidad	Corporal difusa Asociada a anemia perniciosa Tipo A
Multifocal	<u>H. pylori</u> Dieta ¿Factores ambientales?	Ambiental Metaplásica Tipo AB
Formas especiales		
Gastritis química	Irritación química Bilis AINE	Reactiva De reflujo AINE
Por irradiación	Irradiación	
Linfocítica	¿Idiopática? Mecanismo inmune Gluten Fármacos ¿ <u>H. pylori</u> ?	Varioliforme (endoscópica) Asociada a enfermedad celíaca
Granulomatosa no infecciosa	Enfermedad de Crohn Sarcoidosis Síndrome de Wegener Cuerpos extraños	Granulomatosa
Eosinofílica	Alergia alimentaria ¿Otras alergias?	Alérgica
Otras gastritis infecciosas	Bacterias Virus Hongos Parásitos	Flemonosa

FUENTE: [HTTP://WWW.CIRUGEST.COM/HTM/REVISIONES/CIR13-02/13-02-03.HTM](http://www.cirugest.com/htm/revisiones/cir13-02/13-02-03.htm)

El criterio de clasificación de la gastritis por el sistema ABC según la etiología y la histología es la siguiente:

1.1.4.1 Gastritis tipo A (gastritis autoinmune)

Los anticuerpos actúan contra las células parietales y el factor intrínseco, provocando una falta de acidez en el estómago. Debido a la falta de factor intrínseco, provocando una falta de acidez en el estómago. Aparece un riesgo elevado de génesis de carcinoma de estómago. A veces la gastritis de tipo A se asocia con enfermedades autoinmunes.

1.1.4.2 Gastritis tipo B (gastritis asociadas a *Helicobacter pylori*)

El *Helicobacter pylori* se ingiere con la alimentación o por vía fecal oral. La incidencia de este segundo tipo aumenta con la edad de las personas: (a los 30 años, el 30% de los casos estudiados *Helicobacter* positivos; a los 60 años ya afecta al 60%). Histológicamente se valora el grado de infiltración de linfocitos, células plasmáticas y granulocitos neutrófilos para evaluar la magnitud y la actividad de la gastritis. Las úlceras gástricas o duodenales así como la aparición de un linfoma o un carcinoma maligno, son complicaciones posibles debidas a una gastritis crónica por *Helicobacter pylori*.

1.1.4.2 Gastritis tipo C

En este tipo de gastritis se engloban las gastritis producidas por diversos factores químicos de forma crónica. Son desencadenantes como por ejemplo los antiinflamatorios no esteroideos o el flujo biliar en el caso de una estenosis. Las complicaciones típicas son úlceras. (15)

La Gastritis también se la puede clasificar en base a la gravedad de la afección de la mucosa, ésta puede clasificarse en aguda y crónica, también puede ser clasificada con el segmento del estómago involucrado (antro, techo, cardias). La gastritis aguda implica una inflamación polimorfonuclear de la mucosa del estómago, y la gastritis crónica, algún grado de atrofia con pérdida de su actividad funcional o metaplasia. (2)

1.1.4.3 Gastritis Aguda

Puede ser debida a causas exógenas o endógenas.

- a) Las causas exógenas se resumen en: alimentarias; tóxicas; por radiación; cáusticas; alérgicas; infecciosas (bacteriana o viral), por irritantes, mecánicas y térmicas; y flegmonosa o supurativa.
- b) Las causas endógenas de la gastritis aguda son: metabólicas (uremia); por enfermedades sistémicas (EPOC, colagenosis); y por enfermedades graves (politraumatismos, choque). (40)

Las características histológicas que presentan este tipo de gastritis son.

1. Edema mucoso.
2. Infiltración neutrófila con o sin erosiones.
3. Petequias con o sin infiltrado linfoplasmocitario leve.
4. Regeneración epitelial en el cuello de las glándulas. (5)

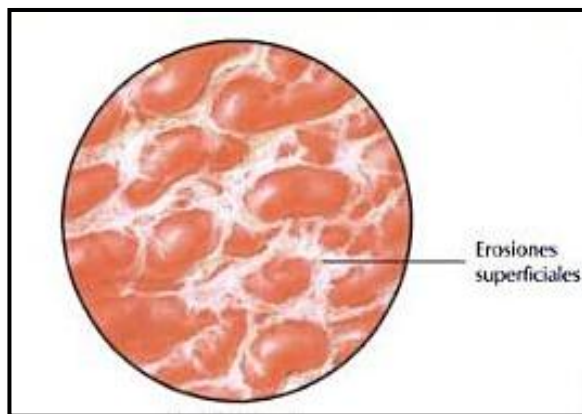


FIGURA No. 3 GASTRITIS AGUDA (VISIÓN GASTROSCÓPICA)
FUENTE: BOOKS.GOOGLE.COM.EC NETTER ANATOMÍA PATOLÓGICA (2006)

Existen dos tipos de gastritis aguda:

1. Gastritis agudas infecciosas

2. Gastropatía aguda erosivo-hemorrágica

1. GASTRITIS AGUDAS INFECCIOSAS

Destacan las de origen bacteriano, producidas por la ingestión de alimentos contaminados por gérmenes o sus toxinas. Las más frecuentes serán las gastritis agudas por *Helicobacter pylori* en la fase inicial de la infección, que suelen pasar inadvertidas por asintomáticas. En el curso de diversas infecciones pueden producirse gastritis agudas, bien secundarias al síndrome tóxico de la infección general o por localización del germen cuando éste sea especialmente virulento, entre las que se incluyen las gastritis flemonosas o supurativas, secundarias a la invasión bacteriana de la pared gástrica. Se llegará al diagnóstico mediante el análisis histológico y/o microbiológico de las muestras obtenidas por endoscopia. El tratamiento dependerá, lógicamente, del agente causal identificado, aunque en las formas leves serán suficientes las medidas dietéticas simples y la terapia sintomática. Además del tratamiento antibiótico, la intervención quirúrgica urgente está indicada en las formas perforativas y en las gastritis enfisematosas (es una forma rara de gastritis flemonosa asociada a invasión de la pared gástrica por bacterias formadoras de gas) y flemonosas. (37) (42)

2. GASTROPATÍA AGUDA EROSIVO-HEMORRÁGICA

En este tipo de gastropatía las lesiones se observan endoscópicamente y, en general, no se requiere la obtención de biopsias, a menos que se sospeche algún tipo especial de gastritis. Las causas que destacan son los fármacos, en especial los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), el alcohol y las enfermedades asociadas graves (por ejemplo lesiones por estrés). La inflamación histológica es característicamente escasa o está ausente, por lo que el término gastropatía en lugar de gastritis parece más adecuado en estos casos. (3) (37)

1.1.4.4 Gastritis Crónica

Es una inflamación que afecta sólo la mucosa; no tiene alteraciones macroscópicas características, ni sintomatología definida; puede ser asintomática. Es una entidad de diagnóstico histopatológico.

Histológicamente se reconocen dos variedades principales:

1. Gastritis crónicas no atrófica
2. Gastritis crónica atrófica

1. GASTRITIS CRÓNICAS NO ATRÓFICA

1.1 GASTRITIS CRÓNICA SUPERFICIAL

Caracterizada por alteraciones degenerativas en las células del istmo, infiltración de linfocitos y plasmocitos preponderantemente en la porción superficial de la lámina propia, entre las foveolas gástricas; la infiltración generalmente incluye variable cantidad de neutrófilos.

1.2 GASTRITIS ANTRAL DIFUSA

Se observa un denso infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario que ocupa todo el espesor de la mucosa antral, estas células inflamatorias además expanden la lámina propia y separan las glándulas gástricas, creando la falsa apariencia de pérdida glandular y atrofia, en algunos casos hay folículos linfoides prominentes recibiendo la denominación de gastritis folicular, dicha variante es muy prevalente en las áreas endémicas de cáncer gástrico. Este tipo de gastritis es la regla en pacientes con úlceras pépticas duodenales o pilóricas, en estos casos es muy frecuente que se detecten pequeños focos de atrofia glandular o metaplasia intestinal sin que ello implique que se considere dentro del grupo de las gastritis crónicas superficial atróficas. (51) (55)

2. GASTRITIS CRÓNICA ATRÓFICA

Mucosa adelgazada, con disminución de glándulas y simplificación de las glándulas remanentes; infiltración linfocitaria y plasmocitaria en todo el espesor de la lámina propia, acompañada de neutrófilos; en la mucosa fúndica puede producirse un reemplazo de las glándulas características por glándulas de tipo pilórico (metaplasia pilórica); tanto en la mucosa fúndica como en la pilórica puede haber también una metaplasia intestinal: el epitelio de las foveolas y de las glándulas está reemplazado principalmente por células caliciformes y células cilíndricas similares a las células de función absortiva del intestino (enterocitos). (55)

TABLA Nº2: CARACTERÍSTICAS MÁS RELEVANTES DE LAS GASTRITIS CRÓNICAS SEGÚN LA CLASIFICACIÓN DEL SISTEMA SYDNEY.

	NO ATRÓFICA		ATRÓFICA	
	ANTRAL DIFUSA	AUTOINMUNE	MULTIFOCAL	
Topografía	Antro	Cuerpos, fundus	Antro, cuerpo, fundus	
Histopatología	Infiltrado linfoide	Atrofia, metaplasia, displasia	Atrofia, metaplasia, displasia	
Predisposición genética	No aclarado	Autosómica dominante	¿Autosómica recesiva?	
Distribución geográfica	Centros urbanos	Norte de Europa	China, Japón, norte de Europa, Andes	
Úlcera péptica	Duodenal o pilórica	No	Gástrica alta	
Etiología	H. pylori	Genética, Autoinmune	H. pylori, dieta	
Secreción acidopéptica	Aumentada	Disminuida	Disminuida	
Gastrinemia	Normal o leve aumento	Muy alta	Variable	
Riesgo de Carcinoma	No	Elevado	Elevado	

FUENTE: [HTTP://WWW.CIRUGEST.COM/HTM/REVISIONES/CIR13-02/13-02-03.HTM](http://www.cirugest.com/htm/revisiones/cir13-02/13-02-03.htm)

1.1.5 CAUSAS, INCIDENCIA Y FACTORES DE RIESGO

Los mecanismos que originan las lesiones de la gastritis crónica son:

1. Infección por *Helicobacter pylori*

2. Agresiones químicas: alcohol, tabaco, bilis y fármacos como el ácido acetilsalicílico o los antiinflamatorios no esteroideos.
3. Mecanismos autoinmunes.

Las gastritis agudas generalmente están relacionadas con causas externas. Tabaco, alcohol, ácido acetilsalicílico o antiinflamatorios no esteroideos, tóxicos (lejía) y también infecciones o estrés (cirugía, quemaduras graves). (16)

Las causas más comunes de gastritis son:

1. Ciertos medicamentos como ácido acetilsalicílico (*aspirin*), ibuprofeno o naproxeno, cuando se toman por mucho tiempo.
2. Tomar demasiado alcohol.
3. Infección del estómago con una bacteria llamada *Helicobacter pylori*.

Las causas menos comunes son:

1. Trastornos autoinmunitarios (como anemia perniciosa).
 2. Reflujo de bilis hacia el estómago (reflujo biliar).
 3. Consumo de cocaína.
 4. Ingerir o beber sustancias corrosivas o cáusticas (como venenos).
 5. Estrés extremo.
 6. Infección viral, como citomegalovirus y el virus del herpes simple, especialmente en personas con un sistema inmunitario débil.
 7. Un traumatismo o una enfermedad repentina y grave, como una cirugía mayor, insuficiencia renal o el hecho de estar con un respirador pueden causar gastritis.
- (30)

1.1.6 SIGNOS Y SINTOMAS

La gastritis presenta el conjunto de síntomas siguientes: una sensación de calor en el epigastrio (caliente e hinchado), seguida del dolor pungitivo, lancinante, pulsativo, terebrante, quemante en la misma región, y que se aumenta tocando esta región así también como con la tos, inspiración, estornudo, hipo y la ingestión de sustancias especialmente aquellas que son irritantes.

Hay resequedad y rubicundez en la cavidad bucal, principalmente en la lengua que a veces está cubierta de aftas, constricción de las fauces, muchas veces con dificultad para deglutir que en este caso se hace sonora, ardor del esófago, ansiedad, suspiros, náuseas, eructos, esfuerzo inútil para vomitar, vómitos dolorosos de serosidad, de moco, bilis eruginosa incluso presencia de sangre en algunos casos hinchazón del vientre, falta de deposiciones. (10)

La gastritis crónica se manifiesta mediante signos inespecíficos que pueden ser: ardores epigástricos, eructos o síndrome pseudoulcero.

Puede ser completamente asintomática y llegarse al diagnóstico al realizar una endoscopia.

En cambio la gastritis aguda posee una sintomatología de ardores; los dolores son vivos, epigástricos, de tipo calambre y pueden ir acompañados de vómitos. (16)

1.1.7 DIAGNÓSTICO

Cuando los síntomas son agudos y la gastritis se asocia con infección, es habitual que remitan en cuestión de días y no se requiere una evaluación. Sin embargo cuando los síntomas persisten más de 7 a 14 días, se precisa una investigación.

La evaluación estándar comprende una endoscopia gastrointestinal alta con biopsia para determinar el proceso patológico. La Fibroscopia es el examen básico. Permite visualizar directamente al estómago y practicar las biopsias.

Cuando existe atrofia está indicada una prueba de anticuerpos contra células parietales. Los niveles de gastrina sérica pueden ser elevados si la atrofia es difusa.

La intubación con pentagastrina resulta útil en las gastritis atróficas, como en la enfermedad de Biermer, en la que se observa una aclorhidria total, no estimulada por la pentagastrina.

La causa más común e gastritis es *H. pylori*, si se halla el microorganismo mediante endoscopia y biopsia hace que el diagnóstico sea claro. Además implica el diagnóstico de la infección por *H. pylori* y el histopatológico de la gastritis asociada. Para el diagnóstico histopatológico son esenciales las muestras del cuerpo gástrico, para así poder definir con precisión el patrón de gastritis, al que se asocian diversas posibilidades evolutivas y el riesgo de diferentes enfermedades gástricas. Para esta finalidad diagnóstica deberían obtenerse por duplicado biopsias del antro, cuerpo e incisura (seis en total), estas últimas no con la intención de valorar la presencia de *H. pylori* sino de evaluar las lesiones histológicas de atrofia, metaplasia intestinal y displasia.

Cuando están presentes otros microorganismos estos pueden identificarse en la biopsia, aunque debe llevarse a cabo una tinción histológica detallada para identificar infecciones crónicas por tuberculosis y los hongos.

Puede diagnosticarse anisakiasis (enfermedad causada por la ingestión de larvas de nematodos de la familia Anisakidae) en la endoscopia la cual debería considerarse cuando hay una mayor ingestión de pescado crudo. (8) (16) (37)

1.1.8 COMPLICACIONES

Las posibles complicaciones son la hemorragia en la gastritis aguda por estrés y el cáncer en las gastritis atróficas crónicas. Existe un riesgo aumentado de desarrollar carcinoma y carcinoides gástricos, por lo que se ha sugerido, aunque no demostrado, que estaría justificado realizar un seguimiento endoscópico de los pacientes. Probablemente no esté indicado, excepto si se han identificado lesiones displásicas. (16) (37)

1.1.9 TRATAMIENTO

Es meramente sustitutivo, con la administración periódica, de por vida, de vitamina B₁₂ por vía intramuscular en forma de cianocobalamina. Un esquema terapéutico propuesto es comenzar con 100 mg/día durante una semana, después 100 mg/semana durante 2 meses, y finalmente cada mes de forma indefinida. Como efectos secundarios de la administración de la vitamina B₁₂, consecuencia de la marcada hematopoyesis que induce, se ha descrito ferropenia, hipopotasemia e hiperuricemia. El tratamiento con vitamina B₁₂ debe considerarse urgente si se sospecha el diagnóstico y existe algún trastorno neurológico, puesto que una tardanza en su administración puede resultar en lesiones neurológicas irreversibles. (37)

Las enfermedades autoinmunes y las enfermedades gástricas inespecíficas se tratan sintomáticamente. (8)

En los casos habituales, el tratamiento se basa en consejos dietéticos (suspensión de alcohol y el tabaco), supresión de los antiinflamatorios y tratamiento sintomático de los dolores. La erradicación del *H. pylori* mejora los síntomas de algunos pacientes. (16)

El tratamiento natural de la gastritis se centra en la utilización de una serie de recursos naturales que pueden prevenir o solucionar el problema.

1.1.10 ALIMENTOS ACONSEJADOS

- a) Lácteos: no se recomienda la toma frecuente de leche, ya que crea acidez a las 2 ó 3 horas tras su ingesta. Es preferible consumir leche (total o parcialmente desnatada) u otros lácteos poco grasos (queso fresco, yogur desnatado).
- b) Carnes: pollo y pavo sin piel, ternera y cerdo magro, caballo, solomillo de buey.
- c) Embutidos: embutido de pavo y pollo.
- d) Cereales: refinados, pan blanco y tostado, pasta, arroz, patata, sémola y tapioca.
- e) Dulces: bollería, galletas y bizcocho sencillos poco grasas.
- f) Pescados: blancos y azules según tolerancia.
- g) Huevos: pasados por agua, escalfados.

- h) Patatas en puré, hervidas o cocidas.
- i) Hortalizas: todas en general, excepto las flatulentas.
- j) Bebidas: agua, caldos desgrasados, infusiones suaves.
- k) Grasas: aceites de oliva.

1.1.11 ALIMENTOS PERMITIDOS

- a) Quesos blandos y semigrasos, yogur, mousse de yogur, cuajada, natillas, flan, arroz con leche.
- b) Carnes: cortes magros de carnes semigrasas: pierna de cordero, cerdo y ternera semigrasa.
- c) Embutidos: jamón serrano magro, lomo embuchado.
- d) Pescados: azules algo más grasos como el salmón.
- e) Mariscos: crustáceos y moluscos como complemento.
- f) Huevos: frito, revuelto.
- g) Legumbres: según tolerancia individual.
- h) Frutas: todas.
- i) Azúcares y derivados: mermeladas, miel y melazas.
- j) Bebidas: zumos de frutas y hortalizas, bebidas refrescantes azucaradas.
- k) Condimentos: suaves como perejil, mejorana, laurel, albahaca.
- l) Grasas: aceites de girasol, maíz, saja. (44)

1.2 GASTROPROTECTOR

Un gastroprotector protege la mucosa gástrica de agentes agresivos o irritantes. Los gastroprotectores son fármacos de gran utilidad en el tratamiento de varias enfermedades crónicas asociadas a disfunciones gástricas, y como profilaxis en pacientes que usan medicamentos ulcerogénicos.

1.2.1 METABOLITOS RESPONSABLES DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA

La gastroprotección la producen muchos extractos vegetales que presentan terpenoides, flavonoides, alcaloides, taninos, gomas, mucílagos, glucósidos y esteroides y, en algunos, esta acción es comparable con la atropina.

Los flavonoides, los cuales representan una clase muy diversa de metabolitos secundarios con efectos potencialmente beneficiosos, que son ampliamente distribuidos en el reino vegetal y en la actualidad se consume en grandes cantidades en la dieta. Estos metabolitos poseen varias propiedades farmacológicas en la zona gástrica, en calidad de anti-secretores, agentes citoprotectores y antioxidante. Además de su acción como gastroprotector, los flavonoides actúan también en la curación de las úlceras gástricas y, además, éstos compuestos polifenólicos pueden ser nuevas alternativas para la supresión o la modulación de úlcera péptica asociada a *H. pylori*. Ciertos flavonoides, como la quercetina y la rutina, tienen propiedades antiulcéricas al proteger la mucosa gástrica.

1.2.1.1 Quercetina

Es un flavonoide muy interesante dado que es de los principios que presentan más propiedades: analgésicas, antiagregantes, vasodilatadoras, antiartríticas, antibacteriales, antiinflamatorias, antiespasmódicas, antiulcéricas, antidiabéticas, entre otras. Como buen flavonoide no se pueden olvidar sus valores antioxidantes y anticancerosos.

La quercetina también se vende en forma de comprimidos. Muchas veces se aconseja tomarla junto con la hesperidina y rutina porque parece ser que estos tres componentes se complementan. Las dosis diarias suelen establecerse entre los 200 y 1100 mg diarios.

No debería ser administrada en mujeres embarazadas o lactantes. Se han descrito casos de reacciones adversas estomacales y, menos frecuentemente, mareos y temblor en las piernas. El uso oral no suele producir reacciones estomacales. Usada intravenosamente

puede producir náusea, sudoración, problemas respiratorios y enrojecimiento. Puede inhibir la absorción de ciertos medicamentos.

1.2.1.2 Rutina

Muchas son las propiedades de la rutina. Posee propiedades antiinflamatorias y antiespasmódicas, previene el cáncer y protege al hígado, mejora la circulación por sus propiedades vasodilatadoras, previene la fragilidad capilar, disminuye la hipertensión, etc.

La rutina también se vende en forma de comprimidos. Muchas veces se aconseja tomarla junto con la hesperidina y la quercetina, porque parece ser que estos tres componentes se complementan. En forma de suplementos se vende en cápsulas, bien sola o con otros flavonoides. Se debe tomar de acuerdo a las condiciones del prospecto, que normalmente se establece en unos 100 o 500mg al día, con la posibilidad de aumentar la dosis si el especialista lo considera oportuno.

No debe administrarse a personas embarazadas o alérgicas a este componente. Se han dado casos en los que se han producido dolores de cabeza o temblor de piernas. Parece que existe la posibilidad de que este componente pueda potenciar la acción negativa de los nitritos o nitratos que se utilizan en algunos productos envasados, especialmente de naturaleza cárnica. No debería tomarse este complemento en caso de sospecha de ingestión de estos productos. La ingestión de este complemento puede neutralizar la acción de ciertos antibióticos. (50)

1.3 OMEPRAZOL

El omeprazol es un derivado bencilimidazólico sustituido, con alta potencia y selectividad en su acción inhibitoria de la secreción ácida gástrica, tanto basal como estimulada, en animales y en el hombre. Constituye el primer elemento de una serie de

nuevos fármacos antiulcerosos cuyo mecanismo único de actuación para reducir la secreción ácida es la inhibición de la enzima hidrógeno/potasio adenosina trifosfatasa o (H^+/K^+)ATPasa gástrica (enzima inhibitoria de la bomba de protones de las células parietales u oxínticas, gástricas); su selectividad de acción se basa en que sólo actúa sobre la enzima de origen gástrico. La actuación de la bomba de protones se produce en la fase final común de los procesos secretores gástricos, de lo que se infiere que el omeprazol puede reducir la acidez intragástrica, independientemente de la naturaleza del estímulo primario.

La inhibición de la acidez gástrica es un potente indicador de la utilidad terapéutica de los fármacos antiulcerosos y, por tanto, se considera que el omeprazol es una herramienta importante en el tratamiento de las úlceras pépticas. Es un polvo blanco o blanquecino, cristalino que funde a 155 °C con descomposición, posee carácter básico débil y es libremente soluble en lípidos, etanol y metanol, ligeramente soluble en acetona e isopropanol y muy poco soluble en agua. La estabilidad de la sustancia está en función del pH: se degrada rápidamente en medio ácido, pero permanece prácticamente estable en condiciones alcalinas. (38)

1.3.1 EFECTOS SECUNDARIOS Y TOXICIDAD

Desde 1993 han sido tratados con omeprazol en ensayos clínicos más de 19.000 pacientes, pero sólo en los casos de síndrome de Zollinger-Ellison y en enfermedades con acidez péptica resistente, se ha administrado el fármaco durante períodos de tiempo superiores a unas pocas semanas. La frecuencia de aparición de efectos secundarios debidos al omeprazol, ha sido similar a la que se presentaba administrando placebo o un antagonista de los receptores H_2 de la histamina; además no se han detectado anomalías significativas en los resultados de los análisis para detección de las funciones hepática o tiroidea. Aunque el omeprazol posee un pequeño efecto inhibitorio de la síntesis de esteroides corticosuprarrenales ello no redundará en un efecto clínico importante sobre la función adrenérgica o sobre otras funciones endocrinas.

El omeprazol presenta efectos adversos aislados tales como diarrea, náuseas, cólicos abdominales, pérdida de sensibilidad en las extremidades, debilidad, somnolencia, dolor de cabeza y alteraciones de la piel. Suelen ser poco intensos y transitorios por lo que no requieren reducción de la dosis. Menos del 1% de los pacientes tratados con omeprazol presentan pancitopenia, trombocitopenia, neutropenia, anemia, leucocitosis y anemia hemolítica pero no se ha podido establecer la relación del fármaco con la aparición de estos efectos.

La mayor preocupación en lo que respecta a los efectos secundarios del omeprazol y que aún no puede descartarse en el hombre, radica en que, al estar demostrada su capacidad para provocar, después de administraciones continuadas durante períodos de tiempo largos, elevación de los niveles plasmáticos de gastrina y tumores carcinoides gástricos en ratas, es posible que se produzcan efectos análogos en el hombre si el fármaco se administra como terapia de mantenimiento en las enfermedades que cursan con hipersecreción gástrica continuada. (38)

1.4 ACHILLEA (*Achillea millefolium* L.)

1.4.1 USOS TRADICIONALES (HISTORIA DE LA ACHILLEA)

El género *Achillea* se incluye en la familia de las Compuestas y está formado por más de 100 especies originarias de las montañas de Europa y Norteamérica.

Esta planta se ha utilizado desde la antigüedad. Dioscórides nos dice de ella: Es muy útil esta hierba contra las efusiones de sangre, contra las llagas recientes, antiguas y enfistoladas. (20)

Identificada en un yacimiento de restos de Neanderthal, podría haber formado parte de una primitiva farmacología de esta cultura. Los griegos le dieron el nombre de aquilea por Aquiles, famoso por su invulnerabilidad a las heridas, que según una leyenda curó con ella a su amigo Télefo. Los guerreros la llevaban como un remedio casi milagroso en

sus mochilas, por lo que fue también conocida como hierba de los soldados. Fue usada por las brujas asturianas, las cuales preparaban infusiones de esta planta para potenciar sus poderes adivinatorios. (17)

La milenrama se considera una planta medicinal clásica. Dioscórides, Plinio y Hildegard von Bingen recomendaban la milenrama para coagular la sangre y cicatrizar las heridas. Lonicerus y Tabernaemontanus describían además su capacidad para estimular el apetito y favorecer la digestión. Siglos más tarde, las aplicaciones médicas de estas plantas se multiplicaron siendo considerada no sólo vulneraria, es decir, buena para curar heridas, sino que hemostática, reguladora menstrual, tónica, estimulante y antiespasmódica, antihemorroidal y como tantas otras plantas, febrífuga.

Fue Linné quien determinó la *Achillea millefolium* L. clasificándola en numerosas variedades, subespecies o especies afines. (43)

Planta de adivinos y magos en Escocia, se decía que tenía poder para ahuyentar a los espíritus malignos y se guardaba en las iglesias a tal efecto. Se cree que la milenrama es una planta poderosa para la magia alquímica del amor. De ahí que en la antigüedad fuera de las hierbas más apreciadas por las brujas y hechiceras.

A mitad del siglo XV era muy cultivada en los huertos ingleses para curar fiebres, enfriamientos, úlceras, llagas e inflamaciones de todo tipo, incluyendo los dolores de muelas. También se utilizaba para la piel y para lavarse el cabello a fin de detener la calvicie. Lavarse la cabeza con una infusión de milenrama evitará la calvicie, pero no la curará si ésta ya ha comenzado. Hacia el siglo XVII se consumía tanto cruda como guisada a modo de verdura. (26)

Esta hermosa planta, que cuando está florecida suele formar parte de adornos y montajes florales, es muy apreciada en la tradición popular, que la considera como una variedad específica para el tratamiento de problemas circulatorios y digestivos. (19)

1.4.2 NOMBRE CIENTÍFICO

Achillea millefolium L. El nombre *Achillea* se utilizó para designar a este género en honor de Aquiles.

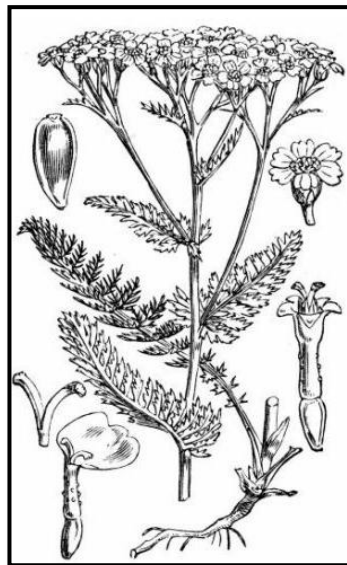


FIGURA No. 4 *Achillea millefolium* L.

FUENTE: [HTTP://LUIRIG.ALTERVISTA.ORG/CPM/ALBUMS/FI/TCH2/WAL-HOO00578-ACHILLEA-MILLEFOLIUM.JPG](http://LUIRIG.ALTERVISTA.ORG/CPM/ALBUMS/FI/TCH2/WAL-HOO00578-ACHILLEA-MILLEFOLIUM.JPG) Walter Hood Fitch - Illustrations of the British Flora (1924)

1.4.3 NOMBRES COMUNES

Se utilizan una variedad de nombres comunes para la *Achillea millefolium* entre los principales se tiene:

1. Achillea
2. Milenrama- Mil en Rama
3. Milefolio
4. Mil Hojas
5. Mil Flores
6. Hierba de Aquiles
7. Hierba del soldado

8. Ciento en Rama
9. Yarrow (Inglés)
10. Plumajillo. (1) (12) (34)

1.4.4 HÁBITAT Y CARACTERÍSTICAS

Pertenece a la Familia compositae/tubulifloras. Esta planta vivaz alcanzar los 100 cm. de altura, con raíces fusiformes, pequeñas y blanquecinas. El tallo erecto está surcado, un poco velludo y se ramifica en su parte superior. Las hojas son alternas, alargadas y estrechas, están divididas en segmentos estrechos y muy finos que le han valido su nombre común. Sus capítulos florales son blancos y se disponen en corimbos apicales que florecen de Junio a Noviembre. El fruto es blanco, un poco comprimido y parece estar truncado en el ápice.

La milenrama Extendida por toda la zona Mediterránea, es común en casi toda Europa, en el Norte de Asia y en las regiones del Cáucaso hasta una altitud de 2500 metros. También se ha implantado en Norte América, Australia y Nueva Zelanda. Prefiere los suelos secos o arenosos y se multiplica por siembra después del verano o en primavera. (1) (30)

1.4.5 RECOLECCIÓN

La milenrama florece generalmente en verano, momento en que se debe proceder a la recolección de los tallos foliados no lignificados, o simplemente de las flores, que son las partes útiles para aplicaciones medicinales. Según la zona, la recolección podría abarcar desde la primavera al otoño. Las flores se recogen a mano, desmochando las cabezuelas de forma individual, y dejando a cada una un pequeño trozo de tallo (es suficiente 1 cm.). El secado debe realizarse preferiblemente con calor natural, o artificial siempre que no se superen los 35° C. La conservación se debe realizar en un lugar seco y oscuro. La floración se da de Mayo-octubre. Flores color blanco-grisáceo a veces lilas o rosadas. Su olor es aromático algo similar al de la manzanilla. (26)

1.4.6 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Los componentes principales característicos (dependiendo de la especie dentro del grupo *A. millefolium*) son:

Aceite esencial: (0-21%) que contiene una cantidad variable de los principales componentes: α -y β -pínenos, 1,8-cineol, sabineno, alcanfor, borneol, β -cariofileno y D. germacreno

Flavonoides: fracción de flavonoides (10,2% del total de los flavonoides, de los cuales 2,6% rutina. Apigenina 3,7% 7-O-glucósido, 2,3% luteolina 7-O-glucósido, luteolina 2,6% 4'-O-glucósido, luteolina 0,3% y 0,5% apigenina), quercetina.

Lactonas sesquiterpénicas: aquilicina, achileína, millefina (Planta).

Alcaloides: betonicina, betaina, colina y estachidrina.

Eugenol.

Cumarinas.

Taninos.

Minerales: calcio, cromo, cobalto, aluminio.

Polienos: pontica epóxica. (1) (21)

1.4.7 ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA

La planta tiene un efecto colagogo debido a la presencia de guaianólida y germacranolide, tiene también efecto espasmolítico y el proazuleno tiene efecto antiedema y antiinflamatorio. Este efecto probablemente resulte de la interacción de varias estructuras relacionadas con el chamazuleno y los flavonoides. Los flavonoides le otorgan propiedades antiespasmódicas mientras que los principios amargos le confieren propiedades digestivas y resulta adecuado para las malas digestiones, ardor de estómago, vómito y úlcera gástrica. La planta tiene efectos similares a los observados con las flores de *Camomila* y algunos de sus componentes son idénticos. Ha mostrado actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*

aureus y *Candida albicans*. Los extractos inhiben la germinación de semillas y son larvicidas. (1)

1.4.8 PROPIEDADES MEDICINALES

La Achillea es una planta muy apreciada y utilizada en la medicina popular, donde se le atribuyen, no sin razón, un sinnúmero de virtudes reparadoras. Se trata de una planta muy versátil, que destaca ante todo por su poder antiinflamatorio, antiespasmódico, hemostático y cicatrizante. Es ciertamente común encontrar milenrama en la farmacopea británica como específico para las trombosis que cursan con hipertensión.

Está indicada en trastornos digestivos, para aliviar los espasmos gastrointestinales, las náuseas y el vómito, ayuda en las úlceras gástricas. Estimula la secreción de jugos gástricos y la bilis, hace que se gane apetito, reduce la inflamación en hígado y vesícula y favorece la disolución y eliminación de los cálculos biliares y renales. Se puede incluir para preparar una excelente fórmula diurética, indicada para evitar la retención de líquidos y facilitar la expulsión de las piedras del riñón.

La milenrama es una planta aliada de la salud de la mujer, que se recomienda como remedio, para regular el periodo en menstruaciones irregulares o en exceso abundantes, para aliviar la tensión premenstrual y los calambres musculares, para favorecer la circulación pélvica y para tratar otros problemas como la leucorrea vaginal.

La milenrama se muestra también como un estimulante sanguíneo válido en caso de varices, flebitis y hemorroides. Es un buen remedio para favorecer la cicatrización de heridas y acelerar la curación de llagas y aftas bucales.

La milenrama es muy eficaz en diversos tipos de cosméticos. Con ella se hace una magnífica loción limpiadora para pieles grasas.

Es también excelente para tónicos capilares y champús de hierbas anticaspa, así como especialmente beneficiosa para añadirla a las mascarillas faciales. La milenrama suaviza y calma la irritación de las manos agrietadas. (26)

1.4.9 PRECAUCIONES Y TOXICIDAD

1. Litiasis biliar. La milenrama debe usarse con precaución para el tratamiento de la litiasis biliar debido a que por su efecto colagogo/coolerético puede producir cólicos biliares.
2. Embarazo. La milenrama no debe usarse durante el embarazo debido a su contenido en alcanidas, con posible acción uterotónica.
3. Lactancia. La milenrama no debe usarse durante la lactancia debido a la ausencia de datos que avalen su seguridad.

A altas dosis, en tratamientos crónicos o en individuos especialmente sensibles se pueden producir reacciones adversas:

1. Alérgicas/dermatológicas. La milenrama presenta un potencial de sensibilización medio, por lo que puede ocasionar a veces dermatitis por contacto y reacciones de hipersensibilidad, debido a las lactonas sesquiterpénicas y a la presencia de cumarinas.
2. A dosis elevadas puede producir vértigos, cefalea. (1) (26)

1.4.10 EFECTO GASTROPROTECTOR DE LA ACHILLEA

En el departamento de Farmacología de la Universidad Federal de Paraná se realizó un estudio sobre la actividad Antiulcerogénica de extracto hidroalcohólico de *Achillea millefolium L.* y la implicación del sistema antioxidante, en donde detalla que las ratas fueron tratadas con *Achillea millefolium L.* y, posteriormente, expuestas tanto a lesiones gástricas agudas inducidas por etanol y úlceras gástricas inducidas por el 80% de ácido acético.

Obteniéndose que la administración oral de *Achillea millefolium* L. (30, 100 y 300mg/kg) inhibió lesiones gástricas inducidas por etanol en un 35, 56 y 81%, respectivamente. El tratamiento oral con *Achillea millefolium* L. (1 y 10 mg/kg) redujo las úlceras gástricas crónicas inducidas por ácido acético en un 43 y un 65%, respectivamente, y promueve la regeneración importante de la mucosa gástrica. El tratamiento previno la reducción de los niveles de GSH y la actividad de SOD después de inducida las lesiones gástricas por ácido acético. En dosis de (10mg/kg) inhibe la actividad de MPO en úlcera gástrica inducida por el ácido acético.

Los resultados del presente estudio indican que las propiedades antioxidantes de *Achillea millefolium* L. puede contribuir a la actividad antiulcerosa de este extracto. (28)

1.5 GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*)

1.5.1 USOS TRADICIONALES (HISTORIA DE LA GUAVIDUCA)

Las hojas de *Piper carpunya Ruiz & Pav.*, son ampliamente utilizados en la medicina popular en los países tropicales y subtropicales de América del Sur como un remedio anti-inflamatorio, anti-úlceras, anti-diarreico y anti parasitario, así como una enfermedad para las irritaciones de la piel. Es una especie endémica de las regiones del norte de América del Sur.

Es un remedio con propiedades anti-inflamatorias y antiulcerosos que se utiliza en la medicina popular en el Ecuador. (9)

Los naturales de gusto delicado acostumbran tomar una o dos tazas de la infusión de sus hojas para ayudar a la digestión. (21)

En el Perú las hojas y fruto seco en infusión se usan como digestivo y su polvo ahuyenta los insectos. Presenta una rápida proliferación desde la superficie de los rizomas y puede formar grandes poblaciones en cortos periodos de tiempo. (13) (24)

1.5.2 NOMBRE CIENTÍFICO

Piper carpunya Ruiz & Pav. Ruiz y Pavón, que se utiliza como autoridad en las especies de plantas.



FIGURA No. 5 *Piper carpunya*

FUENTE: [HTTP://FM1.FIELDMUSEUM.ORG/VRRRC/INDEX.PHP?LANGUAGE=ESP&PAGE=VIEW&ID=41468&PHPSESSID=B85...&PHPSESSID=B85...](http://FM1.FIELDMUSEUM.ORG/VRRRC/INDEX.PHP?LANGUAGE=ESP&PAGE=VIEW&ID=41468&PHPSESSID=B85...&PHPSESSID=B85...)

1.5.3 NOMBRES COMUNES

1. Guaviduca
2. Carpundia (Perú)
3. Cordoncillo aromático u oloroso (Colombia). (34) (58)

1.5.4 HÁBITAD Y CARACTERÍSTICAS

Piper carpunya Ruiz et Pavón pertenece a la familia Piperaceae y habita en la cuenca del Amazonas sus hojas son aromáticas, y adquieren mayor fragancia cuando se hallan bien desecadas. Árbol de 8 metros de alto; ramillas con nudos hinchados; hojas alternas, elípticas, las inflorescencias son amentos. Se encuentra en bosque húmedo alrededor de los 1900 msnm. (21) (24) (45)

1.5.5 RECOLECCIÓN

Piper carpunya Ruiz & Pav. es de recolección silvestre. (21)

1.5.6 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Un aceite destilado al vapor obtenido de las hojas y espigas de *Piper carpunya* Ruiz et Pavon. Obtenidas en la cuenca amazónica peruana fue analizado por capilaridad GC y GC / MS. En el aceite de las hojas, de 38 componentes por valor de 93,7% del petróleo que se caracteriza, en el aceite de las espigas, de 36 componentes que suman el 98,4% fueron identificados. El aceite de las hojas se demostró que contienen [alfa]-terpineno (12,1%), p-cimeno (10,9%), 1,8-cineol (13,0%), safrol (14,9%) y spatulenol (9,8%) como los principales componentes, mientras que el aceite de clavo ha demostrado tener [alfa]-terpineno (9,8%), p-cimeno (7,7%), 1,8-cineol (30,2%) y safrol (32,0%). (45)

1.5.7 PROPIEDADES MEDICIANLES

Sus principales aplicaciones son en el tratamiento de problemas digestivos como el estómago y carminativas, antiinflamatorio, para reducir nutaciones de la piel, además como un antimicrobiano, antiulceroso, antidiarreico y antiparasitario. (9) (26)

1.5.8 EFECTO GASTROPROTECTOR DE LA GUAVIDUCA

En un estudio realizado en el Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla, España se determinó el efecto gastroprotector la planta *Piper carpunya* en un modelo de las úlceras inducidas por diclofenaco en ratas y estudiar los mecanismos implicados. La suspensión acuosa del extracto etanólico de las hojas de *P. carpunya* se administró por vía oral dos veces a tres grupos de ratas Wistar, a dosis de 62,5, 125 y 250 mg / kg, con un intervalo de 24 horas entre las dosis. Diclofenaco (100 mg / kg) se administró 1 h después de la última administración del extracto. El

tratamiento previo con *P. carpunya* disminuyó el área ulcerada, impidió la infiltración de neutrófilos inducida por la administración de AINE en vivo, y se inhibe la liberación de la enzima mieloperoxidasa proteolítica de los neutrófilos estimulados con el ionóforo de calcio A23187. 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. (58)

1.6 PROCESO DE OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO

1.6.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras de materia vegetal se recolectan en la época elegida, antes, durante o tras la floración. Se obtiene una muestra completa, de hojas, flores y tallos, y raíces en caso de que interese estudiar algún principio activo contenido en ellas, se dejan secar al aire hasta peso constante, y se separan hojas, tallos y flores, pesando cada una de las submuestras. Si es necesario, las plantas se trituran con un molinillo, aunque la molienda se puede llevar simplemente a mano, en pequeños trozos. (27)

1.6.2 CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA

Cuando lo que se va a analizar es materia vegetal con destino farmacológico, el control de calidad es muy importante en el muestreo, y hay que seguir las normas establecidas por la Farmacopea, o las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1998), y tener en cuenta una serie de parámetros, como por ejemplo el grado de división que presenta el material vegetal, el espesor del lote, el número de contenedores etc., y las determinaciones se deben hacer a partir de una muestra que sea representativa del lote completo. Una vez en el laboratorio, las plantas pasan por la primera etapa de control de calidad que consiste en evaluar sus características organolépticas (color, textura, olor), su estado de conservación (identificación de colonias de hongos o insectos), y de pureza

(contaminación con otras plantas o con partes de la planta que no son empleadas en la preparación de las Tintura). (27)

1.6.3 PERCOLACIÓN

La percolación es el procedimiento más utilizado para la preparación de tinturas y extractos fluidos, este últimos es un extracto líquido obtenido del trabajo de elaboración con materias primas naturales seleccionadas, este extracto es ideal para ser utilizado en productos finales bebibles, para la industria farmacéutica, como gotas.

El proceso de percolación se lo realiza humedeciendo el material vegetal previo a su colocación en el percolador con una cantidad apropiada del menstruo colocados en un recipiente bien cerrado y se deja en reposo por espacio aproximado de cuatro horas. Pasado ese tiempo se empaqueta convenientemente en el percolador de manera que permita el paso uniforme del líquido y el total contacto de éste con el material vegetal. Se llena de líquido y se tapa el percolador. Se abre la salida inferior hasta lograr un goteo uniforme y se cierra. Se adiciona más menstruo hasta lograr cubrir todo el material y se deja en maceración con el percolador cerrado por 24 horas. Pasado este tiempo se deja gotear lentamente y se adiciona suficiente menstruo hasta un volumen proporcional a las 3/4 partes del volumen total requerido para el producto final. Se presiona la masa húmeda residual para extraer el máximo del líquido retenido y se completa con suficiente menstruo hasta obtener la proporción adecuada, se filtra o se clarifica por decantación y se concentra en in rotavapor. (36) (48)

1.6.4 CONTROL DE CALIDAD

Este líquido filtrado se somete a ciertas pruebas de laboratorio para comprobar que el proceso de percolación transcurrió adecuadamente y que el producto cumple con los estándares de calidad. (27)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitoquímica, Laboratorio de Farmacología, Laboratorio de Microbiología y en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

PARROQUIA: Lizarzaburu

CANTÓN: Riobamba

PROVICNIA: Chimborazo

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

En la experimentación se utilizaron ratas Wistar de laboratorio cepa *Rattus norvegicus*. Para el ensayo de toxicidad aguda se utilizaron ratones de laboratorio cepa *Mus musculus*. Estos reactivos biológicos fueron obtenidos en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias. ESPOCH.

2.2.1.1 Clasificación

Rattus norvegicus.

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Familia: Muridae

Subfamilia: Murinae

Género: Rattus

Especie: *R. norvegicus*

Mus musculus

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Familia: Muridae

Subfamilia: Murinae

Género: Mus

Especie: *M. musculus*

2.2.1.2 Descripción

Peso promedio: Ratas: 125-140 g ± 5 g

Ratones: 33-38 g ± 2 g

Edad: 40 días

Sexo: Machos y Hembras

Lugar de Nacimiento: Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. ESPOCH.

2.2.1.3 Condiciones

Humedad relativa: 55% ± 10

Temperatura: 22°C ± 2

Periodos de luz-oscuridad: 12 horas c/u

2.2.2 MATERIA PRIMA

Se utilizaron un kilo de planta seca y pulverizada de *Achillea* (*Achillea millefolium L.*) y *Guaviduca* (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*). La materia prima fue conseguida en las instalaciones de la Asociación de Productores de Plantas Medicinales del Chimborazo “Jambi Kiwa” ubicada e la ciudad de Riobamba. La elección de la materia prima se realizó tomando en cuenta el porcentaje de principio activo que posee en cada una de sus partes.

2.2.3 EQUIPOS

- Autoclave Fedegari
- Balanza analítica Boeco
- Espectrofotómetro
- Estufa Memment
- Mufla Snol 8,2/100-1LZ
- pH-metro Hanna
- Refractómetro Pzo-warsawa
- Refrigerador Durex
- Rotavapor Heidolph
- UV Chromatovue CC-20

2.2.4 MATERIALES DE LABORATORIO Y OTROS

- Alfileres
- Algodón
- Asa de platino
- Aserrín

- Balones de aforo de 10, 25, 50, 100, y 250 mL
- Balones esmerilados de 500 y 100 mL
- Botellas ámbar para percolación
- Caja petri
- Canasta
- Cánula metálica para administración oral
- Cápsulas de porcelana
- Crisol
- Cuba de vidrio para anestesia
- Desecador
- Embudos
- Embudo Büchner
- Embudos de separación
- Equipo de disección
- Equipo de venoclísis
- Erlenmeyer de 100 y 250 mL
- Espátula
- Fundas rojas para desechos infecciosos
- Fundas negras para desechos comunes
- Frascos ámbar 250 y 500 mL
- Frascos plásticos para muestra de orina
- Gradilla
- Guantes quirúrgicos
- Hisopos estériles
- Hojas de visturí
- Jeringuillas de 1 y 3 mL
- Kitasato
- Lupa
- Mangueras
- Mascarilla

- Molino Manual
- Mortero y pistilo
- Núcleos de ebullición
- Papel filtro
- Perchas
- Picnómetro
- Pinzas para bureta
- Pinza para cápsula
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL graduadas
- Pizeta
- Placas cromatográficas
- Refrigerante
- Reverbero eléctrico
- Soporte universal
- Toallas adsorbentes
- Tripode
- Tubos de ensayo
- Vaselina
- Vasos precipitación de 250, 50, 100, y 500 mL
- Vidrio reloj
- Varilla de agitación

2.2.4 REACTIVOS

- Ácido clorhídrico al 1%
- Acido clorhídrico concentrado
- Ácido sulfúrico concentrado
- Agares correspondientes para la determinación de patógenos
- Agua destilada
- Alcohol amílico

- Alcohol potable
- Anhídrido acético
- Cinta de magnesio metálico
- Cloroformo
- Éter
- Hidróxido de potasio o Sodio
- Omeprazol de 20 mg de laboratorios La Santé
- Metanol
- Reactivo de Baljet
- Reactivo Dragendorff
- Reactivo Wagner
- Solución de carbonato de sodio
- Solución de Ninhidrina al 5%
- Suero Fisiológico
- Tricloruro férrico al 5%

2.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA

2.3.1.1 Determinación de humedad

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación debe ser inferior al 10%, para evitar los procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca.

Se pesa 2g de droga seca y pulverizada en una cápsula de porcelana previamente tarada. Se coloca en una estufa a $103^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, pesándola cada media hora hasta peso constante. Se enfría en el desecador hasta temperatura ambiente y se procedió a pesar.

Fórmula:

$$\%H = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} * 100$$

Donde:

m=masa de la cápsula vacía en g

m₁=masa de la cápsula con la muestra antes del calentamiento en g

m₂=masa de la cápsula con la muestra después del calentamiento en g

2.3.1.2 Determinación de cenizas totales

Representan el contenido en sales minerales o en materia inorgánica de la droga. Las cenizas dan una idea del contenido en materia mineral de la planta, que suele ser menor al 12%.

Se coloca la cápsula con la muestra seca resultado de la determinación del contenido de humedad sobre un mechero y en la sorbona, para calcinar hasta ausencia de humos. Luego se transfiere la cápsula a la mufla y se incinera a 500°C – 550°C, hasta obtener cenizas libres de residuo carbonoso. Se coloca la cápsula en un desecador hasta que alcance temperatura ambiente y se pesa.

Fórmula:

$$\%C = \frac{p_3 - p_1}{p_2 - p_1} * 100$$

Donde:

p₁=peso de la cápsula vacía en g

p₂= peso de la cápsula con la muestra antes de la incineración en g

p₃= peso de la cápsula con la muestra calcinada en g

2.3.1.3 Determinación de cenizas solubles en agua

A las cenizas totales se añade de 15 a 20 mL de agua. La cápsula se tapa y se pone a hervir suavemente directo a la llama del reverbero durante 5 minutos. La solución se filtra a través de papel filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere a la cápsula inicial, se carboniza en un reverbero y luego se incinera en una mufla de 500 – 550°C, durante 2 horas. Posteriormente se coloca en el desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar un peso constante.

Fórmula:

$$\%C = \frac{p_3 - p_4}{p_2 - p_1} * 100$$

Donde:

%C=contenido de cenizas solubles en agua

p₁=peso de la cápsula vacía en g

p₂= peso de la cápsula con la muestra en g

p₃= peso de la cápsula con la muestra calcinada en g

p₄=peso de la cápsula con las cenizas insolubles en agua en g

2.3.1.4 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

A las cenizas totales se le añade de 2 a 3 mL de ácido clorhídrico al 10%. La cápsula se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviente durante 10 minutos. Se lava el vidrio reloj con 5 mL de agua caliente y se une al contenido de la cápsula. La solución se filtra a través de un papel filtro; se lava el residuo con agua caliente hasta que al añadirle al filtrado acidulado con ácido nítrico: 1 o 2 gotas de nitrato de plata 0.1 Molar, no muestre la presencia de cloruros. El papel filtro con el residuo se transfiere a la cápsula inicial, se carboniza en un reverbero y luego se incinera en la mufla a 500-550°C

durante tres horas. Posteriormente se coloca en el desecador y cuando alcance temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener peso contante.

Fórmula:

$$\%C = \frac{p_3 - p_5}{p_2 - p_5} * 100$$

Donde:

%C=contenido de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

p₂= peso de la cápsula con la muestra en g

p₃= peso de la cápsula con la muestra calcinada en g

p₅=peso de la cápsula con las cenizas insolubles en ácido clorhídrico en g

2.3.1.5 Determinación de sustancias solubles

De la muestra de ensayo previamente pulverizada y tamizada se pesa 5g y se transfiere a un frasco cónico con tapa con capacidad de 250 mL. Se le añade 100 mL de agua y se agita constantemente durante 6 horas. Dejar en reposo 24 horas, luego se agitan 30 minutos y se filtra por papel. Se toma una alícuota de 20 mL. Se transfiere a una cápsula de porcelana previamente tarada, evaporar sobre baño de agua, se deseca en estufa a 105°C, durante 3 horas, se enfría en un desecador y se pesa. El ensayo se realiza por triplicado.

Fórmula:

$$\%Ss = \frac{R * 500 * 100}{M * (100 - H)}$$

Donde:

%Ss. = porcentaje de sustancias solubles en base hidratada

H= humedad

R= Residuo de la muestra en %

M= Masa de la muestra de ensayo

2.3.1.6 Determinación de flavonoides

Se Mezcla 1g de droga en polvo con 10 mL de metanol por 5min en un baño de agua (60°C), luego se toma 5 mL de la solución y se concentra hasta sequedad, se coloca 2 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo, agitar por 10min, se separa la fase de etil acetato y concentrar hasta obtener un volumen de 1 mL. Usar el concentrado para la cromatografía.

Aplicar 10uL del concentrado en una placa cromatográfica de sílica gel 60F254 con la ayuda de un capilar y se deja secar después de cada aplicación. Se introduce la placa en la cuba cromatográfica, hasta que el solvente recorra las $\frac{3}{4}$ partes de la placa. Retirar de la cuba y dejar secar para luego observar en una lámpara de UV 365nm. Revelar la placa y dejar secar, calentar la estufa y anotar los Rf.

Adsorbente: Sílica gel 60F₂₅₄

Solventes: Cloroformo-acetona-ácido fórmico (75:16.5:8.5)

Revelador: Sulfato de Cerio (Cerio 0.06g-Acido nítrico concentrado 20 mL)

Fórmula:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

2.3.1.7 Cuantificación de flavonoides

Se pesa 1g de muestra y se coloca en un balón de 250 mL, se añade 20 mL de etanol al 50% y 8 mL., de ácido sulfúrico concentrado y se deja reflujar por 2 horas en baño de agua. Luego de este proceso se deja enfriar y se filtra a través de embudo Büchner lavando el residuo con 10 mL de etanol al 50% para desecharlo finalmente. El filtrado se evapora en baño de agua hasta la mitad del volumen inicial se deja enfriar sobre un baño de agua fría durante 30min, se filtra, el papel con el residuo se lava con 70 mL de etanol

al 96% caliente a 50°C, se trasvasa a un balón volumétrico de 100 mL y se afora con etanol al 96% y se procede a determinar la absorbancia a 258 nm.

Como patrón se emplea 0.04g de quercetina, los cuales se debe disolver con etanol al 96% hasta completar un volumen de 50 mL., de esta solución tomar 1 mL, y se diluye a 100 mL, con etanol al 50%. El blanco consiste en una solución de etanol al 50%.

Fórmula:

$$X = \frac{A_m * P_r * 5}{A_r} * 100$$

Donde:

X= Contenido de flavonoides expresados como quercetina (%)

A_m= Absorbancia de la solución muestra (nm)

P_r= Peso de la sustancia de referencia en g

A_r= Absorbancia de la solución de referencia (nm)

2.3.2 ELABORACIÓN DE EXTRACTOS

2.3.2.1 Extracto fluido

Se realizó mediante el método de percolación. A 100 g de material vegetal seco y molido se añade 200 mL de alcohol al 96% para humectar la planta por el tiempo mínimo de 1 hora, se mezcla y se mueve continuamente. Se coloca algodón en el fondo del percolador y se coloca la planta humectada. Posteriormente se coloca la cantidad necesaria del alcohol al 96% hasta que cubra la planta. Se cubre con papel filtro y se tapa el percolador con papel aluminio. Se deja reposar al menos 16 horas. Luego se obtiene el percolador 100 mL del extracto (velocidad de 40 gotas/min) y se guarda en un frasco ámbar. Se guarda en el congelador para estabilizar. Posteriormente se evapora el disolvente extractor en rotavapor a 100rpm y a una temperatura de 60°C, con el propósito de que el peso de la disolución sea igual al de la droga seca de la cual se inició, de forma

que 1 g de extracto fluido contiene aproximadamente la misma cantidad de principios activos que 1 g de la droga seca de partida.

2.3.3 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS

2.3.3.1 Determinación de requisitos organolépticos

– Determinación del Color

En un tubo de ensayo se llena las 3 cuartas partes con el extracto fluido, se observa el color, la presencia de partículas y la transparencia.

– Determinación del Olor

Se introduce un extremo de una tira de papel secante en la muestra de ensayo. Se determina con el olfato las características del producto.

– Determinación del Sabor

Apreciar determinadamente la sensación que ciertas sustancias producen en el órgano del gusto.

– Determinación del Aspecto

Se analiza el aspecto externo, teniendo en cuenta la presencia o no de partículas.

2.3.3.2 Determinación de la densidad relativa

Se pesa el picnómetro vacío y seco a 2°C y se llena la porción de ensayo, manteniéndolo a temperatura de 25°C durante 15 minutos, se seca el exceso. Se pesa cuidadosamente el

picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25°C.

Fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_2 - M}{M_1 - M}$$

Donde:

D(25)=Densidad relativa a 25°C

M=peso del picnómetro vacío en g

M₁=peso del picnómetro con la muestra en g

M₂=peso del picnómetro con agua en g

2.3.3.3 Determinación del índice de refracción

Se mide en un refractómetro de Abbe, calibrando el equipo con agua destilada. Se procede a levantar cuidadosamente la tapa del refractómetro y limpiar con papel filtro, se coloca la muestra (extracto), se observa y se anotan los resultados.

Fórmula:

$$n_d^{20} = n' + 0.00044 (T - 20)$$

Donde:

(n)²⁰ = índice de refracción corregido

(n^T)^d = índice de refracción determinado

0.00044 y 20 = factores de corrección matemático

T = temperatura a la que se realiza la lectura.

2.3.3.4 Determinación del pH

Se toma una alícuota de 25 mL., de la muestra y procedemos a medir directamente en el equipo de pH previamente calibrado.

2.3.3.5 Determinación de los sólidos totales

Transferir a una cápsula previamente tarada, 5 mL de muestra y llevar a baño María, completar la evaporación en estufa a 105°C, por 3 horas, se pesan las cápsulas, y se repite el procedimiento hasta peso constante con intervalos de 30 minutos. Los resultados se expresan en porcentaje de sólidos totales y se reportan en cifras enteras, según su fórmula.

Fórmula:

$$St = \frac{Pr - P}{V} * 100$$

Donde:

St= porcentaje de sólidos totales

Pr = masa en de la capsula más el residuo en g

P = masa en de la cápsula vacía en g

V = volumen de la porción del ensayo en mL

100 = factor matemático

2.3.4 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

A los extractos fluidos obtenidos se les realizaron diferentes ensayos con reacciones químicas de identificación, mediante cambios de color o formación de precipitados, para determinar la presencia de metabolitos secundarios.

2.3.4.1 Reacciones para la identificación de alcaloides

– Ensayo de Dragendorff

Si el extracto está disuelto en solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1% en agua. Con la solución ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia (+), turbidez definida (++), precipitado (+++).

– Ensayo de Wagner

Se procede de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. A esta solución se le adiciona 2 ó 3 gotas del reactivo de Wagner, si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++), precipitado (+++).

2.3.4.2 Reacción para la identificación de compuestos lactónicos

– Ensayo de Baljet

Se trabaja con dos reactivos el reactivo A y el reactivo B, el A se prepara con la adición de 1g de ácido pícrico en etanol al 95%. El reactivo B 10g de NaOH en 100 mL de agua. Se toma 2 mL de muestra y se le adiciona 10gts de Reactivo A+B. Se observa color considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente.

2.3.4.3 Reacción para identificación de quinonas

– Ensayo de Borntrager

Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo debe redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta que las fases se separen. El ensayo es positivo cuando la fase alcalina se colorea de rosado en este caso se reporta (++), o rojo para lo cual se reporta (+++).

2.3.4.4 Reacción para identificación de triterpenos y/o esteroides

– Ensayo de Liebermann – Buchard

Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo debe redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla. Por las paredes del tubo se deja resbalar 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado, sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por cambio rápido de coloración:

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

2.3.4.5 Reacción de identificación de flavonoides

– Ensayo de Shinoda

Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye la muestra con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y limaduras de magnesio. Después de la reacción se espera

5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo, intensos en todos los casos.

2.3.4.6 Reacción para la identificación de catequinas

– Ensayo de Catequinas

Con la ayuda de un capilar se toma una gota de la solución alcohólica y se aplica sobre el papel filtro. Sobre la mancha se aplica solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica positiva la prueba.

2.3.4.7 Reacción para la identificación de resinas

– Ensayo de Resinas

A 2 mL de solución alcohólica 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica ensayo positivo.

2.3.4.8 Reacción para la identificación de azúcares reductores

– Ensayo de Fehling

Si la alícuota de un extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 a 2 mL de agua. Se adicionan 2 mL de reactivo de Fehling y se calienta en baño de agua 5 – 10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o hay la presencia de precipitado rojo.

2.3.4.9 Reacción de identificación de saponinas

– Ensayo de Espuma

Si la alícuota se encuentra en alcohol se le añaden 5 partes de agua se agita enérgicamente durante 5 – 10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

2.3.4.10 Reacción de identificación de compuestos fenólicos y/o taninos

– Ensayo de Cloruro férrico

Si el extracto de la planta se encuentra en alcohol, se determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0,9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se le añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

1. Desarrollo de una coloración rojo – vino compuestos fenólicos en general.
2. Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
3. Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalactónicos. (16)

2.3.4.11 Reacción para la identificación de compuestos grasos

– Ensayo de Sudan

Cuando un extracto etéreo se evapora a sequedad en presencia de una solución de Sudan III al 0.6% en glicerina-agua (1:1). La presencia de gotas oleosas de color rojo oscuro, indica la presencia de lípidos y/o Aceites esenciales.

2.3.4.12 Reacción para la identificación de estructuras $c_6-c_3-c_6$ del grupo de los flavonoides

– Ensayo de Antocianidinas

Se calienta 2 mL del extracto etanólico por 10 minutos con 1 mL de HCl concentrado. Dejar enfriar y luego adicionar 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Agitar y dejar separar las 2 fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, indica ensayo positivo.

2.3.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

2.3.5.1 Método de conteo de aerobios mesófilos totales en placa

Se pesan 25 g de materia vegetal en un erlenmeyer estéril, agregar 250 ml de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} . Dejar reposar 1 hora. De esta dilución tomar 1 ml y mezclar con 9 ml de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2} . De este modo realizar otras diluciones. Se preparan tubos de ensayo tapa rosca con 15 ml de medio de cultivo PCA (Plate Count Agar). A cada tubo con agar se adiciona 1 ml de la dilución preparada en el agua peptonada al 0.1%, se homogeniza y el contenido de cada tubo verter en cajas petri. Se incuba a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas. Transcurrido este tiempo, realizar la lectura.

Contar las colonias que se desarrollan y se anotan el resultado de las placas con mayor número de colonias.

2.3.5.2 Determinación de coliformes fecales

A) PRUEBA PRESUNTIVA

Se pesan 25 g de materia prima vegetal en un erlenmeyer estéril. Agregar 250 ml de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar. De este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} . Dejar reposar 1 hora, de esta dilución tomar 1 ml y mezclar con 9 ml de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2} , se coloca 1 ml de cada una de las diluciones en 10 ml de caldo lactosado. Incubar por 24-48h a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas)

B) PRUEBA CONFIRMATORIA

De los tubos positivo en el caldo lactosado tomar 2 o 3 asadas y sembrar en tubos 10 ml de caldo E, incubar por 24-48h a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas)

El número de microorganismos aceptados para este tipo de material es:

Para Coliformes fecales:

ACEPTABLE: $<10\text{NMP/mL}$

INACEPTABLE/RECHAZADO: $>10\text{NMP/mL}$

2.3.6 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA EN RATAS

El período de aclimatación del animal de experimentación duró por un tiempo de 3 días mediante la dotación de alimento según el peso de cada grupo en una ración de 8 g de alimento por cada 100 g de peso corporal.

Para la experimentación se utilizaron ratas (machos y hembras) de 125-140 g \pm 5g de peso. Los animales se mantuvieron en ayunas durante 24 horas antes de iniciar la experimentación, dejándoles únicamente con agua ad libitum.

Se utilizó extractos libres de Etanol, evaporando el mismo en un rotavapor, reconstituidos con suero fisiológico.

Como medicamento patrón se utilizó Omeprazol, el cual se trituro y se disolvió en agua destilada la cantidad adecuada para administrar una dosis de 20 mg/kg.

2.3.6.1 Protocolo experimental

- Etiquetar a cada uno de los lotes con los cuales se va a trabajar.
- Transcurridas las 24 horas del ayuno se procedió a anestesiarse a cada animal en una cuba de vidrio con algodón empapado de éter, cuidadosamente se administró 1 ml de etanol al 96% por vía oral a los lotes de animales sujetos a experimentación (durante dos días) a excepción del blanco, se dejó a los sujetos de experimentación únicamente con agua ad libitum por un período de 18 a 24 h.
- Pasado este tiempo se administró 1 mL / 100gr de peso del animal de los extractos (reconstituidos en suero fisiológico) de Achillea y Guaviduca en función de la tabla N° 3, el tratamiento se repite cada 24 horas por un periodo de 6 días.
- Transcurrido el período de administración se realizó a la disección de los animales, previamente pesados.
- Se procedió a extraer los estómagos, los cuales fueron abiertos por la curvatura mayor,

lavados con sueros fisiológicos y extendidos para lograr una completa exposición de la mucosa para el análisis macroscópico; el cual se realizó con la ayuda de una lupa. La evaluación cuantitativa macroscópica se hizo por medio un análisis cualitativo macroscópico y microscópico, expresado como el grado de lesiones (lesiones hemorrágicas y enrojecimiento de la mucosa gástrica) y congestión vascular respectivamente. Estos resultados fueron tabulados de acuerdo al grado de gravedad, que se expresó como un número de cruces correspondiente a un mayor grado de gravedad y como cero para los estómagos con ausencia de lesiones a la evaluación macroscópica.

- El grado de ulceración se cuantifica utilizando la Escala Marhuela observando la presencia congestión del tejido, extensión y número de las úlceras en la zona mucosa.
- Las muestras extraídas fueron colocadas en recipientes plásticos con una solución de formol al 10%.
- Posteriormente se realizó cortes histológicos de las muestras para el estudio histopatológico.

TABLA N°3: PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA EN RATAS. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS OCTUBRE 2011.

GRUPO	BLANCO	CONTROL (+)	CONTROL (-)	EXTRACTO DE ACHILLEA	EXTRACTO DE GUAVIDUCA	EXTRACTO DE ACHILLEA (50%) Y EXTRACTO DE GUAVIDUCA (50%)
G1	A1	B1	C1	X1	Y1	Z1
G2	A2	B2	C2	X2	Y2	Z2
G3	A3	B3	C3	X3	Y3	Z3

A= Ratas sin ulceraciones y sin tratamiento.

B= Ratas con ulceraciones tratadas con Omeprazol.

C= Ratas con ulceraciones sin tratamiento.

X= Ratas con ulceraciones tratadas con Extracto de Achillea.

Y= Ratas con ulceraciones tratadas con Extracto de Guaviduca.

Z= Ratas con ulceraciones tratadas con Extracto de Achillea y Extracto de Guaviduca.

2.3.6.2 Análisis macroscópico

Las lesiones producidas en la capa muscular del estómago se clasifican mediante la escala de Marhuenda, además se calcula el porcentaje de inhibición.

Fórmula:

$$\% \text{ Inhibicion} = \frac{\text{I.U.c} - \text{I.U.p}}{\text{I.U.c}} \times 100$$

Donde:

I.U.c: Índice de ulceración medio del lote patrón

I.U.p: Índice de ulceración medio

Mayor o igual a 80%: se acepta.

Menor a 80%: se rechaza.

2.3.6.3 Análisis histopatológico

Este análisis se lo realizó en Laboratorio de Histopatología de la Unidad Oncológica Solca de Chimborazo, con la ayuda del Dr. Javier Robles.

El análisis histopatológico del tejido gástrico de los sujetos de experimentación fue llevado a cabo por el Dr. Oswaldo Duque A. Médico Patólogo.

2.3.6.4 Tratamiento estadístico

Debido a que se obtuvo datos cualitativos se procedió a expresarlos en porcentajes con los cuales se buscó realizar la prueba de la hipótesis aplicando ANOVA.

2.3.7 ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA

Para el estudio de la toxicidad aguda se utilizaron 4 ratones (machos) con un peso de 33-38 g \pm 2g, durante 3 días se les mantuvo con una dotación de alimento según el peso de cada grupo en una ración de 2g de alimento por cada 10g de peso corporal. Los animales se mantuvieron en ayunas durante 24 horas antes de iniciar la experimentación, dejándoles únicamente con agua ad libitum. Con excepción del blanco, se procedió a administrar 1 mL de la mezcla homogénea de extracto de Achillea y Guaviduca durante un periodo de 15 días, transcurrido este tiempo se procedió a sacrificar al animal de experimentación (dislocación cervical), seguidamente se realizó la disección de los animales previamente pesados, se procedió a extraer órganos como los riñones y el hígado, seguido de un análisis macroscópico, las muestras extraídas fueron colocadas en recipientes plásticos con una solución de formol al 10%. Posteriormente se envió al Laboratorio de Histopatología de la Unidad Oncológica Solca para el respectivo análisis histopatológico.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA ACHILLEA (*Achillea millefolium L.*) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*)

Para el análisis se obtuvo el material vegetal seco en la Asociación de Productores de Plantas Medicinales del Chimborazo “Jambi Kiwa”, la materia prima fue molida en molino de mano hasta obtener un polvo, al cual se le realizó el control de calidad.

3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

CUADRO N°1: HUMEDAD DE LAS PLANTAS ACHILLEA (*Achillea millefolium L.*) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) UTILIZADA COMO MATERIA PRIMA. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

MATERIA PRIMA	% HUMEDAD	ESPECIFICACIÓN
Achillea	7.10	< 10%
Guaviduca	8.12	

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En el cuadro N° 1 se muestra el porcentaje de humedad presente en las plantas secas de Achillea con 7.10% y Guaviduca con 8.12%, expresando valores que se encuentran dentro de los límites establecidos dados para materia prima vegetal (< 10%) evitando de este modo el enmohecimiento, la acción de las enzimas y de las bacterias en el proceso de almacenamiento, favoreciendo así a la conservación y facilitando la trituración y molienda, siendo útil su uso para la investigación a realizar.

3.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

CUADRO N°2: CENIZAS DE LAS PLANTAS ACHILLEA (*Achillea millefolium* L.) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) UTILIZADA COMO MATERIA PRIMA. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

CENIZAS	ACHILLEA	GUAVIDUCA	ESPECIFICACIÓN
C. Totales	7.6	9.3	< 12%
C. Solubles en Agua	2.8	3.5	<7%
C. Insolubles en HCl	1.1	1.3	<5%

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En el cuadro N° 2 se expresa los resultados del porcentaje de cenizas totales, solubles en agua en insolubles en ácido clorhídrico presente en las plantas secas de Achillea (7.6, 2.8, 1.1%) y Guaviduca (9.3, 3.5, 1.1%) respectivamente, expresando valores que se encuentran dentro de las especificaciones para materia prima vegetal, si los valores son superiores a los establecidos la droga deberá rechazarse, ya que la cantidad de cenizas presentes en la muestra es un indicativo de la calidad de la misma la cual indica la cantidad de componentes inorgánicos presentes en la materia prima a utilizar.

3.1.3 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

CUADRO N°3: SUSTANCIAS SOLUBLES PRESENTES EN LAS PLANTAS ACHILLEA (*Achillea millefolium* L.) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) UTILIZADA COMO MATERIA PRIMA. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

MATERIA PRIMA	% SUSTANCIAS SOLUBLES
Achillea	5.14
Guaviduca	4.6

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En el cuadro N° 3 se expresa los resultados del porcentaje de sustancias solubles presentes en las plantas secas de Achillea con 5.15% y Guaviduca 4.06 % que da un

indicio de la cantidad de ingredientes activos que contiene cada una de las plantas. Es uno de los métodos más importantes para seleccionar los mejores disolventes de extracción.

3.1.4 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

CUADRO N°4: Rf DE UNA MUESTRA DE GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

MANCHAS OBSERVADAS	CÁLCULO Rf
1	$Rf = 0.3/8 = 0.037$
2	$Rf = 4.2/8 = 0.53$
3	$Rf = 5.4 /8 = 0.68$
4	$Rf = 6.8/8 = 0.85$
5	$Rf = 7.6/8 = 0.95$
6	$Rf = 7.9/8 = 0.99$

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

CUADRO N°5: Rf DE UNA MUESTRA DE ACHILLEA (*Achillea millefolium L.*) CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

MANCHAS OBSERVADAS	CÁLCULO Rf
1	$Rf = 1.3/8 = 0.16$
2	$Rf = 5.5/8 = 0.69$
3	$Rf = 7.3 /8 = 0.91$
4	$Rf = 7.6/8 = 0.95$
5	$Rf = 7.9/8 = 0.99$

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

CUADRO N°6: Rf DE UNA MUESTRA DE QUERCETINA COMO REFERENCIA PARA LA PRESENCIA DE FLAVONOIDES. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

MANCHAS OBSERVADAS	CÁLCULO Rf
1	$Rf = 5.4/8 = 0.68$

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En los cuadros N° 4 y 5 se expresan los valores de los Rf de cada sustancia que quedan al analizar el recorrido de las machas, para la Achillea y la Guaviduca se tienen dos sustancias con similar Rf al de la Quercetina (Cuadro N°6) lo que indica la presencia de flavonoides en nuestra muestra, dato que concuerda con bibliografía. Las manchas obtenidas se pueden observar en el Anexo 5 Fotografía 4.

3.1.5 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

CUADRO N°7: CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES EXPRESADO EN % DE QUERCETINA EN LAS PLANTAS ACHILLEA (*Achillea millefolium* L.) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) UTILIZADAS COMO MATERIA PRIMA. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

FLAVONOIDES TOTALES	ACHILLEA	GUAVIDUCA
% de Quercetina	1.94	1.52

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En el cuadro N° 7 tenemos los resultados de la concentración de flavonoides expresado como porcentaje de quercetina indicando que existe mayor cantidad de flavonoides (% Quercetina) en la Achillea y un porcentaje menor en la Guaviduca, contribuyendo para que se ejerza su acción gastroprotectora en los dos casos.

3.2 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS

3.2.1 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA

CUADRO N°8: DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE ACHILLEA (*Achillea millefolium* L.) y GUAVIDUCA (*Piper carpubya* Ruiz & Pav.). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

PARÁMETRO	ACHILLEA	GUAVIDUCA
COLOR	Verde amarillento	Verde oscuro
OLOR	Aromático	Aromático, ligero olor a especia
SABOR	Astringente	Astringente
ASPECTO	Líquido fluido, ausencia partículas	Líquido fluido, ausencia partículas

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En el cuadro N° 8 se expresan los resultados del análisis de las propiedades organolépticas de los extractos fluidos de Achillea y Guaviduca presentando para cada uno un olor y color característico, así se tiene que la Achillea tiene un olor ligeramente aromático y la Guaviduca posee un ligero olor a especias el cual resulta agradable, su color no difiere significativamente, su sabor y aspecto son similares.

3.2.2 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS

CUADRO N°9: PARÁMETROS FÍSICOS DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE ACHILLEA (*Achillea millefolium* L.) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.). LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

PARÁMETRO	ACHILLEA	GUAVIDUCA
pH	5.50	5.92
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1.378	1.382
DENSIDAD RELATIVA	1.1023	1.1204
SÓLIDOS TOTALES	5.903	6.485

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En el cuadro N° 9 se expone los resultados de cada una de las determinaciones de los parámetros físicos de los extractos de Achillea y Guaviduca, así se tiene que la densidad relativa para la Achillea (1.1023) y Guaviduca (1.1204), los resultados expresados en la medición del pH tienden a la acidez, las propiedades ácido base de los flavonoides indican que en un medio ácido los radicales flavonoides son neutros, de manera que no afectaría su estabilidad, todos los valores correspondientes al análisis de los parámetros físicos se encuentran acorde a las especificaciones presentadas por la OMS para extractos en general.

3.2.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Mediante el ensayo fitoquímico se pudo determinar la presencia de metabolitos secundarios, para lo cual se utilizó ensayos químicos que expresaban resultados positivos con cambios de coloración y/o formación de precipitados.

CUADRO N°10: TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE ACHILLEA (*Achillea millefolium L.*) y GUAVIDUCA (*Piper carpubya Ruiz & Pav.*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. DICIEMBRE 2011.

METABOLITO	ENSAYO	EXTRACTO	
		ACHILLEA	GUAVIDUCA
ALCALOIDES	Dragendorff	(+++)	(++)
	Wagner	(++)	(++)
COMPUESTOS LACTONICOS	Baljet	(+++)	(+)
QUINONAS	Borntrager	(+++)	(+)
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	Lieberman - Buchard	(+++)	(++)
FLAVONOIDES	Shinoda	(+++)	(++)
SAPONINAS	Espuma	(++)	(-)
TANINOS	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos en general	Taninos del tipo pirocatecólicos
AZÚCARES REDUCTORES	Fehling	(-)	(-)
COMPUESTOS GRASOS	Sudan	(+)	(+)
ANTOCIANIDINAS		(+++)	(+++)
CATEQUINAS		(++)	(-)
RESINAS		(+++)	(+++)

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

(-) Reacción negativa

(+) Intensidad baja de la reacción.

(++) Intensidad moderada de la reacción.

(+++) Intensidad alta de la reacción.

El extracto de Achillea contiene metabolitos como:

- Alcaloides
- Compuestos Lactónicos
- Quinonas
- Triterpenos
- Flavonoides
- Saponinas
- Compuestos fenólicos en general
- Antoncianidinas
- Compuestos grasos
- Resinas
- Catequinas

El extracto de Guaviduca contiene metabolitos como:

- Alcaloides
- Compuestos Lactónicos
- Quinonas
- Triterpenos
- Flavonoides
- Taninos del tipo pirocatecólicos
- Compuestos grasos
- Resinas

Estos metabolitos se pudieron identificar en el extracto alcohólico, ya que por ser un solvente de polaridad media permite la extracción ayudando a que se solubilizan mayor cantidad de compuestos, es por esta razón la utilización de este para la preparación de los extractos.

Para la Achillea existe mayor información al respecto así según Ramiro Fonnegra (Colombia.2007) contiene flavonoides como la apigenina, luteolina y quercetina,

además contiene lactonas sesquiterpénicas y los taninos. Datos que concuerdan con los resultados expuestos.

Al comparar los resultados obtenidos con referencias bibliográficas éstas concuerdan, a pesar de que para la Guaviduca existe poca información al respecto, pero gracias a este análisis se pudo identificar los metabolitos secundarios presentes en la misma.

La actividad gastroprotectora se debe a la presencia principalmente del grupo de los flavonoides, además ciertos metabolitos como los taninos ayudan en la protección de la mucosa gástrica.

3.2.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CUADRO N°11: NÚMERO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS Y COLIFORMES TOTALES EN LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE ACHILLEA (*Achillea millefolium L.*) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*). LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA. ESPOCH. ABRIL 2012.

MICROORGANISMOS	EXTRACTO DE AHILLEA + GUAVIDUCA
Aerobios Mesófilos UFC/mL	<10
Coliformes totales ufc/mL	<10

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En el cuadro N° 11 se expresan los valores de Aerobios Mesófilos y Coliformes Totales los cuales cumplen con límites microbiológicos permitidos en productos de este tipo causante de esto es el solvente utilizado para la elaboración de los extractos el cual evita la proliferación de microorganismos.

3.3 ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA (*Achillea millefolium L.*) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*)

El estudio se efectuó en ratas de experimentación para lo cual se distribuyó al azar en seis grupos, cada uno de los cuales estaba conformado por 3 animales, la administración de los productos fue vía oral, en una proporción de 1 mL / 100gr de peso del animal dos días después de la inducción de las úlceras, la dosis a administrar tiene 0.5 g de planta / por cada ml de extracto, el cual corresponde a una concentración de flavonoides de 0.97% para la Achillea y 0.76% para la Guaviduca. Transcurridas 6 días de administración los animales se sacrificaron y se cuantificaron las úlceras.

CUADRO N°12: PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DE EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA (*Achillea millefolium L.*) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) EN RATAS. ESPOCH. ENERO 2012.

GRUPO	A	B	C	X	Y	Z
G1	A1	B1	C1	X1	Y1	Z1
G2	A2	B2	C2	X2	Y2	Z2
G3	A3	B3	C3	X3	Y3	Z3

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

A= Ratas sin ulceraciones y sin tratamiento.

B= Ratas con ulceraciones tratadas con Omeprazol.

C= Ratas con ulceraciones sin tratamiento.

X= Ratas con ulceraciones tratadas con Extracto de Achillea.

Y= Ratas con ulceraciones tratadas con Extracto de Guaviduca.

Z= Ratas con ulceraciones tratadas con Extracto de Achillea y Extracto de Guaviduca.

CUADRO N°13: CONTROL DE PESO INICIAL Y FINAL DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN EN EL PROCESO DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA. ESPOCH. ENERO 2012.

	GRUPO 1		GRUPO 2		GRUPO 3	
	Peso inicial (±5g)	Peso final (±5g)	Peso inicial (±5g)	Peso final (±5g)	Peso inicial (±5g)	Peso final (±5g)
BLANCO	135.3	154.5	127.3	135.4	127.5	136.2
CONTROL(+)	118.2	122.0	126.6	154.6	162.5	178.3
CONTROL(-)	136.4	114.4	145.0	126.3	130.6	119.4
ACHILLEA	160.9	164.8	154.2	179.9	146.6	148.2
GUAVIDUCA	154.8	158.3	136.9	141.5	142.2	158.0
ACHILLEA + GUAVIDUCA	120.6	143.26	139.5	158.5	147.1	160.2

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En el cuadro N°13 se expresan los valores de los pesos inicial y final evidenciándose la variación de estos datos, existiendo un aumento de peso con el Blanco, tratamiento Achillea, tratamiento Guaviduca y la mezcla de los dos extractos, por el contrario para el control negativo existe una pérdida considerable de peso debido a que el animal de experimentación se encontraba afectado por las ulceraciones causadas, además no se le administró ningún tratamiento, factores que ocasionaron que disminuyera su apetito y su nivel de alerta.

CUADRO N°14: GRADO DE ULCERACIÓN DE LOS ESTÓMAGOS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN EN EL PROCESO DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA SEGÚN ESCALA MARHUENDA

GRUPO	GRADO DE ULCERACIÓN		
	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3
BLANCO	0	0	0
CONTROL(+)	1	0	0
CONTROL(-)	7	7	7
ACHILLEA	0	0	0
GUAVIDUCA	0	0	0

ACHILLEA + GUAVIDUCA	0	0	0
---------------------------------	---	---	---

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En el cuadro N° 14 se expresan los resultados del análisis macroscópico midiendo el grado de ulceración según la escala Marhuenda evidenciando que la mucosa gástrica se encuentra íntegra, en el caso del control negativo se encontraron úlceras hemorrágicas de longitud menor de 5 mm y diámetro menor de 2 mm, en el control positivo donde se administró omeprazol existió una cicatrización total de las lesiones, de igual manera sucedió con los tratamientos de cada extractos y la mezcla de los dos, existiendo una cicatrización y recuperación completa de la mucosa gástrica.

CUADRO N°15: PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE ÚLCERAS GÁSTRICAS EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN DESPUÉS DE SEIS DÍAS DE TRATAMIENTO.

GRUPO	PORCENTAJE DE INHIBICIÓN (%)		
	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3
BLANCO	-	-	-
CONTROL(+)	85.71	100	100
CONTROL(-)	0	0	0
ACHILLEA	100	100	100
GUAVIDUCA	100	100	100
ACHILLEA + GUAVIDUCA	100	100	100

FUENTE: QUINTANA, K. 2012

En el cuadro N° 15 se expresan los resultados del porcentaje de inhibición de las úlceras a nivel gástrico para lo cual se tomó en cuenta como lote patrón el control negativo ya que es el grupo con mayor número de ulceraciones, así se tuvo que el blanco no puede poseer porcentaje de inhibición ya que a este grupo no se le indujo las úlceras, para el control negativo se tiene un 0% de inhibición, para el grupo 1 del tratamiento con Omeprazol se tiene 85.71% dato que se considera aceptable, para el resto de tratamientos

se tiene un 100 % de inhibición del grado de ulceración datos que favorecen a la investigación.

CUADRO N°16: PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE LA EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA (*Achillea millefolium* L.) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.) EN RATAS. FEBRERO 2012.

GRUPO	ESTUDIO MICROSCÓPICO
BLANCO	Mucosa gástrica íntegra, glándulas de estructura arquitectónica normal, composición de lámina propia normal.
CONTROL(+)	Mucosa gástrica regenerada con moderada congestión vascular.
CONTROL(-)	Presencia de ulceraciones en la mucosa gástrica con reacción de polimorfonucleares e infiltrado agudo en el fondo.
ACHILLEA	Mucosa gástrica regenerada con ligera congestión vascular.
GUAVIDUCA	Mucosa gástrica regenerada con ligera congestión vascular.
ACHILLEA + GUAVIDUCA	Mucosa gástrica regenerada con mínima congestión vascular.

En el cuadro N° 13 se evidencian que en todos los modelos tratados con los extractos de Achillea y Guaviduca el grado de ulceración para los grupos tratados disminuyó de forma muy altamente significativa cuando se compara con el control negativo, existiendo una regeneración de la mucosa gástrica al igual que el caso del Omeprazol. Se evidencia que sin tratamiento no existe ningún nivel de recuperación de la mucosa gástrica.

Los resultados obtenidos del análisis macroscópico y microscópico se expresaron en porcentajes de inhibición.

En base a estos parámetros se planteó la hipótesis estadística permitiendo aplicar ANOVA para verificar si existe diferencias entre cada uno de los tratamientos.

H₀: No existe diferencia entre cada uno de los extractos administrados a los sujetos de experimentación tras una inducción de úlceras gástricas.

H₁: Al menos uno de los tratamientos administrados es diferente administrados

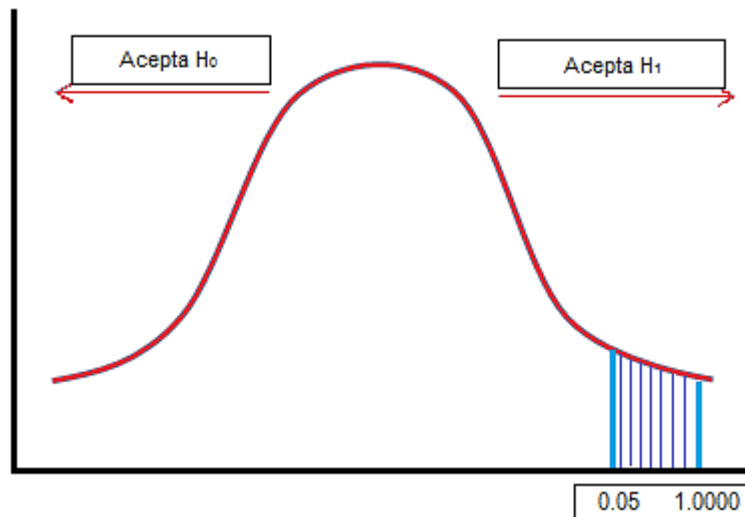


GRÁFICO N°1: ESTABLECIMIENTO DE LA REGIÓN CRÍTICA PARA EL RECHAZO O LA ACEPTACIÓN DE LA HIPÓTESIS ESTADÍSTICA.

CUADRO N°17: ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DE ÚLCERAS GÁSTRICAS SEGÚN LOS TRATAMIENTOS ADMINISTRADOS

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
OMEPRAZOL	3	285,71	95,2366667	68,0680333
ACHILLEA	3	300	100	0
GUAVIDUCA	3	300	100	0
ACHILLEA + GUAVIDUCA	3	300	100	0

ORIGEN DE LAS VARIACIONES	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F	PROBABILIDAD	VALOR CRÍTICO PARA F
Entre grupos	51,051025	3	17,0170083	1	0,44109908	4,066180551
Dentro de los grupos	136,1360667	8	17,0170083			
Total	187,1870917	11				

Según los resultados obtenidos no se rechaza la hipótesis nula, determinándose que no existe diferencia entre ninguno de los tratamientos administrados a los sujetos de experimentación.

H₀: No hubo disminución o aumento de peso de los animales de experimentación.

H₁: Al menos un grupo de animales de estudio experimentó un cambio considerable de peso.

CUADRO N°18: ANÁLISIS DE VARIANZA DEL CONTROL DE PESO INICIAL Y FINAL DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN EN EL PROCESO DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA

GRUPOS	CUENTA	SUMA	PROMEDIO	VARIANZA
OMEPRAZOL	3	47,6	15,8666667	146,413333
AGENTE NECROSANTE	3	-51,9	-17,3	30,63
ACHILLEA	3	31,2	10,4	176,89
GUAVIDUCA	3	23,9	7,9666667	46,3233333
ACHILLEA + GUAVIDUCA	3	54,76	18,2533333	23,2665333

ORIGEN DE LAS VARIACIONES	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	PROMEDIO DE LOS CUADRADOS	F	PROBABILIDAD	VALOR CRÍTICO PARA F
Entre grupos	218,4650133	2	109,2325067	1,390209	0,3032614	4,4589701
Dentro de los grupos	2424,698293	4	606,1745733	7,714826	0,0075022	3,8378533
Error	628,5813867	8	78,57267333			
Total	3271,744693	14				

CUADRO N°19: MÉTODO TUKEY HSD AL 95.00% DEL CONTROL DE PESO INICIAL Y FINAL DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN EN EL PROCESO DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA

Blanco	3	12.0000	X
Omeprazol	3	15.8667	X
A. necrosante	3	-17.3000	X
Achillea	3	10.4000	X
Guaviduca	3	7.9667	X
Achillea+Guaviduca	3	22.6600	X

Según los resultados obtenidos se rechaza la hipótesis nula, determinándose que por lo menos un grupo presenta una diferencia considerable de peso. Se utilizó el método Tukey para verificar cual de los grupos es el que presenta diferencia, determinándose que el grupo que se le administró el agente necrosante sin tratamiento es el que presenta una disminución considerable de peso.

3.4 ESTUDIO DE LA TOXICIDAD AGUDA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA (*Achillea millefolium L.*) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*).

Para el estudio de la toxicidad aguda se tomó un grupo de 4 ratones (*Mus musculus*) al cual se le administró durante 15 días por vía oral con la ayuda de una cánula metálica 1 mL de la mezcla homogénea de extracto de Achillea (*Achillea millefolium L.*) y Guaviduca (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*).

CUADRO N°20: PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DEL ESTUDIO DE LA TOXICIDAD AGUDA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA (*Achillea millefolium L.*) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) EN RATONES. BIOTERIO. ESPOCH. FEBRERO 2012.

GRUPO	BLANCO	EXTRACTO DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA
G1	A1	B1
G2	A2	B2
G3	A3	B3

A= Ratones sin tratamiento

B= Ratones con tratamiento durante 15 días

CUADRO Nº21: PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE LA TOXICIDAD AGUDA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA (*Achillea millefolium* L.) y GUAVIDUCA (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.) EN RATONES.MARZO 2012

GRUPO	ESTUDIO MICROSCÓPICO		
	HÍGADO	RINÓN DERECHO	RIÑÓN IZQUIERDO
A	Órgano de estructura histológica normal	Órgano de estructura histológica normal	Órgano de estructura histológica normal
B	Órgano de estructura histológica normal	Órgano de estructura histológica normal	Órgano de estructura histológica normal

En el cuadro Nº 13 se expresan los resultados del estudio de la toxicidad agua de los extractos de Achillea y Guaviduca lo cual nos indica que la utilización de esta planta no ha presentado toxicidad, ya que encontramos órganos de estructura histológica normal.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. El material vegetal posee una calidad aceptable para la utilización del mismo en la presente investigación, demostrándose que los datos obtenidos en la determinación de los parámetros físico-químicos del control de calidad de la droga cruda Achillea y Guaviduca se encontraron dentro de los límites establecidos, cuyos valores se expresan en los cuadros N° 1,2 y 3.
2. Los extractos de Achillea y Guaviduca contienen taninos, alcaloides, compuestos lactónicos, quinonas, resinas, antocianidinas, esteroides, flavonoides, esto se comprobó mediante el tamizaje fitoquímico en el cual se realizó la identificación cualitativa de estos metabolitos, resultados expresados en el cuadro N°10.
3. En el control microbiológico de los extractos de Achillea y Guaviduca especifica que no poseen microorganismos aerobios mesófilos y tampoco existe la presencia de coliformes totales, demostrando que se encuentran en óptimas condiciones higiénicas para su utilización, datos que se pueden observar en el cuadro N°11.
4. En la comprobación y evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea y Guaviduca se evidenció una completa cicatrización de la mucosa gástrica afectada, además de acuerdo al análisis estadístico aplicado se concluye que no existe diferencia significativa en la utilización de los extractos por separado como en

la mezcla de los mismos, produciendo una rápida y total recuperación de la mucosa gástrica evidenciándose en el análisis macroscópico y con el estudio histopatológico de los estómagos.

5. Mediante el estudio de toxicidad aguda se observó que no existieron manifestaciones de síntomas que indiquen algún tipo de toxicidad y tampoco muerte de los animales de experimentación, además los estudios macroscópicos y microscópicos de hígado y riñones no mostraron ninguna alteración, demostrándose que estas plantas pueden ser utilizados sin el peligro de que exista algún tipo de daño en la salud, estos datos concuerdan con bibliografía ya que estas plantas han sido usadas por la población durante mucho tiempo sin que existan efectos adversos.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios a diferentes dosis de la mezcla de extractos de Guaviduca y Achillea.
2. Se recomienda realizar un estudio de los diferentes metabolitos secundarios presentes en estas dos especies.
3. Ampliar los estudios de la planta Guaviduca ya que existe escasa información de la misma.
4. Se recomienda elaborar un fitofármaco tratando de potenciar la actividad gastroprotectora tanto de la Achillea como la Guaviduca.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

En los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, se desarrolló el presente trabajo de investigación con el objetivo de comprobar y evaluar la actividad gastroprotectora de los extractos de Achillea (*Achillea millefolium L.*) y Guaviduca (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) en ratas (*Rattus norvegicus*) hembras y machos, obtenidas en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH.

El estudio se realizó a través de la prueba de inducción de úlceras gástricas durante dos días utilizando etanol al 96%. A los grupos de estudio se les sometió a 4 tratamientos los cuales se administraron diariamente por un periodo de 6 días, así tenemos que al grupo C(+) se administró Omeprazol a una dosis de 0.28mg/kg, al grupo X se administró 1 mL de extracto de Achillea, al grupo Y 1 mL de extracto de Guaviduca, además se administró una mezcla de los dos extractos Achillea 50% + Guaviduca 50% en dosis de 300 mg/kg que corresponde al grupo Z. Luego de este periodo se realizó la disección de todos los grupos de estudio, se procedió a extraer los estómagos a los cuales se realizó un estudio macroscópico y microscópico que demostró una cicatrización total a nivel de mucosa gástrica, obteniéndose un porcentaje de inhibición de las úlceras correspondiente a un 100%, para aquellos grupos tratados con los extractos de Achillea y Guaviduca, debido a que los estómagos

Además se realizó el estudio de toxicidad aguda en ratones (*Mus musculus*) machos y hembras a los cuales se les administró 1 ml de la mezcla de extracto de Achillea 50% y Guaviduca 50% durante un periodo de 15 días, después de dicho tiempo se extrajo

órganos como hígado y riñones de cada grupo para un estudio histopatológico dando como resultado que el tratamiento no muestra ningún daño a nivel hepático y tampoco a nivel renal.

Se concluye que los extractos de *Achillea* (*Achillea millefolium* L.) y *Guaviduca* (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.) poseen actividad gastroprotectora produciendo una rápida y total recuperación de la mucosa gástrica evidenciándose en el análisis macroscópico y con el estudio histopatológico de los estómagos.

Se recomienda elaborar un fitofármaco tratando de potenciar la actividad gastroprotectora tanto de estas dos especies.

SUMMARY

In the Laboratories of the Faculty of the Polytechnic School of Chimborazo this research was developed in order to test and evaluate the gastro protective activity of extracts of Achillea (*Achillea millefolium L.*) and Guaviduca (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) in rats (*Rattus norvegicus*) males and females, obtained in the School of Biochemistry and Pharmacy a ESPOCH.

The study was conducted through a test of gastric ulcers induction for two days using 96% ethanol. In the study groups were subjected to 4 treatments which were administered daily for a period of 6 days, so we need to group C (+) omeprazole was administered at a dose of 0.28 mg/kg, administered group X 1 ml Achillea extract, administered group Y 1 ml Guaviduca extract, also administered as a mixture of the two extracts Achillea 50% at doses of 300 mg/kg corresponding to the group Z. After this period dissection was performed in all study groups, we proceeded to extract the stomach to which a study that showed macroscopic and microscopic level, total healing of gastric mucosa, giving a percentage of inhibition of ulcers corresponding to 100% for groups treated with extract of Guaviduca and Achillea.

In addition it was performed acute toxicity study in mice (*Mus musculus*) males and females which were given 1 ml of 50% extract and Guaviduca Achillea 50% over a period of 15 days, after which time was extracted organs such as liver and kidneys of each group for a study histopathological result that the treatment does not show any damage to the liver nor the kidney.

It is concluded that extracts of Achillea (*Achillea millefolium L.*) and Guaviduca (*Piper carpunya Ruiz & Pav.*) have gastro protective activity, producing a rapid and complete recovery of the gastric mucosa evidenced in the macroscopic analysis and histopathological examination of the stomach.

It recommends developing a phytomedicine trying to improve the gastro protective activity in these two species.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ARANGO, M.**, Plantas Medicinales Botánica de Interés Médico., s.ed., Colombia., s.edt., p. 243-246.
2. **AREGENTE, H.**, y otros., Semiología Médica., Argentina., Editorial Médica Panamericana., 2005., p. 705-711.
3. **ARIAS, J.**, Enfermería Médico Quirúrgica., Tomo II., s.ed., Editorial Tébar., p. 44,45.
4. **BALCH, P.**, Recetas Nutritivas que Curan., Trad. NARVAÉZ, M., 2^{da} Edición., New York., Penguin Group., 1997., p: 89.
5. **BUJA, M.**, y otros., Netter Anatomía Patológica., s.ed., España., Elsevier-Masson: Saunder., Mosby., Harcourt Brace., 2006., p. 105,106.
6. **CÓRDOVA, O.**, y otros., Principales Arvenses asociadas al cultivo de frijolen la Región Andina., s,ed., Colombia., s.edt., 2003., p. 19.
7. **CRUZ, A.**, Gastritis y Colitis Un Tratamiento Naturista., s.ed., México., Editorial Selector., 2001., pp.7-8,12.
8. **FLOCH, M.**, y otros., Netter Gastroenterología., Barcelona-España., Masson., 2006., p. 106-108, 112-114, 181-183.

9. **FONNEGRA, R.** y otros., *Plantas Medicinales Aprobadas en Colombia.*, 2^{da} Edición., Antioquia-Colombia., Editorial Universidad de Antioquia., 2007., p. 188.
10. **FRANK, J.**, *Patología Interna.*, Trad. **ALVARES, F.**, **VELA, M.**, **RODRIGO, J.**, Volumen 15., Madrid-España., Imprenta de Alejandro Gómez., 1846., p. 309-347.
11. **GARCÍA, H.**, *Plantas Curativas Mexicanas panorama.*, s.ed., México., Editorial S.A de CV., 2005., p. 89.
12. **GUILLOT, D.**, *La tribu Anthemideae Cass. (Asteraceae) en la flora alóctona de la Península Ibérica e Islas Baleares.*, Huesca., Edición José Luis Benito., 2010., p. 11.
13. **LECLERC, L.**, *Los Tres Reinos de la Naturaleza o Museo Pintoresco de Historia Natural Botánica.*, s.ed., Tomo VIII., Madrid-España., Gaspar y Roid Editores., 1867., p. 382.
14. **NARANJO, P.**, y otros., *Etnomedicina Progreso Italo Latinoamericanos.*, Volumen II., Quito-Ecuador., Ediciones Abya-Yala., 1997., p. 249.
15. **NETTER, F.**, *Medicina Interna.*, Trad. **SARMIENTO J.**, Barcelona-España., Editorial Masson., 2003., p. 812-816.
16. **QUEVAUVILLIERS, J.**, y otros., *Diccionario de Enfermería.*, Trad. **MOLINÉ, A.**, **ARQUÉ M.**, 2^{da} Edición., Barcelona-España., Masson., 2004., p. 354,355.
17. **REY, M.**, *Historia de la Hierbas Mágicas y Medicinales.*, s.ed., Madrid-España., Ediciones Nowtilus., 2010., p. 50,51.

18. **RIOS, M.**, y otros., Conocimiento Tradicional y Plantas Útiles del Ecuador Saberes y Prácticas., Quito-Ecuador., Ediciones Abya-Yala., 2008., p. 10.
19. **ROLDÁN, A.**, 100 Plantas medicinales Escogidas., 4^{ta} Edición., Madrid-España., Editorial EDAF., 2004., p. 271,272.
20. **ROLDÁN, A.**, Las 40 Plantas Medicinales más Populares., 4^{ta} Edición., Madrid-España., Editorial EDAF., 2004., p. 144.
21. **RUIZ, H.**, Relación del Viaje hecho a los Reinos del Perú y Chile., s.ed., Madrid-España., Catarta., 2007., p: 280.
22. **SEGARRA, E.**, Fisiología de los Aparatos y Sistemas., s.ed., Imprenta de la Facultad de Ciencias Médicas Universidad de Cuenca., Cuenca-Ecuador 2006., p. 82.
23. **VALLEIX, F.**, Tesoro de las Ciencias Médicas Guía del Médico Práctico., Trad. Francisco Alonso y Serapio Escolar., Tomo Quinto., Madrid-España., Imprenta Ignacio Boix., 1845., p. 260.
24. **VAN DEN, V.** y otros., Plantas silvestres comestibles del Sur de Ecuador., s.ed., s.edt., 1999., p. 172.
25. **WATSON, R.**, y otros., Botanical Medicine en Clinical Practice., Massachusetts-Estados Unidos., 2008., p. 47.

BIBLIOGRAFÍA INTERNET

26. ACHILLEA MILLEFOLIUM MILENRAMA.

http://www.avogel.es/enciclopedia-de-plantas/achillea_millefolium.php
2011/09/23

27. ACHILLEA MILLEFOLIUM. MILENRAMA.

<http://foro.ekiria.net/index.php?topic=7557.0>
2011/09/23

28. ANTI-SECRETORY, ANTI-INFLAMMATORY AND ANTI-HELICOBACTER PYLORI ACTIVITIES OF SEVERAL FRACTIONS ISOLATED FROM PIPER CARPUNYA RUIZ & PAV.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=piper%20carpunya>
2011/09/21

29. ANTIULCEROGENIC ACTIVITY OF HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF ACHILLEA MILLEFOLIUM L.: INVOLVEMENT OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=achiillea%20millefolium%20anitu%20lcerogenic>
2011/09/21

30. CONCORDANCIA EN LA APLICACIÓN DE LA CLASIFICACIÓN DE LAS GASTRITIS CRÓNICAS PROPUESTA POR EL GRUPO DE TRABAJO DE HOUSTON.

<http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:ybffQKTs5nkJ:med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v42n2/0023%2520Concordancia.PDF+clasificacion+de+la+gastritis&hl=es&gl=ec&pid=bl&srcid=ADGEEShIh46synfc4IQkzEMeYF7BWQLbX-SNIcA7RHO49o8cOk52PooA->

D24c9ptpb2I2pJCssvA7Ogb4gngMzvOFpXGAEQSXImMdaZP8nmDX0aqj6
ynilQ1QGddbI5DqnazTKXxYjU&sig=AHIEtbQkPCNhFEB7AcF1nSqmuL0-
EhqUMQ.

2011/09/24

**31. EFFECTS OF ACHILLEA WILHELMSII ON RAT'S GASTRIC ACID
OUTPUT AT BASAL, VAGOTOMIZED, AND VAGAL-STIMULATED
CONDITIONS.**

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21120029>

2011/09/21

32. EL UNIVERSO. La gastritis, una enfermedad muy común en las personas.

[http://www.eluniverso.com/2004/07/16/0001/1064/52EE4CBC5F524DC5A8C
283AF334F4D3B.html](http://www.eluniverso.com/2004/07/16/0001/1064/52EE4CBC5F524DC5A8C
283AF334F4D3B.html)

2011/09/23

33. ENFERMEDADES DEL ESTÓMAGO.

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/stomachdisorders.html>

2011/09/22

**34. ESSENTIAL OIL COMPOSITION OF THE LEAVES AND SPIKES OF
PIPER CARPUNYA RUIZ ET PAVON (PIPERACEAE) FROM PERU.**

<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2004.9698669#previe>

[w](#)

2011/10/9

35. ESTÓMAGO. GASTRITIS.

www.clinicaindautxu.com/nutricion/pdfs/Estomago.pdf

2011/09/24

36. EXTRACTO FLUÍDO.

http://www.soaljo.com.ar/farma/extracto_fluido.php

2011/12/18

37. FLATULENCIA (GAS GASTROINTESTINAL).

www.naspghan.org/user-assets/Documents/pdf/.../GAS-S.pdf

2011/09/26

38. FLAVONOIDES.

<http://www.botanical-online.com/medicinalesflavonoides.htm>

2011/09/27

39. FLEITAS, G. Medicamentos de Origen Vegetal.

<http://www.monografias.com/trabajos26/medicamentos-vegetal>.

2012/01/22

40. GASTRITIS AGUDA Y CRÓNICA. ENFERMEDAD DE MÉNÉTRIER.

<http://www.cirugest.com/htm/revisiones/cir13-02/13-02-03.htm>

2011/09/25

41. GASTRITIS.

http://my.clevelandclinic.org/es_/disorders/gastritis/hic_gastritis.aspx

2011/09/26

42. GASTRITIS.

<http://revgastrohup.org/Revistas/156-161.pdf>

2011/09/25

43. GASTRITIS.

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001150.htm>

2011/09/26

44. GASTRITIS.

www.polarizacion.com.mx/gastritis.pdf

2011/09/25

45. GASTROPROTECTIVE EFFECTS OF *PIPER CARPUNYA* AGAINST DICLOFENAC-INDUCED GASTRIC LESIONS IN RATS.

<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1080/13880200802366686>.

2011/09/22

46. HOY. Póngale Cuidado con la Gastritis.

<http://www.hoy.com.ec/noticias-ecuador/pongale-cuidado-a-la-gastritis-230351-230351.html>

2011/09/26

47. LA GASTRITIS: SEIS DE DIEZ GUAYAQUILEÑOS SUFREN DE LA ENFERMEDAD.

http://www.guayaquilcaliente.com/guayaquil/salud/nutricion/la_gastritis:_seis_de_diez_guayaquilenos_sufren_de_la_enfermedad/

2011/09/25

48. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.

<http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/m%C3%A9todos-de-extracci%C3%B3n/percolaci%C3%B3n/>

2011/10/10

49. MILENRAMA (ACHILLEA MILLEFOLIUM): PLANTA MEDICINAL DE VERANO POR EXCELENCIA.

<http://remeisnaturals.blogspot.com/2010/07/milenrama-achillea-millefolium-planta.html>

2011/09/26

50. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS Y ESENCIAS.

ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial.../tema12.pdf

2011/10/10

51. PATOLOGÍA DEL ESTÓMAGO.

http://escuela.med.puc.cl/publ/anatomiapatologica/04digestivo/4estomago_1.html

2011/09/26

52. PLANTAS MEDICINALES DE LOS ANDES ECUATORIANOS.

www.beisa.dk/Publications/.../Capitulo%2018.pdf

2011/09/21

53. SECRECIÓN GÁSTRICA E INHIBIDORES DE BOMBA DE PROTONES.

www.gastrocol.com/.../libreria/.../100430044_v25n1a18.pdf

2011/09/25

54. ULCERA GÁSTRICA Y DUODENAL.

www.san.gva.es/docs/dac/guiasap035ulcera.pdf

2011/09/25

55. UN CASO DE GASTRITIS ENFISEMATOSA TRATADA CON ANTIBIÓTICOS CON ÉXITO.

http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=s021271992005000300018&script=sci_arttext

2011/09/25

56. USO DE LAS PLANTAS A LA FITOFARMACOLOGÍA.

<http://www.slideshare.net/Elizabethvelasco2/diapositivas-facebook-4659683>

2011/09/21

57. USOS MEDICINALES DE LAS PLANTAS.

<http://www.biologia.puce.edu.ec/natura.php?c=350>

2011/09/17

58. UTILIZACIÓN TERAPÉUTICA DEL OMEPRAZOL.

www.sefh.es/revistas/vol21/n5/243_256.pdf

2011/09/27

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO N°1: ESCALA DE MARHUENDA

<i>GRADO DE LA ESCALA</i>	<i>CARACTERISTICA</i>
0	Sin lesión
1	Úlceras hemorrágicas, finas, dispersa y de longitud menor de 2 mm.
2	Una úlcera hemorrágica fina, de longitud menor de 2 mm.
3	Más de una úlcera 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.

**PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE LA EVALUACIÓN DE LA
ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA
Y GUAVIDUCA EN RATAS CON LESIONES GÁSTRICAS INDUCIDAS**

GRUPO	RESULTADOS
BLANCO	Mucosa gástrica íntegra, glándulas de estructura arquitectónica normal, composición de lámina propia normal.
RATA 1, 2 y 3	
CONTROL(+)	Mucosa gástrica regenerada con moderada congestión vascular.
RATA 1, 2 y 3	
CONTROL(-)	Presencia de ulceraciones en la mucosa gástrica con reacción de polimorfonucleares e infiltrado agudo en el fondo.
RATA 1, 2 y 3	
ACHILLEA	Mucosa gástrica regenerada con ligera congestión vascular.
RATA 1, 2 y 3	
GUAVIDUCA	Mucosa gástrica regenerada con ligera congestión vascular.
RATA 1, 2 y 3	
ACHILLEA + GUAVIDUCA	Mucosa gástrica regenerada con mínima congestión vascular.
RATA 1, 2 y 3	

Dr. Oswaldo Duque

**PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE LA TOXICIDAD AGUDA DE LOS
EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA EN RATONES**

ESTUDIO MICROSCÓPICO	A	B
HÍGADO	Órgano de estructura histológica normal	Órgano de estructura histológica normal
RINÓN DERECHO	Órgano de estructura histológica normal	Órgano de estructura histológica normal
RIÑÓN IZQUIERDO	Órgano de estructura histológica normal	Órgano de estructura histológica normal

Dr. Oswaldo Duque

ANEXO N°4: RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO



Contáctanos: 093387300 - 032942022 ó 093806600 - 03360-260
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba - Ecuador

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

CLIENTE: Srta. Karolina Quintana		CODIGO: 45-12
DIRECCION: Colombia y Lavalle		TELEFONO: 087326187
TIPO DE MUESTRA: Extracto hidro alcohólico de Achillea y Guaviduca.		
FECHA DE RECEPCIÓN: 2012-04-16		
FECHA DE MUESTREO: 2012-04-16		
EXAMEN FISICO		
COLOR: Verde		
OLOR: Característico		
ASPECTO: Líquido semiturbio		
02 DETERMINACIONES	METODO USADO	VALOR ENCONTRADO
Recuento de aerobios mesofilos UFC/mL	Vertido en placa	< 10
Coliformes fecales UFC/mL	Petrifilm	< 10
03 OBSERVACIONES:		
FECHA DE ANALISIS: 2012-04-16		
FECHA DE ENTREGA: 2012-04-19		
RESPONSABLES:		
 Dra. Gina Alvarez R.		 Dra. Fabiola Villa



DRA. GINA ALVAREZ

El informe sólo afecta a la muestra solicitada a ensayo; el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.

*La muestra es receptada en el laboratorio

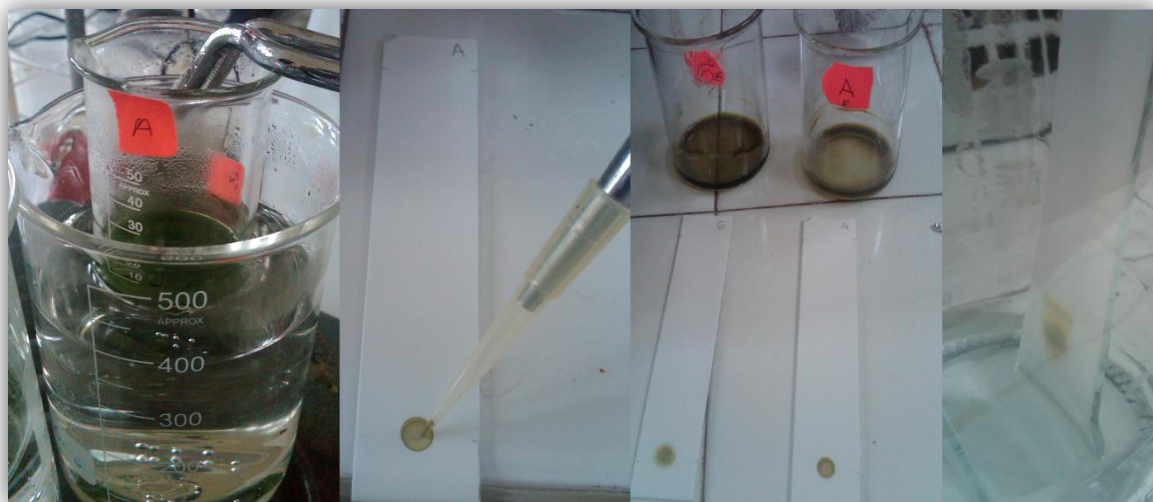
ANEXO N°5. FOTOGRAFÍAS



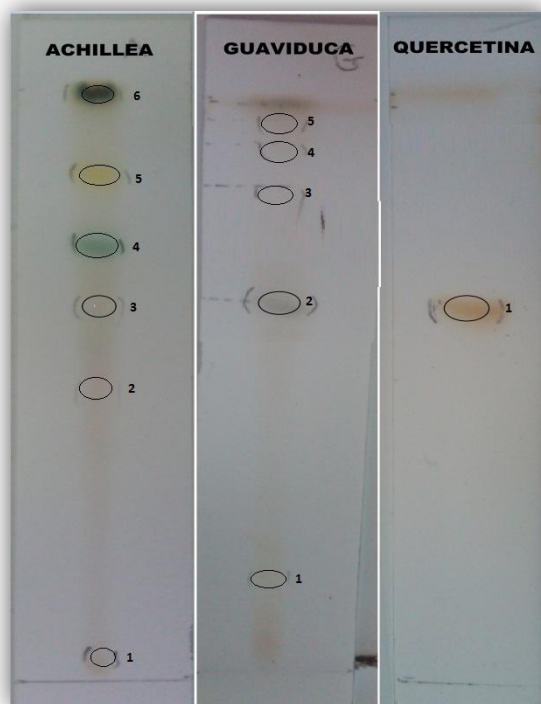
FOTOGRAFÍA N°1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD DE LAS DROGAS CRUDAS ACHILLEA Y GUAVIDUCA UTILIZADAS COMO MATERIA PRIMA.LABORATORIO DE FITOQUIMICA.



FOTOGRAFÍA N°2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS DE LAS DROGAS CRUDAS ACHILLEA Y GUAVIDUCA UTILIZADAS COMO MATERIA PRIMA.LABORATORIO DE FITOQUIMICA.



FOTOGRAFÍA N°3. DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES POR CROMATOGRFÍA EN CAPA FINA.



FOTOGRAFÍA N°4. PLACAS CROMATOGRÁFICAS EXTRACTO DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA, SOLUCIÓN DE QUERCETINA.



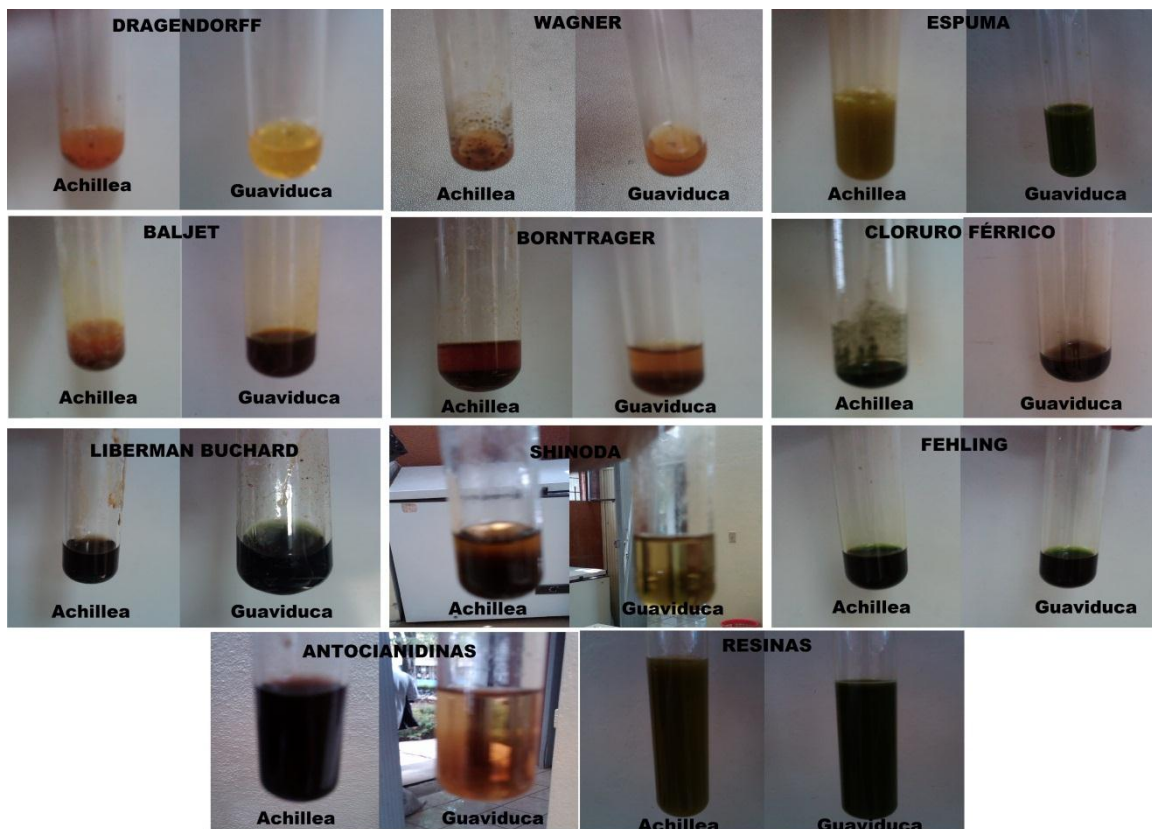
FOTOGRAFÍA N°5. PROCESO DE REFLUJO Y FILTRADO.



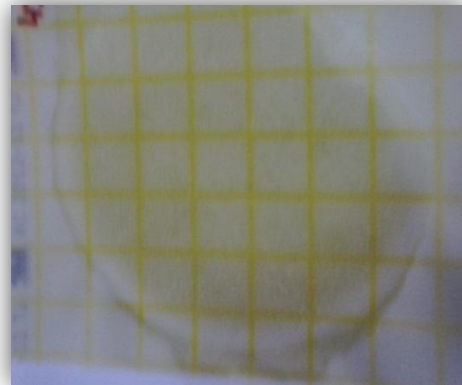
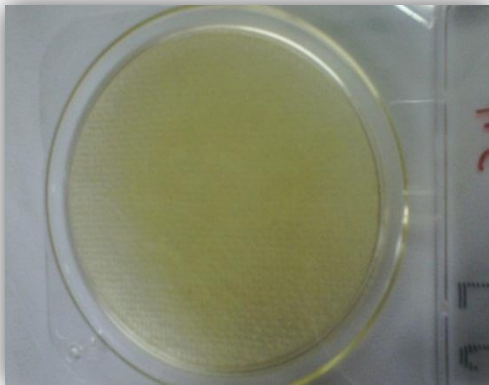
FOTOGRAFÍA N°6. MOLIENDA DE MATERIA PRIMA, PROCESO DE PERCOLACIÓN Y CONCENTRACION DE EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA.



FOTOGRAFÍA N°7. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA.



FOTOGRAFÍA N°8. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA.



FOTOGRAFÍA N°9. DETERMINACIÓN DE AEROBIOS MESÓFILOS Y COLIFORMES FECALIS DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA.



FOTOGRAFÍA N°10. ACLIMATACIÓN DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.



FOTOGRAFÍA N°11. PREPARACIÓN DE MATERIALES A UTILIZAR EN LA ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL.



FOTOGRAFÍA N°12. PERIODO DE ANESTESIA DE RATAS.



FOTOGRAFÍA N°13. MANIPULACIÓN DE RATAS PREVIA LA ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL.



FOTOGRAFÍA N°14. ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL DEL AGENTE NECROSANTE.



FOTOGRAFÍA N°15. ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL DE LOS EXTRACTOS DE ACHILLEA Y GUAVIDUCA.



FOTOGRAFÍA Nº16. ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL DE OMEPRAZOL 20mg.



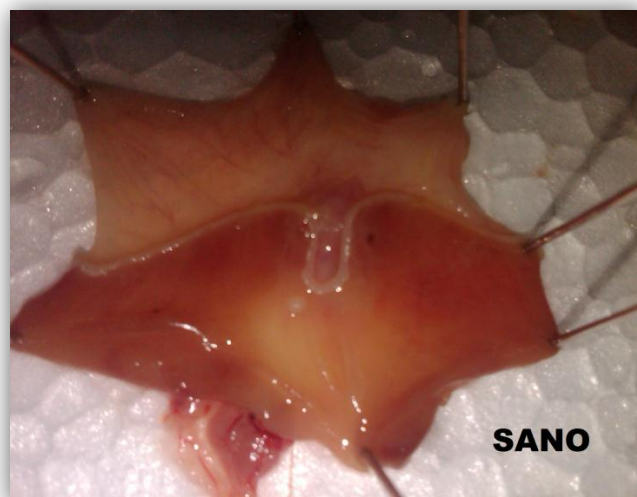
FOTOGRAFÍA Nº17. PREPARACIÓN DE MATERIALES A UTILIZAR EN LA DISECCIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.



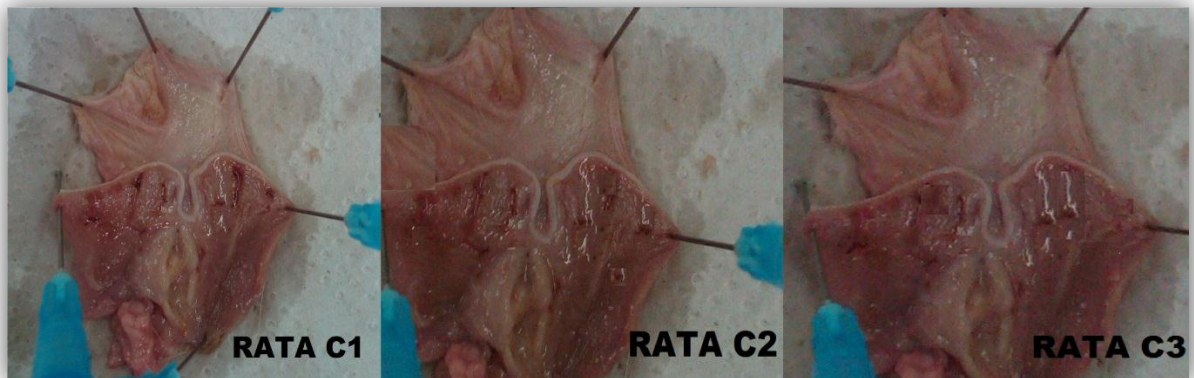
FOTOGRAFÍA N°18. DISECCIÓN Y EXTRACCIÓN DE ESTÓMAGOS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN LUEGO DE 6 DÍAS DE TRATAMIENTO. ESPOCH



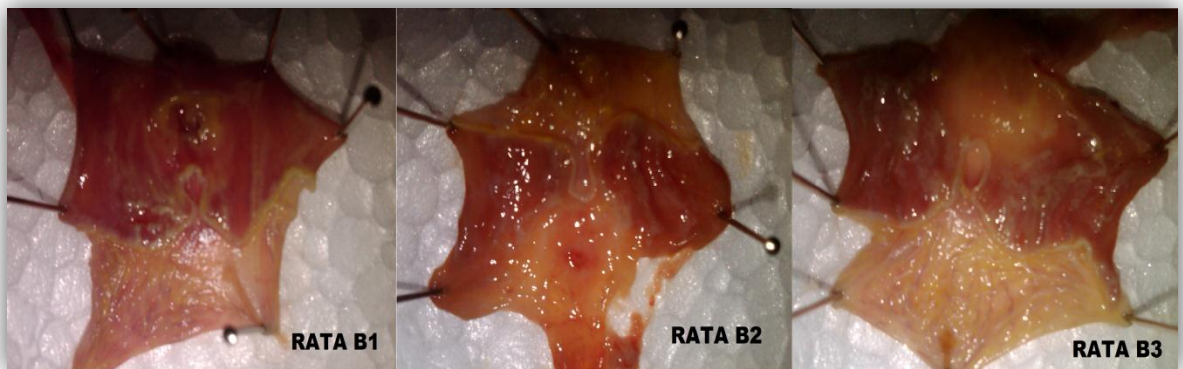
FOTOGRAFÍA N°19. PREPARACIÓN DE ESTÓMAGOS PARA ANÁLISIS MACROSCÓPICO.



FOTOGRAFÍA N°20. ANÁLISIS MACROSCÓPICO ESTÓMAGO SANO.



FOTOGRAFÍA Nº21. ANÁLISIS MACROSCÓPICO ESTÓMAGO ULCERADO SIN TRATAMIENTO.



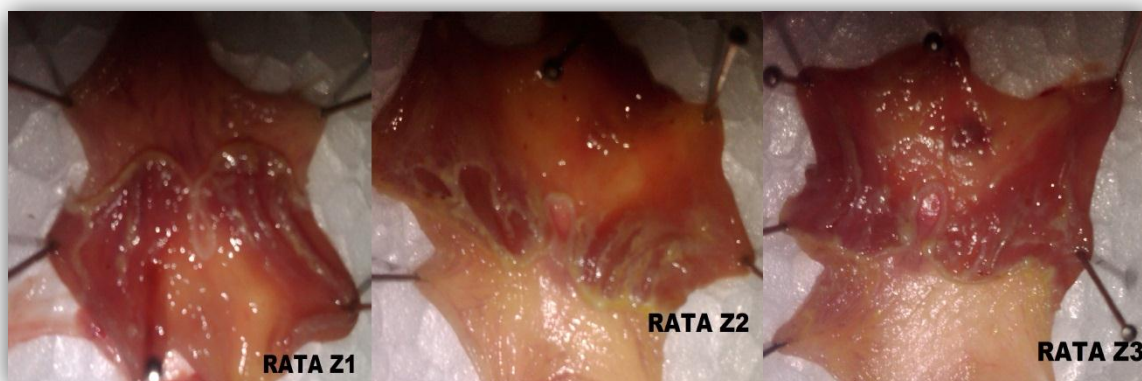
FOTOGRAFÍA Nº22. ANÁLISIS MACROSCÓPICO ESTÓMAGO CON TRATAMIENTO OMEPRAZOL.



FOTOGRAFÍA Nº23. ANÁLISIS MACROSCÓPICO ESTÓMAGO CON TRATAMIENTO EXTRACTO DE ACHILLEA.



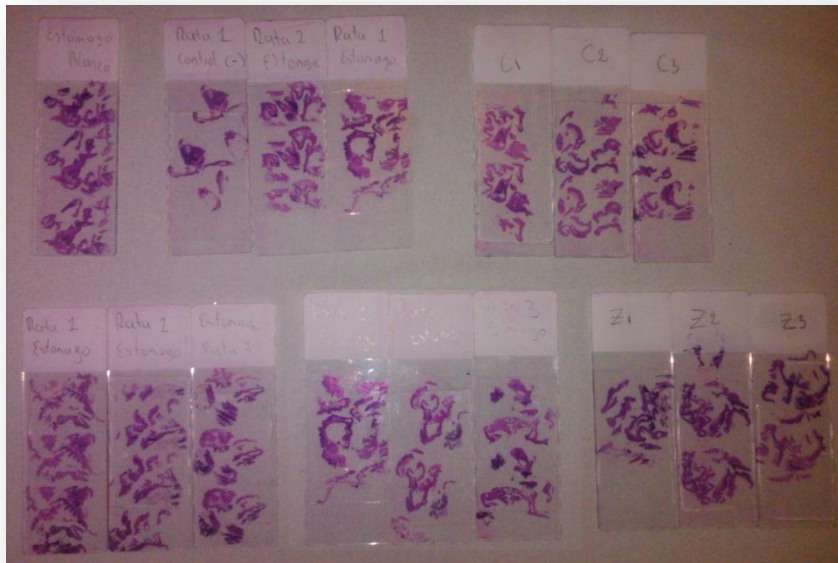
FOTOGRAFÍA Nº24. ANÁLISIS MACROSCÓPICO ESTÓMAGO CON TRATAMIENTO EXTRACTO DE GUAVIDUCA.



FOTOGRAFÍA Nº25. ANÁLISIS MACROSCÓPICO ESTÓMAGO CON TRATAMIENTO EXTRACTO DE ACHILLEA + GUAVIDUCA.



FOTOGRAFÍA Nº26. PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS MICROSCÓPICO



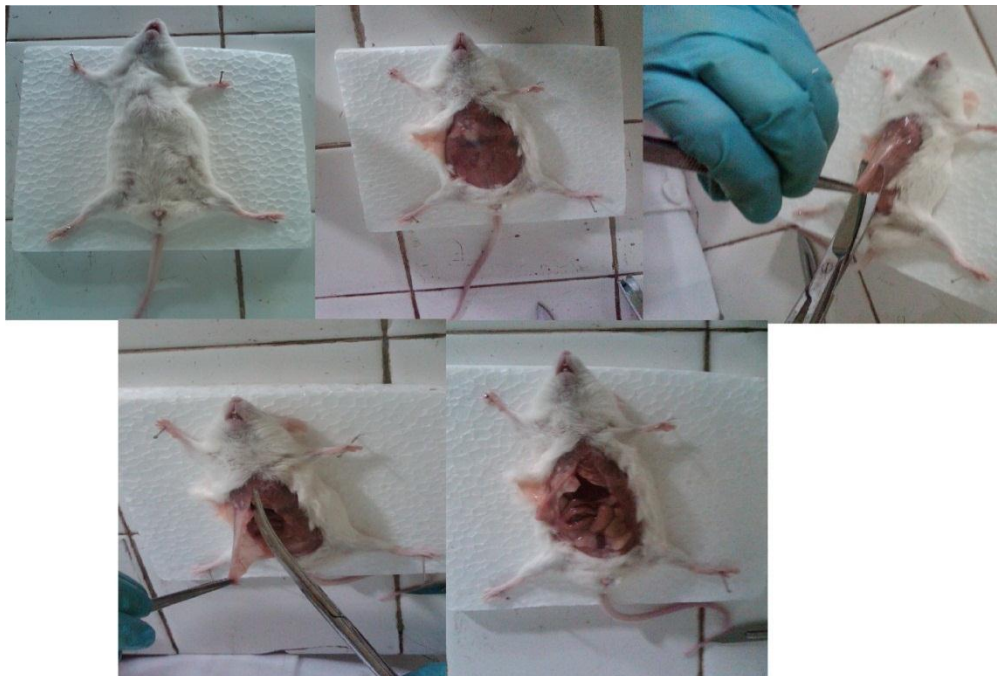
FOTOGRAFÍA N°27. PLACAS CON CORTES HISTOLÓGICOS PARA ANÁLISIS MICROSCÓPICO ESTUDIO DE GATROPROTECCIÓN



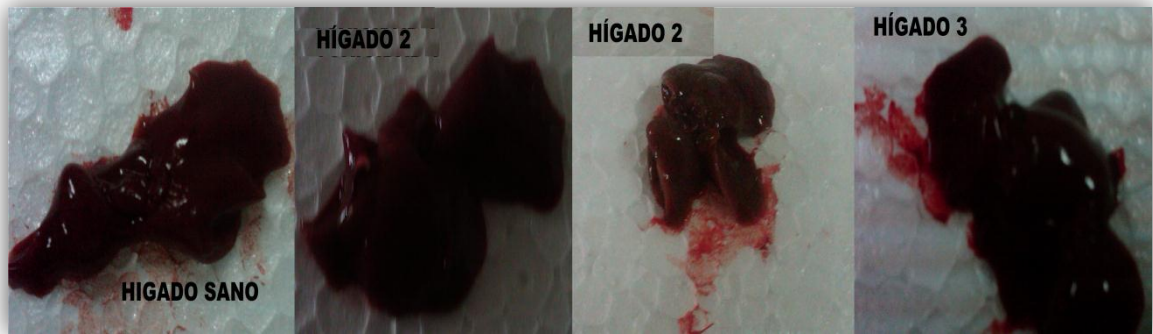
FOTOGRAFÍA N°28. PLACAS CON CORTES HISTOLÓGICOS PARA ANÁLISIS MICROSCÓPICO ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUA



FOTOGRAFÍA N°29. SACRIFICIO DEL ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN POR DISLOCACIÓN CERVICAL



FOTOGRAFÍA N°30. DISECCIÓN DE RATONES TOXICIDAD AGUDA



FOTOGRAFÍA Nº31. EXTRACCIÓN DE HÍGADOS PARA ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO



FOTOGRAFÍA Nº32. EXTRACCIÓN DE RIÑONES PARA ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO