

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
GASTROPROTECTORA DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Juglans
neotropica* Diels “Nogal peruano”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica

AUTOR

Paola Estefanía Hurtado Manrique

Lima – Perú

2014



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Juglans neotropica* Diels "Nogal peruano"**

que presenta la Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

PAOLA ESTEFANÍA HURTADO MANRIQUE

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación ha obtenido la siguiente calificación:

Diecinueve (19) con mención

en conformidad con el Art. 34º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 15 de mayo de 2014.

Arilmi Rosa Gorriri Gutiérrez
DRA. ARILMI ROSA GORRIRI GUTIÉRREZ
Presidenta

Raúl Soria López
MG. RAÚL SORIA LÓPEZ
Miembro

Pablo Enrique Bonilla Rivera
DR. PABLO ENRIQUE BONILLA RIVERA
Miembro

Yovani Martín Condorhuamán Figueroa
DR. YOVANI MARTÍN CONDORHUAMÁN FIGUEROA
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

DEDICATORIA

A mis padres, José y Juana, y mi hermano David, por ser mi apoyo incondicional, firme y constante durante los momentos más difíciles de mi vida y por llenar mis días de alegría.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todopoderoso, por levantarme cada vez que me caía y por darme la fortaleza para seguir adelante

A mis tíos Augusto Blas y Sonia Hurtado, por ayudarme en la obtención de la muestra vegetal

A la Dra. Bertha Jurado, por su asesoría y sus valiosos consejos durante el desarrollo de esta investigación

A los Doctores José Jáuregui y Paul Gutiérrez, por brindarme el material necesario para trabajar la muestra

Al Dr. Jorge Arroyo, por su apoyo y colaboración que sin ellos no se habría podido realizar la presente tesis

A Silvana Yanas y Kate Sifuentes, por su gran amistad y los buenos momentos que compartimos en las aulas.

Expreso mi agradecimiento a los miembros del Jurado Examinador y Calificador por sus valiosas recomendaciones y por su tiempo brindado:

Presidente: Dra. Arilmí Gorriti Gutiérrez

Miembros: Dr. Pablo Bonilla Rivera

Mg. Raúl Soria López

Dr. Martín Condorhuamán Figueroa

ÍNDICE

RESUMEN

SUMMARY

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Antecedentes	3
2.2 Generalidades	4
2.2.1 <i>Juglans neotropica</i> Diels	4
2.2.1.1 Clasificación taxonómica	5
2.2.1.2 Descripción morfológica	5
2.2.1.3 Composición química	6
2.2.2 Enfermedad Úlcera Péptica	7
2.2.2.1 Definición	7
2.2.2.2 Causas	8
2.2.2.3 Epidemiología	8
2.2.2.4 Fisiopatología	8
2.2.2.5 Terapéutica de la Enfermedad Úlcera Péptica	9
III. PARTE EXPERIMENTAL	15
3.1 Equipos y Materiales	15
3.2 Metodología	17
3.2.1 Recolección, selección y desecación del material botánico	17

3.2.2 Preparación del extracto hidroalcohólico estandarizado de <i>Juglans neotropica</i> Diels	17
3.2.3 Determinación de humedad	17
3.2.4 Cromatografía en capa delgada	18
3.2.5 Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales	18
3.2.6 Determinación de la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Juglans neotropica</i> Diels	20
3.2.7 Análisis estadístico	23
IV. RESULTADOS	24
V. DISCUSIÓN	38
VI. CONCLUSIONES	42
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	48

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Pautas erradicadoras de la infección por *Helicobacter pylori* que han demostrado ser eficaces

Tabla 2. Distribución de grupos para evaluación de la actividad gastroprotectora

Tabla 3. Escala de Alada et al (2008) modificada

Tabla 4. Escala de Marhuenda

Tabla 5. Primera pesada

Tabla 6. Segunda pesada

Tabla 7. Parámetros fisicoquímicos

Tabla 8. Ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels

Tabla 9. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels

Tabla 10. Datos obtenidos al evaluar edema y hemorragia en la actividad gastroprotectora en ratas macho con inducción de úlceras gástricas por etanol 96°

Tabla 11. Valoración media de úlceras gástricas: escala de Alada et al (2008) modificada

Tabla 12. Valoración media de úlceras gástricas: escala de Marhuenda

Tabla 13. Porcentaje de inhibición de úlceras gástricas: escala de Alada et al (2008) modificada y escala de Marhuenda.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras químicas de algunos componentes de *Juglans neotropica* Diels

Figura 2. Mecanismo de defensa de la mucosa gastroduodenal

Figura 3. Mecanismo de reacción del método de Folin Ciocalteu

Figura 4. Ensayo de solubilidad

Figura 5. Observación de los resultados de la marcha fitoquímica

Figura 6. Saponinas

Figura 7. Alcaloides

Figura 8. Cromatograma de taninos antes del revelador FeCl_3 1%

Figura 9. Cromatograma de taninos después del revelador FeCl_3 1%

Figura 10. Cromatograma de flavonoides antes del revelador AlCl_3 sin luz UV

Figura 11. Cromatograma de flavonoides antes del revelador AlCl_3 a luz UV

Figura 12. Cromatograma de flavonoides después del revelador AlCl_3 sin luz UV

Figura 13. Cromatograma de flavonoides después del revelador AlCl_3 a luz UV

Figura 14. Curva de calibración del ácido gálico

Figura 15. Evaluación de edema en ratas con inducción de úlceras gástricas por etanol 96°

Figura 16. Evaluación de hemorragia en ratas con inducción de úlceras gástricas por etanol 96°

Figura 17. Porcentaje de inhibición de úlceras gástricas: escala de Alada et al (2008) modificada y escala de Mahuenda

Figura 18. *Juglans neotropica* Diels “nogal peruano”

Figura 19. Muestra fresca de hojas de *Juglans neotropica* Diels

Figura 20. Muestra vegetal lavada y aireada

Figura 21. Muestra fresca para determinación de humedad

Figura 22. Muestra vegetal secada en estufa

Figura 23. Muestra preparada para la molienda

Figura 24. Tamizado de la muestra pulverizada

Figura 25. Preparación del extracto hidroalcohólico

Figura 26. Filtrado del extracto hidroalcohólico

Figura 27. Realización de la marcha fitoquímica

Figura 28. Material biológico con agua *ad libitum*

Figura 29. Material biológico en jaulas metálicas

Figura 30. Solución de suero fisiológico, Medicamentos y Extracto de nogal

Figura 31. Grupo A "Blanco"

Figura 32. Grupo B "Suero fisiológico 1 mL/250 g"

Figura 33. Grupo C "Omeprazol 20 mg/kg"

Figura 34. Grupo D "Sucralfato 3 mL/kg"

Figura 35. Grupo E "nogal 50 mg/kg"

Figura 36. Grupo F "nogal 250 mg/kg"

Figura 37. Grupo G "nogal 500 mg/kg"

Figura 38. Grupo A

Figura 39. Grupo B

Figura 40. Grupo B

Figura 41. Grupo C

Figura 42. Grupo D

Figura 43. Grupo D

Figura 44. Grupo E

Figura 45. Grupo F

Figura 46. Grupo F

Figura 47. Grupo G

RESUMEN

Objetivo: determinar la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “nogal peruano”. **Diseño:** estudio prospectivo experimental. **Materiales biológicos:** extracto de hojas de *Juglans neotropica* Diels y ratas albinas macho raza Sprague Dawley. **Métodos:** se determinó los metabolitos secundarios con los reactivos específicos. La cuantificación del compuesto fenólico mayoritario se determinó por el método de Folin Ciocalteu. Para la evaluación de la actividad gastroprotectora, se empleó el modelo de inducción de úlceras gástricas por etanol 96°, se administró el extracto a dosis de 50, 250 y 500 mg/kg. Fármacos patrones utilizados: omeprazol 20 mg/kg y sucralfato 3 ml/kg. La evaluación macroscópica fue mediante la escala de Alada et al modificada y la de Marhuenda. Para el estudio histopatológico, los tejidos se conservaron en formol al 10% y la tinción fue con hematoxilina-eosina. **Resultados:** el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels posee carbohidratos, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, antraquinonas, triterpenos, esteroides, saponinas y alcaloides. La cuantificación del compuesto fenólico mayoritario fue de 16.909 ± 0.382 mg EAG/g del extracto seco. El tratamiento con el extracto produjo una inhibición de las úlceras gástricas de 84,61 % y 94,77 % a dosis de 250 y 500 mg/kg respectivamente con un $p < 0,05$. En el estudio histopatológico se observó descamación y aumento de macrófagos en el grupo control, mientras que el grupo G (nogal 500 mg/kg) presentó mayor protección que en los grupos de 50 y 250 mg/kg, donde se observó solo descamación e hipertrofia. **Conclusión:** El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “nogal peruano” fue efectivo como agente gastroprotector en un modelo de inducción de úlceras gástricas por etanol 96°.

Palabras clave: *Juglans neotropica*, compuestos fenólicos, etanol, úlceras gástricas, actividad gastroprotectora.

SUMMARY

Objective: to determine the gastroprotective activity of *Juglans neotropica* Diels leaves hydroalcoholic extract. **Design:** prospective experimental. **Biological materials:** *Juglans neotropica* Diels leaves extract and albino male Sprague Dawley rats. **Methods:** secondary metabolites of the extract were analyzed with specific reagents. Quantification of the major phenolic compound was determined by Folin Ciocalteu method. For evaluation of the gastroprotective activity, gastric ulcers induction model by ethanol 96 ° was used, the extract was administered at doses of 50, 250 and 500 mg / kg. Patterns drugs omeprazole 20 mg / kg and sucralfate 3 ml / kg were used. Macroscopic evaluation was according Alada et al scale and Marhuenda scale. For histopathology study, tissues were preserved in 10% formaldehyde and hematoxylin eosin staining was used. **Results:** *Juglans neotropica* Diels leaves hydroalcoholic extract has glycosides, phenolics, flavonoids, tannins, anthraquinones, triterpenes, steroids, alkaloids, and saponins. Quantification of the major phenolic compound was 16.909 ± 0.382 mg GAE / g of dry extract. The treatment with the extract produced an inhibition of gastric ulcers of 84.61 % and 94.77 % at doses of 250 and 500 mg / kg respectively, $p < 0.05$. By histopathology, desquamation and increased macrophages were observed in the control group, while in the G group (500 mg/kg walnut) there was greater protection than in 50 and 250 mg/kg walnut groups, showing only peeling and hypertrophy. **Conclusion:** *Juglans neotropica* Diels leaves hydroalcoholic extract was effective as a gastroprotective agent in a gastric ulcers induction model by ethanol 96 °.

Key words: *Juglans neotropica*, phenolic compounds, ethanol, gastric ulcers, gastro protective activity.

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú, el uso de plantas medicinales es una práctica ancestral, desde la época precolombina hasta nuestros días, las plantas han sido utilizadas para tratar diferentes enfermedades, debido a la concentración de metabolitos responsables de numerosos efectos farmacológicos.

La biodiversidad que caracteriza al Perú ha hecho resurgir el uso de extractos de plantas medicinales por parte de la población, aunque muchas de ellas no tienen el respaldo científico sobre el efecto terapéutico que se les atribuye. Por lo tanto, es importante investigar la composición química de estas especies para asegurar y validar que cumplan con el efecto terapéutico atribuido.

Los metabolitos presentes en los distintos órganos de la planta representan un gran potencial terapéutico en medicina. Los más destacados con actividad gastroprotectora son los alcaloides, triterpenos y compuestos fenólicos como los flavonoides y taninos, entre otros.

Los taninos están constituidos por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica, capaces de precipitar ciertas macromoléculas, esta capacidad es la base para sus dos propiedades principales: capacidad de curtir la piel y poder astringente.¹

La úlcera péptica es uno de los principales trastornos gastro intestinales del mundo, que abarca tanto las gástricas como las duodenales, y afecta al 10% de la población mundial. La fisiopatología de la enfermedad péptica es atribuida al desequilibrio entre factores agresivos como acidez, pepsina, e infección por *Helicobacter pylori*, y las defensas de la mucosa local como la secreción de bicarbonato, moco y prostaglandinas. Son los principales factores etiológicos relacionados con la úlcera péptica: la infección por *Helicobacter pylori*, uso de anti-inflamatorios no esteroideos (AINES), el estrés emocional, el abuso de alcohol y el tabaquismo.

Los taninos se utilizan en medicina principalmente debido a sus propiedades astringentes porque reaccionan con las proteínas de las capas de tejido. Los taninos precipitan micro proteínas en el lugar de la úlcera péptica, formando

una película protectora que previene la absorción de sustancias tóxicas, y promueve la resistencia a la acción de las enzimas proteolíticas, una actividad asociada contra *Helicobacter pylori*.²

Por todo lo expuesto, para la presente investigación se planteó la siguiente hipótesis y los siguientes objetivos:

Hipótesis

El extracto hidroalcohólico de las hojas de ***Juglans neotropica* Diels** “nogal peruano” tiene actividad gastroprotectora en animales de experimentación en un modelo de inducción de úlceras gástricas por etanol 96°.

Objetivo general

Determinar la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de ***Juglans neotropica* Diels** “nogal peruano”.

Objetivos específicos

- Detectar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de ***Juglans neotropica* Diels** “nogal peruano”.
- Cuantificar la concentración del compuesto fenólico mayoritario en el extracto hidroalcohólico de las hojas de ***Juglans neotropica* Diels** “nogal peruano”
- Evaluar en diferentes concentraciones la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de las hojas de ***Juglans neotropica* Diels** “nogal peruano” en el modelo de experimentación de inducción de úlceras gástricas por etanol 96°.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Khennouf et al examinaron los efectos gastroprotectores de extractos acéticos de hojas al 70% de *Quercus suber* y *Quercus coccifera* (Fagaceae), así como taninos purificados a partir de estos extractos, en ratones y conejos utilizando un modelo de úlcera gástrica inducida por etanol. Ambos extractos, así como los taninos purificados impidieron la formación de lesiones en el estómago e inhibieron intensamente la peroxidación lipídica en el homogeneizado de cerebro de conejo. Los autores sugirieron que los efectos gastroprotectores se relacionan con las propiedades anti-lipoperoxidantes.²

Béjar y Suárez demostraron que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Jungia paniculata* “matico serrano” ejerce su efecto gastroprotector a través de mecanismos que involucran el estrés oxidativo.³

Arroyo et al demostraron la actividad citoprotectora y antisecretora de *Copaifera officinalis* “aceite de copaiba” en un modelo de inducción de úlceras por indometacina, donde el aceite mostró mejor actividad gastroprotectora que el omeprazol, siendo más efectivo en la cicatrización de úlceras que el fármaco. Es probable que los terpenoides presentes en el extracto de aceite de copaiba sean los responsables del efecto cicatrizante sobre úlceras en modelos animales.⁴

Juro S. et al demostraron que la emulsión aceite en agua y el hidrogel del extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels “nogal peruano” presentaron mayor actividad cicatrizante frente a otras formulaciones y al fármaco patrón (Cicatrin).⁵

Palomino-Pacheco et al demostraron que la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de hojas de *Guilleminea densa* “sanguinaria”, podría deberse a la presencia de taninos y flavonoides. El extracto se comportó como un agente dosis dependiente, mostrando efecto inhibitorio en un 58,78% y 82,72% a dosis de 400 y 600 mg/kg respectivamente. También se observó que el grupo que recibió sucralfato 500 mg/kg presenta similar grado de inhibición

de lesiones (88,78 %) que el grupo que recibió el extracto a dosis de 600 mg/kg.⁶

Calvo et al mencionan en su estudio sobre el efecto antiinflamatorio y antioxidante de los extractos metanólico y acuoso de hojas de *Jungia paniculata* “matico serrano” la actividad de polifenoles y flavonoides como responsables de los efectos. El extracto metanólico al 50% de *Jungia paniculata* a una dosis oral de 500 mg/kg mostró supresión significativa en el modelo de inducción de edema plantar por carragenina comparándolo con el grupo control.⁷

Ramírez demostró en su estudio sobre la actividad gastroprotectora del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* “canchalagua”, a dosis de 100 mg/kg con una eficacia de 62,16% en comparación con el omeprazol a dosis de 20 mg/kg con una eficacia de 75,49 % en un modelo de inducción de úlceras por etanol 96°.⁸

2.2 Generalidades

2.2.1 *Juglans neotropica* Diels

***Juglans neotropica* Diels** “nogal peruano” es un árbol grande que en el Perú, se distribuye en los departamentos de: Amazonas, Cajamarca, Cusco, Huancavelica, Junín, La Libertad, Lambayeque y Pasco. El rango de distribución altitudinal oscila entre 500 y 3 300 msnm (ceja de selva, en zonas de bosque húmedo premontano y montano). Se observa en los bosques secundarios tardíos y en el bosque maduro.⁹

Las hojas son consideradas fuente de compuestos saludables y han sido usadas ampliamente en la medicina tradicional para el tratamiento de dermatitis, insuficiencia venosa y úlceras; y posee propiedades antidiarreicas, antihelmínticas, antisépticas, antibacterianas, astringentes, antioxidantes, anti fúngicos, hipoglicémicas y antiproliferativas. Se ha reportado que las flores poseen propiedades antidepresivas, antihipóxicas, antihemolíticas y antiinflamatorias. Los frutos también poseen propiedades antioxidantes.¹⁰⁻¹⁷

En el Perú las hojas se utilizan como astringente, en heridas y lavados uterinos, con leche hervida para tratar la tos y en cataplasmas para las articulaciones inflamadas. El cocimiento del fruto fresco se utiliza en enjuagatorio para llagas y úlceras en la cavidad bucal. Las hojas, ramas tiernas y frutos verdes molidos se utilizan para pescar, por el efecto tóxico para peces.^{18,19}

2.2.1.1 Clasificación taxonómica según el sistema de Cronquist (anexo 1)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Hamamelididae

Orden: Juglandales

Familia: JUGLANDACEAE

Género: *Juglans*

Especie: *Juglans neotropica* Diels

2.2.1.2 Descripción morfológica

Árbol de hasta 35 m de altura y de 30 cm a 120 cm de diámetro. Tiene el fuste recto y cilíndrico, corteza externa agrietada, color marrón oscuro a negruzco, con placas rectangulares que se desprenden espontáneamente, la interna color crema claro. Hojas compuestas y alternas. Mide 20 cm a 45 cm de largo con 4 a 12 pares de hojuelas, cada una de ellas de 5 cm a 10 cm de largo, ápice agudo y borde aserrado; cubiertas de finos y diminutos pelos por el reverso, lo que les otorga una textura afelpada. Las hojas frescas poseen olor a melaza al estrujarse. Flores muy pequeñas de un solo sexo, agrupadas en espigas pendulares separadas. Las masculinas miden de 5 mm a 9 mm y tienen numerosos estambres, las femeninas miden de 2 mm a 5 mm y poseen un solo pistilo. Frutos globosos, de 4 cm a 6 cm de diámetro, con superficie lisa, poseen pulpa carnosa y una semilla muy dura y leñosa blanquecina comestible. Los episodios de floración han sido registrados entre noviembre y diciembre; la fructificación, entre diciembre y marzo.⁹

2.2.1.3 Composición química

Se ha identificado en las semillas, compuestos fenólicos: ácido gálico, ácido elágico, ácido cafeico y taninos. En las hojas, se identificaron nueve compuestos fenólicos: tres derivados del ácido hidroxicinámico y seis heterósidos flavonoides.¹⁰

El fruto posee quinonas juglona y 1,4-naftaquinona, y en el epicarpio se ha detectado el compuesto currumicidín de estructura desconocida. En la corteza del tallo se han identificado quinonas juglona y regiolona; triterpenos betulina y ácido betulínico; esterol, beta-sitosterol; alcaloide de isoquinolina berberina; el flavonoide catequina; y el compuesto fenólico ácido caféico. La corteza de la raíz contiene quinonas juglona, 3-3'-bis-juglona y ciclo-tri-juglona; y beta-sitosterol. En el polen se ha detectado el flavonoide 3-O-glucosil-galactósido-quercetina, y en la semilla el alcaloide indólico 5-hidroxi-triptamina.²⁰

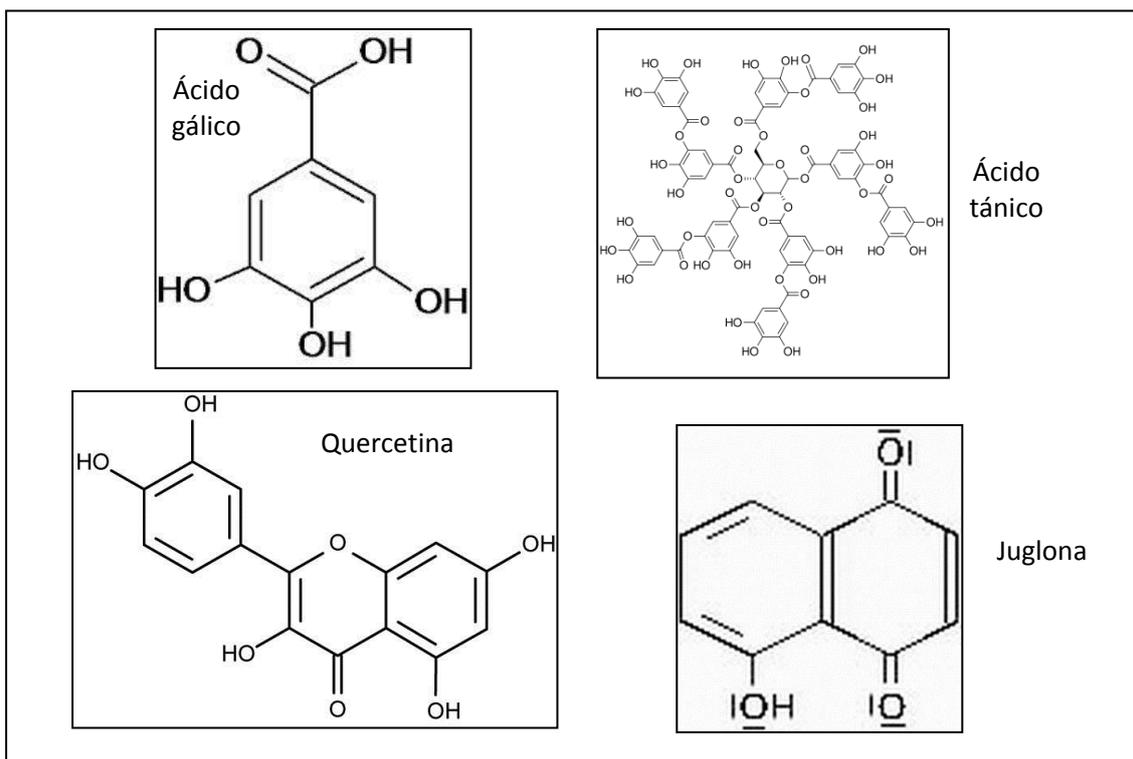


Figura 1. Estructuras químicas de algunos componentes de *Juglans neotropica* Diels. De: Gibaja Oviedo S. Pigmentos naturales quinónicos.¹⁸

2.2.2 Enfermedad úlcera péptica

2.2.2.1 Definición

La úlcera péptica (UP) es una enfermedad heterogénea atribuible a una serie de factores, que de forma aislada o en combinación, actúan produciendo desequilibrio entre los elementos agresivos y defensivos de la mucosa gastroduodenal que conlleva a la aparición de lesiones en el estómago y/o en el duodeno.

Se trata de una enfermedad relativamente frecuente, aproximadamente 10% de la población presenta síntomas de úlcera péptica (UP) a lo largo de su vida y al menos un 25% de éstos presentan complicaciones graves, que requieren asistencia hospitalaria en muchos casos.²¹

Uno de los principales aportes para el conocimiento de la enfermedad úlcera péptica fue en el año de 1982 con la identificación del *Helicobacter pylori* por Marshall y Warren, que marcó un hito en el enfoque y manejo del paciente ulceroso péptico.²²

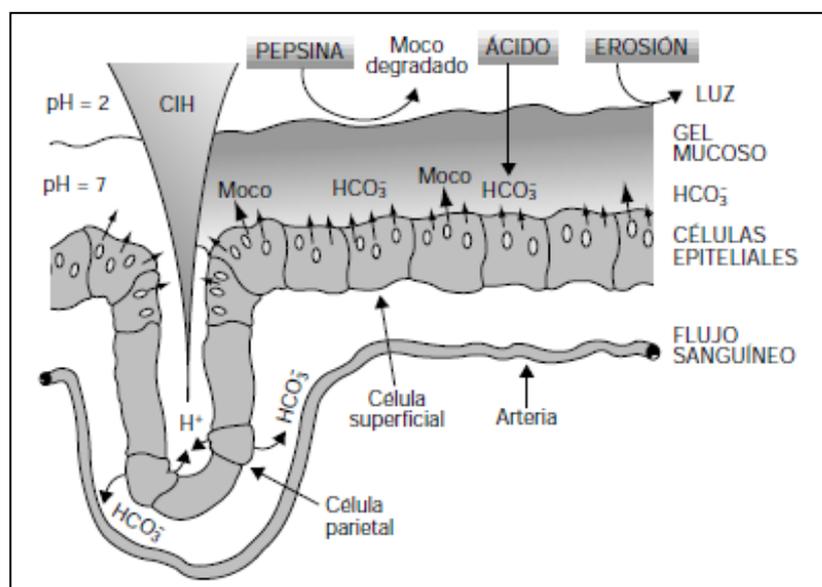


Figura 2. Mecanismo de defensa de la mucosa gastroduodenal. De: Flórez J. Farmacología humana.²⁴

2.2.2.2 Causas

El aumento relativo o absoluto de la producción de ácido o de disminución de las defensas de la mucosa como la producción de moco, bicarbonato, prostaglandinas, microflora colónica normal y acidez del estómago, predisponen a la enfermedad úlcera péptica.²³

2.2.2.3 Epidemiología

De acuerdo con el estudio realizado por Montes Teves et al, en el Perú esta infección ha sido descrita como de alta prevalencia, con frecuencias que van de 77-93 % en la población general en reportes iniciales. En el estudio que abarcó desde enero del 2000 hasta diciembre del 2005, se concluyó que el tipo de úlcera más común fue la duodenal, aunque en los últimos dos años se ha observado que la úlcera gástrica es la más frecuente; y las formas más comunes de presentación son la hemorragia digestiva alta y dispepsia y la frecuencia de infección por *Helicobacter pylori* fue de 65.3 % en todas las úlceras pépticas, 74.3 % en úlcera duodenal y 55.4 % en úlcera gástrica.²²

2.2.2.4 Fisiopatología

Las tres formas más comunes de úlceras pépticas (UP) son: la asociada a la infección por *Helicobacter pylori*, la causada por AINES y la úlcera por estrés.

2.2.2.4.1 Úlcera inducida por *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori es un bacilo espiral flagelado Gram (-) que se adquiere principalmente en la infancia, productor de ureasa que se encuentra en el estómago de cerca del 90 - 95% de los pacientes con úlcera duodenal (UD) y del 60-80% de aquellos con úlceras gástricas (UG), además la infección por este germen es la más frecuente a escala mundial.

Se ha demostrado que la infección por *Helicobacter pylori* actúa modificando la secreción de ácido en el estómago. Este microorganismo coloniza preferentemente el antro gástrico, provocando disminución de la concentración de somatostatina y una de la población de células D (productoras de somatostatina). Por este motivo, se pierde el efecto inhibitorio sobre la gastrina,

con la consiguiente hipergastrinemia que origina aumento de células parietales y de la secreción ácida.

2.2.2.4.2 Úlcera inducida por AINES

Este tipo de lesiones se establecen a consecuencia de la administración de estos fármacos incluso a bajas dosis, a corto, medio y largo plazo, pudiéndose presentar, con diferentes intensidades estando en relación con la composición química del fármaco y las condiciones específicas de cada paciente.

Las propiedades fisicoquímicas y el mecanismo de acción de estos fármacos, están directamente implicados en la patogenia de las lesiones gastrointestinales, al inhibir la síntesis de prostaglandinas (PG). Las PG tienen un efecto citoprotector de la mucosa gástrica ya que aumentan, la secreción de mucus, la secreción de bicarbonato, el flujo sanguíneo y la restauración epitelial. Por tanto, su inhibición altera los mecanismos de protección y permite que los ácidos biliares, la pepsina y el ácido clorhídrico ataquen la mucosa.

Las lesiones originadas en la mucosa gastroduodenal se producen por efecto tóxico local dependiente de las propiedades fisicoquímicas del fármaco, y por efecto tóxico sistémico tras la absorción y activación hepática del fármaco, mediado éste por el mecanismo de acción farmacológico que es la inhibición de la síntesis de PG.

2.2.2.4.3 Úlcera inducida por estrés

Se suele presentar en pacientes politraumatizados y en grandes quemados, enfermos con hipertensión endocraneal, después de una cirugía mutilante, en pacientes con sepsis y en aquellos que han sufrido shock hemorrágico. Aparece también en enfermos sometidos a ventilación mecánica y en general en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos con motivo de enfermedades graves.²¹

2.2.2.5 Terapéutica de la Enfermedad Úlcera Péptica

Hasta hace poco más de 10 años, las bases del tratamiento de la úlcera péptica eran exclusivamente fisiopatológicas. Como se conocía que la úlcera

se producía por un desequilibrio entre los factores agresivos (ácido clorhídrico y pepsina) y defensivos (factores derivados de la propia mucosa) el tratamiento farmacológico se basaba en restaurar este equilibrio, bien reduciendo la secreción de ácido y pepsina o bien potenciando los factores defensivos de la mucosa.

Sin embargo el descubrimiento del *Helicobacter pylori* proporcionó la posibilidad de afrontar el tratamiento de la enfermedad ulcerosa desde un punto de vista etiológico. Se sabe que más del 90% de las úlceras duodenales y alrededor del 75% de las gástricas son causadas por *Helicobacter pylori*. Así el tratamiento de esta infección permite la curación definitiva de la enfermedad.²¹

2.2.2.5.1 Tratamiento no farmacológico

Abstenerse de bebidas alcohólicas, porque en concentraciones elevadas lesionan la barrera mucosa del estómago y ocasionan gastritis, aunque no existen pruebas que demuestren que favorezcan las recidivas, si bien algunos autores han demostrado que su consumo retarda su cicatrización.

El tabaco se ha implicado como factor etiológico de la úlcera duodenal, retardando la cicatrización y aumentando las recurrencias. Este efecto se realiza a través de diferentes mecanismos como: aumento de la secreción ácida en el estómago, disminución de secreción pancreática de bicarbonato, disminución de síntesis de prostaglandinas y estimulación del reflujo del contenido duodenal hacia el estómago. El consumo de tabaco debe ser suprimido, o al menos, restringido por debajo de 10 cigarrillos/día en aquellos pacientes en los que la úlcera esté asociada al consumo de AINES. En pacientes con úlcera asociada al *Helicobacter pylori* estas recomendaciones no son necesarias, si bien el consumo de tabaco debe ser siempre limitado por los graves perjuicios para la salud que acarrea este consumo.

Como analgésico o antigripal utilizar paracetamol. La toma de ácido acetil salicílico (AAS) y AINES deben evitarse en paciente ulcerosos durante el brote agudo. Estos fármacos deben restringirse a indicaciones adecuadas. Se estima

que el 50% de los pacientes que consumen estos medicamentos, lo realizan injustificadamente, pudiéndose resolver sus problemas con un analgésico.²¹

2.2.2.5.2 Tratamiento farmacológico

A. Antihistamínicos H2

Todos ellos compiten con la histamina de forma específica y reversible a la altura del receptor H2 encargado de estimular la producción de ácido por la célula parietal, inhibiéndola en relación estricta con la dosis y el nivel plasmático. Debido a que la histamina ejerce un efecto sinérgico sobre la secreción ácida provocada por los restantes secretagogos, los antagonistas H2 disminuyen parcialmente la producción de CIH desencadenada por acetilcolina y pentagastrina con lo que muestran un «espectro » inhibitorio amplio. El más utilizado en este grupo es la ranitidina.

B. Inhibidores de la bomba de protones

Este grupo de compuestos actúa selectivamente sobre el eslabón final del proceso de secreción ácida gástrica, la ATPasa-H⁺/K⁺ o bomba de protones. Esta enzima representa un paso obligado en el proceso de secreción de H⁺ por lo cual, y en contraste con los antagonistas H2, la capacidad inhibitoria de estos fármacos es independiente del estímulo desencadenante de la producción ácida. Los fármacos más usados de este grupo son: omeprazol, esomeprazol, lanzoprazol y pantoprazol.

C. Neutralizantes de la secreción ácida o antiácidos

En esta clásica familia farmacológica se incluye un grupo de compuestos inorgánicos cuya característica común, base de su acción terapéutica, es neutralizar el HCl tras reaccionar con él en la luz gástrica.

Desde un punto de vista químico se diferencian dos grupos de antiácidos: los óxidos e hidróxidos de metales di-trivalentes (aluminio y magnesio en especial) y las sales de ciertos cationes comunes. Sin embargo, su clasificación más habitual se apoya en criterios farmacocinéticos y clínicos: el grado de absorción gastrointestinal y las posibles alteraciones sistémicas derivadas de este hecho.

Los más usados en el Perú son: hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio y magaldrato.

D. Protectores de la mucosa

Estos fármacos son útiles en el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la secreción ácida; sin embargo, se muestran inferiores a los modernos inhibidores, tanto en términos de eficacia (porcentaje de cicatrificaciones y rapidez con que se consigue) como en el control de la sintomatología dolorosa que acompaña a estos procesos, por lo que han sido relegados al tratamiento de casos aislados en los que la utilización de antisecretores no se aconseja.

Su uso continúa teniendo cierta vigencia en la profilaxis de las lesiones de la mucosa gastroduodenal producidas por AINES, aunque también en este caso, la inhibición de la secreción ácida goza de mayor preferencia. Los más utilizados en el Perú son: subsalicilato de bismuto y sucralfato.

E. Análogos de las prostaglandinas

Las más importantes a nivel gástrico son la prostaglandina E1 (PGE1) y la prostaglandina E2 (PGE2), y la prostaciclina (PGI2), que desempeñan un gran papel en la defensa mucosa frente a la agresión, que se observa con la elevada incidencia de lesiones mucosas gastrointestinales que acompañan a la inhibición de la ciclooxigenasa por AINES.

En el territorio mucoso actúan como vasodilatadores, incrementan la producción de moco y bicarbonato, estabilizan los lisosomas celulares y estimulan los fenómenos de diferenciación y proliferación celular por agresión. La brevedad de acción de los compuestos naturales ha promovido el desarrollo de análogos sintéticos con mayor duración de acción: el misoprostol y el rioprostil, como derivados de la PGE1, y arbaprostil, emprostil y trimoprostil, como derivados de la PGE2.

F. Erradicadores de *Helicobacter pylori*

El objetivo del tratamiento frente al *Helicobacter pylori* es conseguir la erradicación total del microorganismo y no su simple eliminación o aclaramiento.

La obtención de la erradicación es definida arbitrariamente como; “la incapacidad para detectar el germen por técnicas histológicas o microbiológicas un mes después de dejar el tratamiento”. Por el contrario, se habla de aclaramiento del *H. pylori* si esta imposibilidad para detectar el germen, se produce exclusivamente en el período de tratamiento farmacológico o durante el mes siguiente a su administración. Este margen de tiempo que distingue ambas definiciones, está determinado porque a las 4 semanas de finalizar el tratamiento, si no se ha erradicado el germen, reaparece con actividad elevada.²⁴

Siempre que se considere necesario, cuando exista una patología digestiva asociada, se procederá a la cicatrización de las úlceras. Esta consistirá en una combinación de dos antibióticos –en ocasiones tres- con un inhibidor de la bomba de protones durante una o dos semanas.

Las tasas de erradicación que se alcanzan en esta bacteria con tratamiento antibiótico se aproximan e incluso superan el 90% de los casos. Una vez erradicada la infección debe realizarse comprobación rutinaria un mes después de concluir el tratamiento. Las tasas de reinfección en adultos son bajas, menos del 1% al año, siendo el cumplimiento del tratamiento un factor esencial para el éxito del mismo.

La bacteria posee una gran capacidad de generar resistencia por lo que varias revisiones sistemáticas encontraron que los regímenes duales de erradicación comparados con los regímenes triples, erradican el *Helicobacter pylori* en menor número de pacientes.²¹

Tabla 1. Pautas erradicadoras de la infección por *Helicobacter pylori* que han demostrado ser eficaces: de: guía de seguimiento farmacoterapéutico sobre úlcera péptica. Universidad de Granada.²¹

DURACIÓN	FÁRMACOS			
Tratamientos basados en claritromicina				
14 días	Ranitidina citrato-bismuto 400 mg/12 h	Claritromicina 500mg/12 h		
7-10 días	Ranitidina citrato-bismuto 400 mg/12 h	Claritromicina 500mg/12 h	Amoxicilina 1 g /12 h	
7-10 días	Inhibidor de la bomba de protones c/ 12 h	Claritromicina 500mg/12 h	Amoxicilina 1 g /12 h	
Tratamientos basados en metronidazol				
14 días	Compuesto de bismuto /6 h	Tetraciclina 500mg/6 h	Metronidazol 400mg-500mg/6-8 h	
7-10 días	Inhibidor de la bomba de protones c/ 12 h	Amoxicilina 500mg/8-12 h	Metronidazol 400mg-500mg/6-8 h	
4-7 días	Inhibidor de la bomba de protones c/ 12 h	Subcitrato de bismuto coloidal/6 h	Metronidazol 400mg-500mg/6-8 h	Tetraciclina 500mg/6 h
Tratamientos basados en metronidazol + claritromicina				
7 días	Ranitidina citrato-bismuto 400 mg/12 h	Claritromicina 500mg/12 h	Metronidazol 400mg-500mg/12 h	
7 días	Inhibidor de la bomba	Claritromicina	Metronidazol	

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 EQUIPOS Y MATERIALES

3.1.1 Material biológico

- Ratas macho albinas raza Sprague-Dawley de 150 g a 290 g.
- Muestra seca pulverizada de las hojas de ***Juglans neotropica* Diels** “nogal peruano”

3.1.2 Equipos de laboratorio

- Molino de cuchillas Willey Mill
- Estufa Memmert
- Tamiz N°20
- Balanza analítica
- Espectrofotómetro Merck
- Lámpara UV Merck
- Mesa y equipo de disección

3.1.3 Material de laboratorio

- Sondas orogástricas para rata
- Gasa estéril
- Papel kraft
- Papel filtro
- Papel de aluminio
- Frascos de color ámbar
- Viales

- Pesafiltros
- Embudo de vidrio
- Beaker de 250 y 100 mL
- Gradillas
- Pipetas y micropipeta de 100 a 1000 μ l
- Cromatofolios de silica gel 60 Merck
- Cubetas cromatográficas

3.1.4 Material farmacológico y reactivos

- Suero fisiológico 0,9 %
- Omeprazol 20 mg (Farminindustria)
- Sucralfato 1g/5 mL (Sucragant – Roxfarma)
- Ácido gálico y ácido tánico
- Quercetina y rutina
- Metanol y butanol
- Ácido acético
- Acetona
- Reactivo de Folin Ciocalteu (Merck)
- Carbonato de sodio 20 %
- Tricloruro férrico y tricloruro de aluminio
- Agua destilada y bidestilada
- Etanol 70° y Etanol 96°
- Formol al 37 %

3.2 METODOLOGÍA

3.2.1 Recolección, selección y desecación del material botánico

La muestra vegetal fue recolectada durante el mes de junio del 2013 en el distrito de Huandoval, provincia de Pallasca, Región Ancash a 3 035 m.s.n.m y clasificada taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (Anexo 1)

Las hojas fueron seleccionadas, separadas, lavadas, ventiladas a medio ambiente y sometidas a desecación en estufa a 40°C, posteriormente se procedió a la molienda en molino de cuchillas y tamizado en tamiz N°20 para su posterior estandarización.

3.2.2 Preparación del extracto hidroalcohólico estandarizado de *Juglans neotropica* Diels

Doscientos treinta gramos de las hojas fueron maceradas en una solución hidroalcohólica de etanol: agua (7:3), durante 14 días en un frasco de color ámbar a temperatura ambiente, con agitación constante durante los primeros siete días. Se filtró la solución con gasa estéril y papel filtro; el extracto se colocó en estufa a 40°C para eliminar el etanol. La muestra se guardó en un frasco de color ámbar con tapa, hasta el momento de su utilización.

El análisis fitoquímico cualitativo se realizó con pruebas fisicoquímicas de caracterización según la guía de prácticas del laboratorio de farmacognosia, con cambios de coloración y/o formación de precipitados. La marcha fitoquímica se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

3.2.3 Determinación de la humedad

La determinación de la humedad se realizó por el método gravimétrico, pesando la muestra de hojas frescas en balanza analítica y secándola hasta peso constante en un horno a 105°C hasta que la diferencia de peso entre las 2 últimas pesadas se encuentre dentro de la exactitud requerida ($\leq 0,2$ mg) lo

que indica que se alcanzó el peso constante.²⁵ Los porcentajes se determinaron mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(\text{Pesafiltro} + \text{muestra seca}) - (\text{Pesafiltro vacío})}{\text{Muestra húmeda}} \times 100$$

3.2.4 Cromatografía en capa delgada

3.2.4.1 Determinación de taninos

Se utilizó como fase estacionaria silica gel 60, como fases móviles butanol: ácido acético: agua (BAW) (4:1:5) y acetona: metanol (1:1)²⁶; como estándares, ácido gálico y ácido tánico disueltos en agua. Se usaron como reveladores FeCl₃ 1%, vainillin clorhídrico²⁷ y vainillin sulfúrico.

3.2.4.2 Determinación de flavonoides

Se utilizó como fase estacionaria silica gel 60, como fases móviles butanol: ácido acético: agua (BAW) (4:1:5) y acetato de etilo: metanol (95:5)²⁸; como estándares, quercetina y rutina disueltos en metanol. Se observaron a luz ultravioleta de 366 nm antes y después de usar el revelador AlCl₃.

3.2.5 Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales

La concentración del compuesto fenólico mayoritario en el extracto fue determinado usando el método colorimétrico de Folin Ciocalteu.

Fundamento: El reactivo de Folin Ciocalteu es una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con restos fenólicos presentes en las proteínas (tirosinas) y en compuestos como ácido gálico y sus derivados, flavonoides, etc. El ácido fosfomolibdotúngstico de color amarillo al ser reducido por los grupos fenólicos, da lugar a un complejo de color azul intenso.²⁹

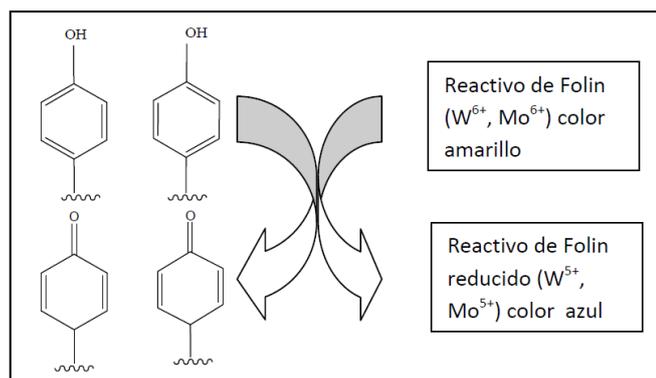


Figura 3. Mecanismo de reacción del método de Folin Ciocalteu²⁹

Técnica según Durango et al³⁰ modificado

Preparación de la curva de calibración: de un primer stock de 20 mg de ácido gálico en 50 mL de agua bidestilada (40 mg%), se tomó 5 mL de esta solución y se completó con agua bidestilada hasta un volumen de 20 mL, obteniendo una dilución de 1 en 4, donde la concentración final (segundo stock) fue de 100 µg/mL. De este stock se tomó 100 µL, 300 µL, 500 µL y 750 µL y se completó cada solución con agua bidestilada hasta un volumen de 1 mL.

Determinación del compuesto fenólico mayoritario en la muestra: se pesaron 21.6 mg de extracto seco en 5 mL de etanol 70°, luego se tomó 300 µL y se completó con 600 µL de agua bidestilada, de esta solución se tomó 200 µL y se completó con 400 µL de agua bidestilada para obtener una concentración final de 480 µg de extracto seco/ml.

Procedimiento: se tomó 300 µL de cada estándar de ácido gálico y de muestra y se completó con 450 µL de reactivo de Folin Ciocalteu diluido 1 en 3, se dejó reposar 5 minutos y luego se añadió 450 µL de Na₂CO₃ al 20% y se completó con 1800 µL de agua bidestilada, y se mantuvo 1 hora en oscuridad. Todas las soluciones se leyeron a longitud de onda de 760 nm. La muestra se analizó por duplicado. Los compuestos fenólicos totales fueron expresados en mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/gramo de extracto seco.

3.2.6 Determinación de la actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de hojas de *Juglans neotropica* Diels

El ensayo farmacológico se llevó a cabo en el Bioterio de la Facultad de Medicina de San Fernando de la UNMSM.

Preparación de los animales

Los animales fueron alojados en jaulas metálicas de crianza para su aclimatación por la semana previa a los experimentos, con libre acceso a agua y alimento y con ciclos de 12 horas de luz/oscuridad.

Modelo de inducción de úlceras gástricas por etanol de 96°

Material biológico: se emplearon 42 ratas albinas Sprague-Dawley de 150 g a 290 g de peso procedentes del bioterio de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Los animales se alojaron en jaulas metálicas y mantuvieron en ayunas durante 24 horas antes de comenzar el experimento, dejándolos únicamente con agua *ad libitum*.

Agente ulcerogénico: para la producción de úlceras gástricas se utilizó etanol 96° a la dosis de 1 mL /250g de peso del animal, una sola dosis.

Preparación de los fármacos patrones: como medicamentos se emplearon omeprazol a dosis de 20 mg /kg y sucralfato a dosis de 3 mL/kg (1g/5 mL→ 600 mg/3 ml), única dosis para cada fármaco.

Los tratamientos se administraron vía oral con la ayuda de cánula orogástrica de metal, una hora antes de la administración del agente ulcerogénico (etanol 96°), según se detalla en la Tabla 2:

Tabla 2. Distribución de grupos para evaluación de la actividad gastroprotectora

Grupo	Animales	Tratamientos	Agente Ulcerogénico
A	6	Suero fisiológico 1 mL/250 g	Suero fisiológico 1 mL/250 g
B	6	Suero fisiológico 1 mL/250 g	Etanol 96° 1mL/250 g
C	6	Omeprazol 20 mg/kg	Etanol 96° 1mL/250 g
D	6	Sucralfato 3 mL/kg	Etanol 96° 1mL/250 g
E	6	<i>Juglans neotropica</i> 50 mg/kg	Etanol 96° 1mL/250 g
F	6	<i>Juglans neotropica</i> 250 mg/kg	Etanol 96° 1mL/250 g
G	6	<i>Juglans neotropica</i> 500 mg/kg	Etanol 96° 1mL/250 g

Leyenda: A: Blanco, B: Control, C: Patrón 1, D: Patrón 2

Los animales fueron sacrificados 6 horas después de la administración del etanol 96° con una sobredosis de pentobarbital sódico (Halatal) de uso veterinario por vía intraperitoneal. Posteriormente, se realizó una laparotomía abdominal, extrayendo los estómagos con cuidado. Para calificar las lesiones de la mucosa gástrica, se consideraron las variables de edema y hemorragia, siendo calificados según la magnitud de la lesión observada. Los parámetros antes mencionados medidos empleando la escala de puntaje observacional: 0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderado y 3 = severo.

El índice de lesiones promedio y porcentaje de inhibición de lesiones gástricas se calculó de acuerdo a las Escalas de Alada et al (2008) modificada⁴ (Tabla 3) y Escala de Marhuenda⁸ (Tabla 4). Para el estudio histopatológico, los estómagos fueron extirpados y lavados suavemente con solución salina; se fijaron las muestras en formol al 10% y la tinción se realizó con hematoxilina – eosina. Los resultados del estudio se ubican en los anexos, de la figura 38 a la figura 47.

Tabla 3. Escala de Alada et al (2008) modificada⁴

Puntaje	Características
0	Normal
1	Leve (úlceras puntiformes < 1 mm o microhemorragias)
2	Moderada (2 o más úlceras hemorrágicas pequeñas)
3	Severa (úlceras grandes > 2 mm de diámetro)

Tabla 4. Escala de Marhuenda⁸

Puntaje	Características
0	Sin lesión
1	Úlceras hemorrágicas finas y dispersas y de longitud menor a 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

Obtención del porcentaje de inhibición de úlceras gástricas

Se calculó la puntuación total (la suma del puntaje total para todas las ratas del mismo grupo) y el promedio de ambas escalas.

El puntaje total se expresó en porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración del grupo control:

$$\% \text{Inhibición} = \frac{\text{P.media de grupo control} - \text{P.media de grupo patrón}}{\text{P.media de grupo control}} \times 100$$

P. media de grupo control

Donde:

P= puntaje obtenido en la evaluación macroscópica según escala.

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

3.2.7 Análisis estadístico

Los datos fueron procesados utilizando el paquete estadístico SPSS (statistical package for social sciences), versión 22.0, año 2013. Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA). Se consideró significativa una $p < 0,05$, con intervalo de confianza al 95%. Se determinó la media y desviación estándar de los valores individuales obtenidos para los animales de cada grupo.

IV. RESULTADOS

4.1. Estandarización del extracto hidroalcohólico de hojas de *Juglans neotropica* Diels

4.1.1 Determinación de humedad

Tabla 5. Primera pesada

N°	Pesafiltro vacío (g)	Muestra húmeda (g)	Pesafiltro + muestra seca	% Humedad
1	25.0677	3.0100	26.4382	45.53 %
2	25.1142	3.0044	26.4513	44.50 %
3	22.5197	3.0412	23.8506	43.76 %

Tabla 6. Segunda pesada

N°	Pesafiltro vacío (g)	Muestra húmeda (g)	Pesafiltro + muestra seca	% Humedad
1	25.0677	3.0100	26.4373	45.50 %
2	25.1142	3.0044	26.4504	44.47 %
3	22.5197	3.0412	23.8496	43.72 %

% de Humedad de hojas frescas de nogal: 44.56 ± 0.02 %

4.1.2 Determinación de parámetros fisicoquímicos

Tabla 7. Parámetros fisicoquímicos

Propiedades	Extracto al 2%
Olor	Sui generis
Color	Marrón oscuro
Aspecto	Líquido
pH	6.5
Densidad relativa	0.6052
Índice de refracción (T: 22,3°C)	1.365/22°Brix

4.1.3 Ensayo de solubilidad

Tabla 8. Ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas de *Juglans neotropica* Diels

Solvente	Resultado
Agua destilada	++
Etanol 96°	++
Etanol 70°	++++
Éter etílico	+++
Metanol	+
Hexano	+
Acetato de etilo	++
Cloroformo	+++
Diclorometano	+++

Leyenda: +: Poco soluble, ++: Medianamente soluble, +++: Soluble, ++++: Muy soluble



Figura 4. Ensayo de solubilidad

4.1.4 Marcha fitoquímica

Tabla 9. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de hojas de *Juglans neotropica* Diels

Compuesto	Reacción	Resultado
Carbohidratos	Molish	+++
Azúcares reductores	Fehling	+++
	Benedict	++
	Trommer	+++
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	++++
Taninos	Gelatina	++
Antraquinonas	Borntrager	++
Aminoácidos libres	Ninhidrina	-
Esteroides	Liebermann	
Triterpenos	Burchard	+++
Flavonoides	Shinoda	+
Saponinas	Espuma	+
Alcaloides	Bertrand	+
	Bouchardart	+
	Dragendorff	+
	Mayer	+
	Popoff	+
	Sonneschein	-

Leyenda: - (Ausencia), + (Trazas), ++ (Positivo), +++ (Abundante), ++++ (Muy abundante)

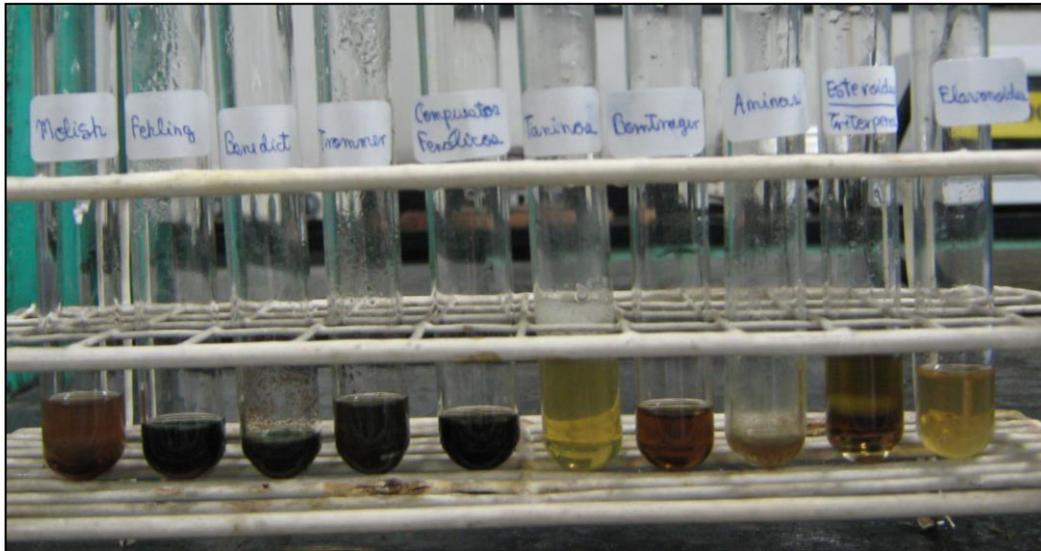


Figura 5. Observación de los resultados de la marcha fitoquímica

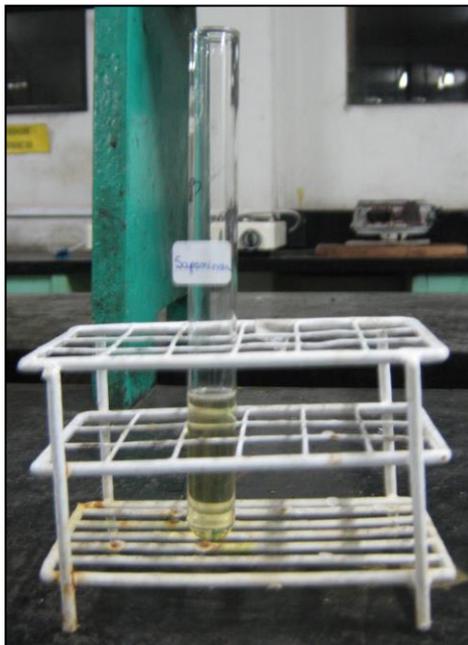


Figura 6. Saponinas

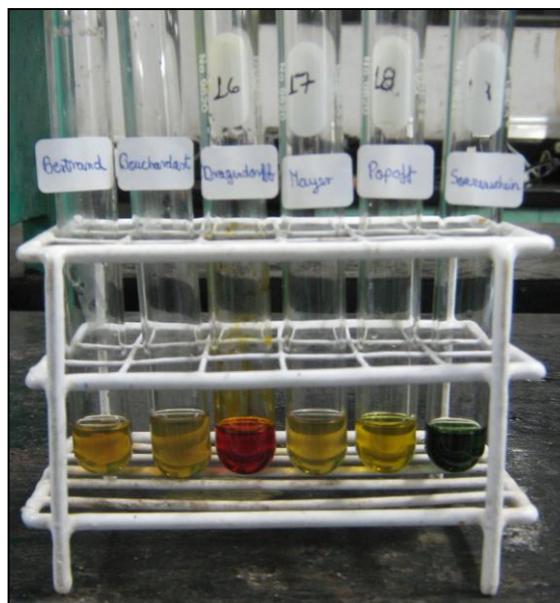


Figura 7. Alcaloides

4.1.5 Cromatografía en capa delgada de taninos y flavonoides del extracto hidroalcohólico de hojas de *Juglans neotropica* Diels en sistema BAW

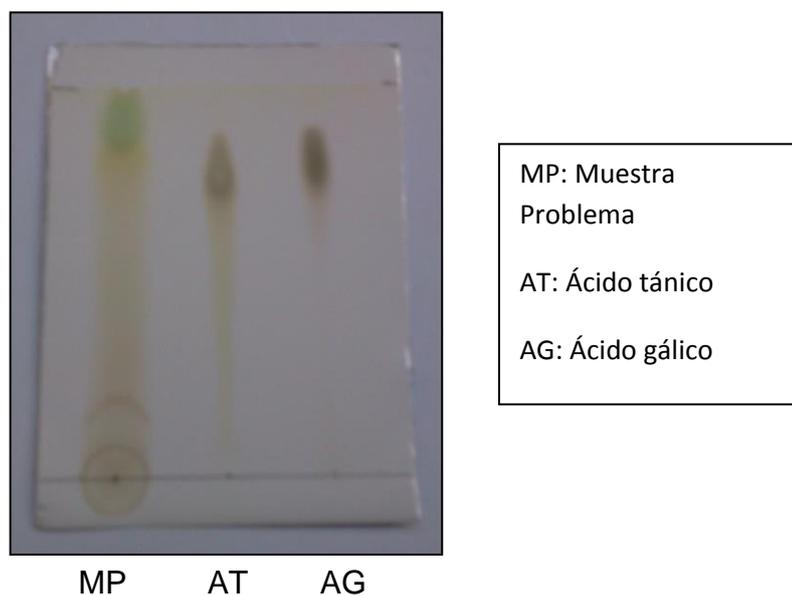


Figura 8. Cromatograma de taninos antes del revelador FeCl_3 1%



Figura 9. Cromatograma de taninos después del revelador FeCl_3 1%

Distancia fase móvil	: 5.0 cm	
Distancia muestra problema	: 3.9 cm	$Rf_1 = 0.78$
Distancia ácido tánico	: 3.9 cm	$Rf_2 = 0.78$
Distancia ácido gálico	: 4.0 cm	$Rf_3 = 0.80$

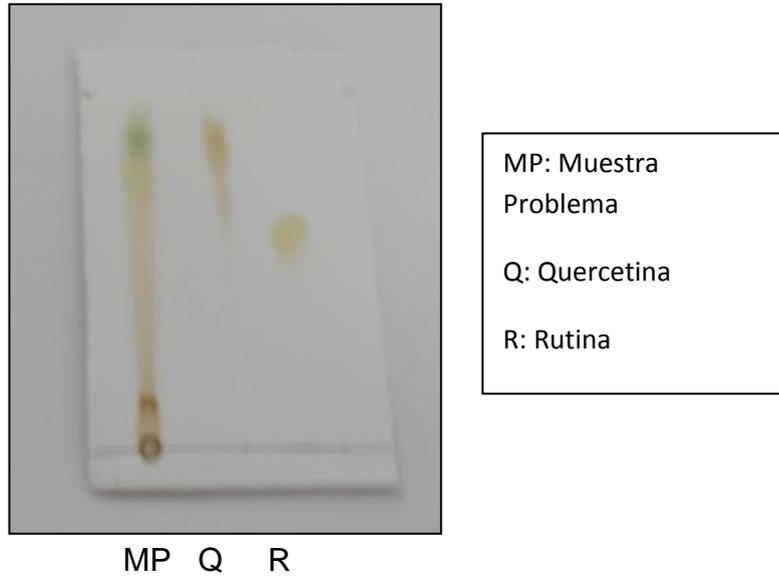


Figura 10. Cromatograma de flavonoides antes del revelador AlCl_3 sin luz UV

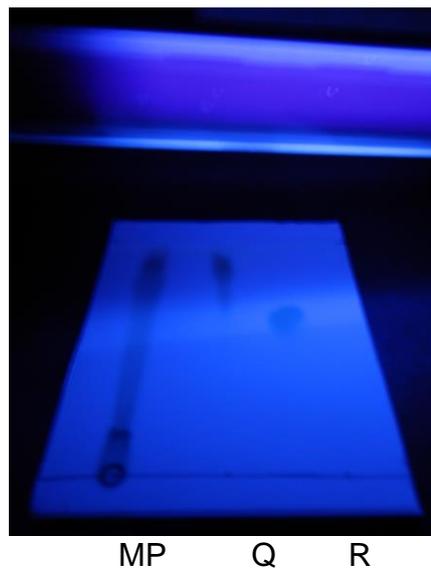


Figura 11. Cromatograma de flavonoides antes del revelador AlCl_3 a luz UV

Distancia fase móvil	: 5.1 cm	
Distancia muestra problema	: 4.0 cm	$R_{f_1} = 0.78$
Distancia quercetina	: 4.4 cm	$R_{f_2} = 0.86$
Distancia rutina	: 3.3 cm	$R_{f_3} = 0.64$

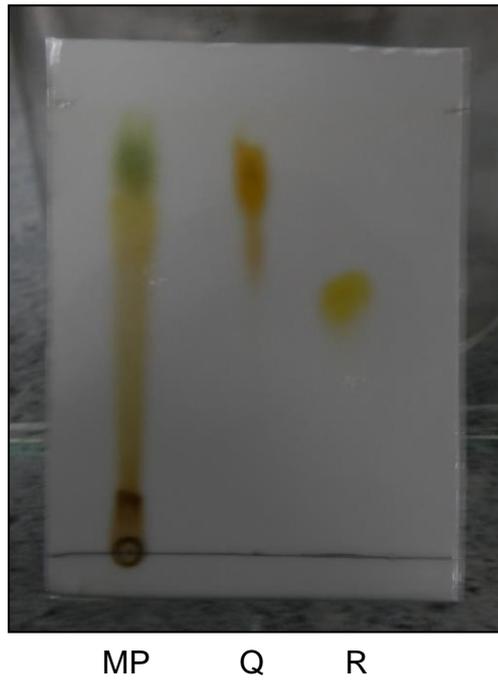


Figura 12. Cromatograma de flavonoides después del revelador AlCl_3 sin luz UV

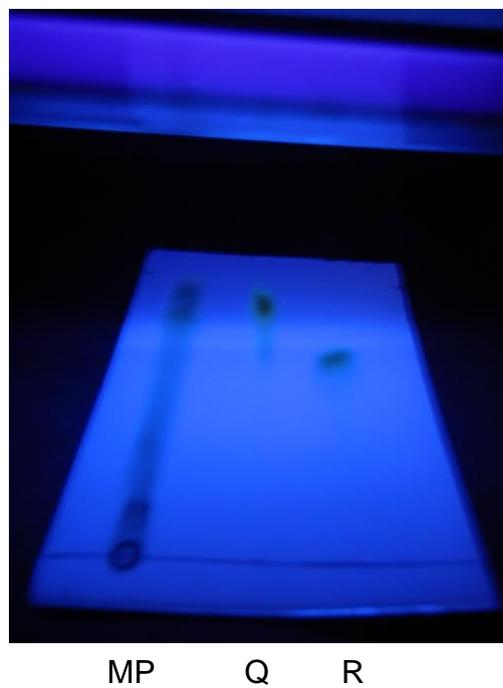


Figura 13. Cromatograma de flavonoides después del revelador AlCl_3 a luz UV

4.2. Determinación del compuesto fenólico mayoritario según el método colorimétrico de Folin Ciocalteu

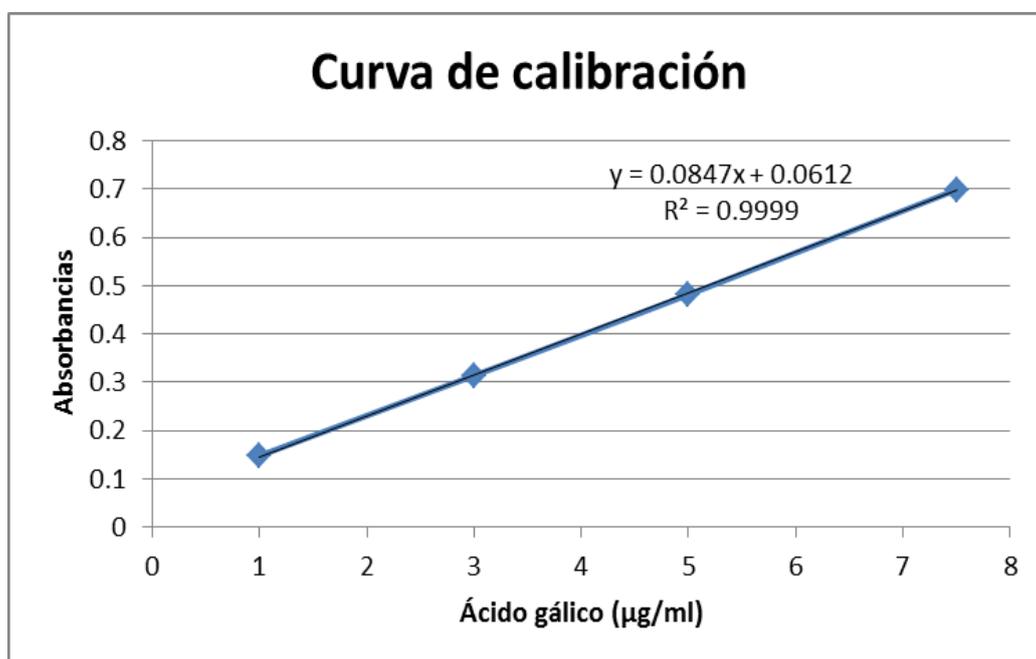


Figura 14. Curva de calibración del ácido gálico

Absorbancias a 760 nm

1 µg/ml → 0.148

3 µg/ml → 0.314

5 µg/ml → 0.482

7.5 µg/ml → 0.699

Cálculo del compuesto fenólico mayoritario

Muestra problema:

1ra lectura: 0.261 = 2.49 µg/ml (0.00249 mg EAG)

2da lectura: 0.250 = 2.38 µg/ml (0.00238 mg EAG)

0.00249 mg EAG ---- 0.144 mg de extracto seco = 17.291 mg EAG/g

0.00238 mg EAG ---- 0.144 mg de extracto seco = 16.527 mg EAG/g

La muestra posee 16.909 ± 0.382 mg EAG/g de extracto seco

4.3 Determinación de la actividad gastroprotectora

Tabla 10. Datos obtenidos al evaluar edema y hemorragia en la actividad gastroprotectora en ratas macho con inducción de úlceras gástricas por etanol 96°

Variable	Tratamiento	Valor medio ± desviación estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite Inferior	Límite superior
Edema	Blanco	1.33 ± 1.211	0.06	2.60
	Control	2.17 ± 0.983	1.13	3.20
	Omeprazol 20mg/kg	2.00 ± 1.095	0.85	3.15
	Sucralfato 600mg/kg	1.17 ± 0.408	0.74	1.60
	Nogal 50 mg/kg	2.50 ± 0.837	1.62	3.38
	Nogal 250 mg/kg	0.50 ± 0.548	-0.07	1.07
	Nogal 500 mg/kg	0	0	0
Hemorragia	Blanco	0	0	0
	Control	2.17 ± 0.983	1.13	3.20
	Omeprazol 20mg/kg	2.00 ± 1.095	0.85	3.15
	Sucralfato 600mg/kg	1.17 ± 0.408	0.74	1.60
	Nogal 50 mg/kg	2.50 ± 0.837	1.62	3.38
	Nogal 250 mg/kg	0.50 ± 0.548	-0.07	1.07
	Nogal 500 mg/kg	0.17 ± 0.408	-0.26	0.60

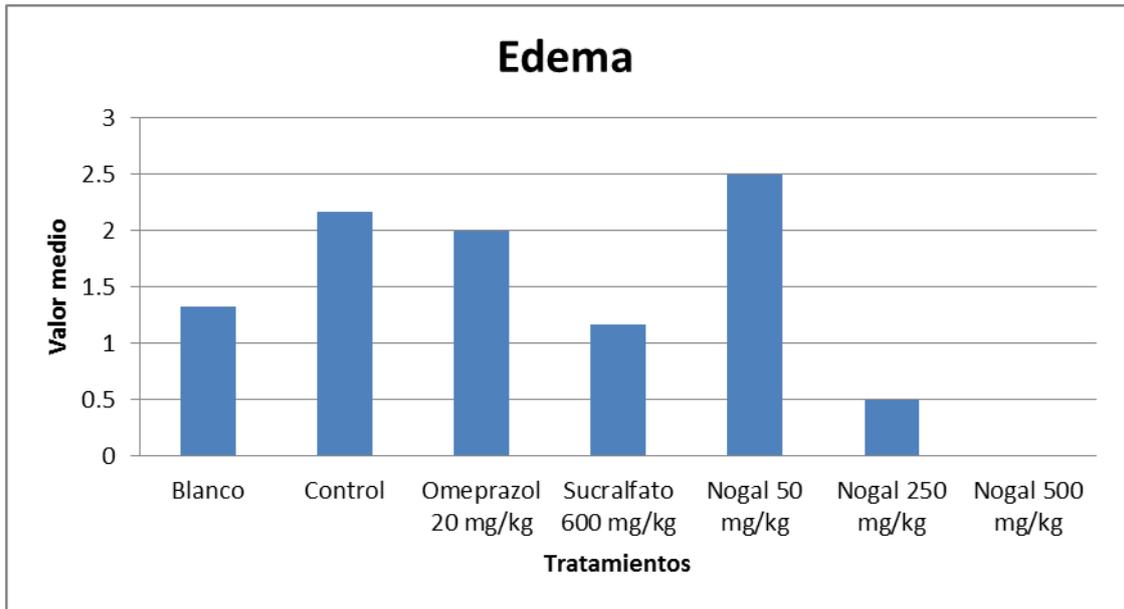


Figura 15. Evaluación de edema en ratas con inducción de úlceras gástricas por etanol 96°

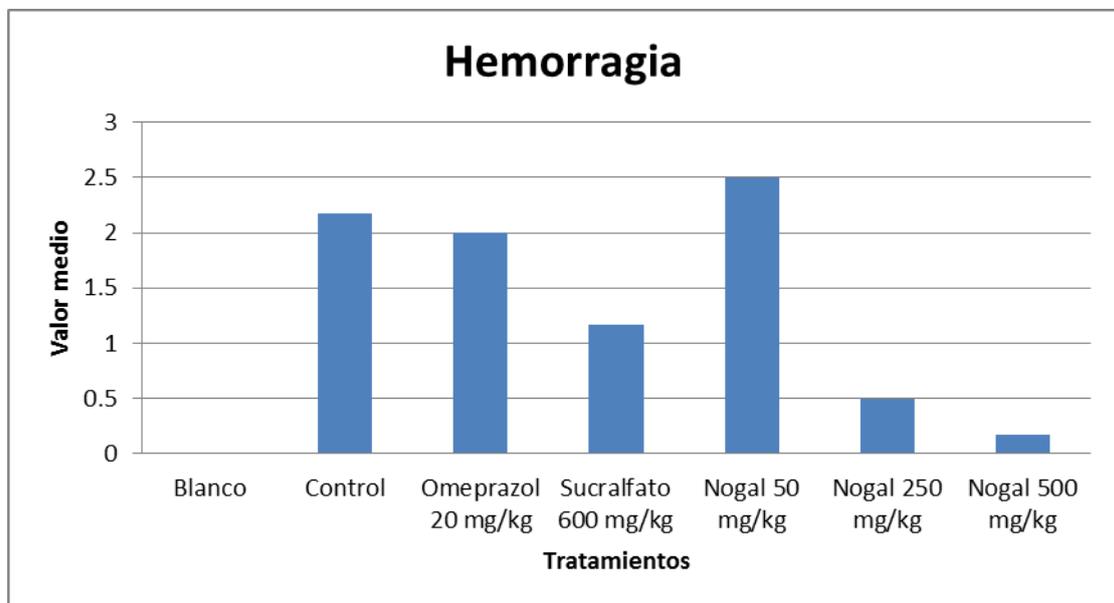


Figura 16. Evaluación de hemorragia en ratas con inducción de úlceras gástricas por etanol 96°

Tabla 11. Valoración media de úlceras gástricas: escala de Alada et al (2008) modificada⁴

Tratamiento	N	Media	Desviación	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
				Límite Inferior	Límite superior		
Blanco	6	0	0	0	0	0	0
Control	6	2.17	0.983	1.13	3.20	1	3
Omeprazol 20 mg/kg	6	2.00	1.095	0.85	3.15	1	3
Sucralfato 600 mg/kg	6	1.17	0.408	0.74	1.60	1	2
Nogal 50mg/kg	6	2.50	0.837	1.62	3.38	1	3
Nogal 250mg/kg	6	0.50	0.548	-0.07	1.07	0	1
Nogal 500mg/kg	6	0.17	0.408	-0.26	0.60	0	1

Tabla 12. Valoración media de úlceras gástricas: escala de Marhuenda⁸

Tratamiento	N	Media	Desviación	Intervalo de confianza al 95%		Mínimo	Máximo
				Límite Inferior	Límite superior		
Blanco	6	0	0	0	0	0	0
Control	6	4.33	3.077	1.10	7.56	1	8
Omeprazol 20 mg/kg	6	2.33	1.633	0.62	4.05	1	5
Sucralfato 600 mg/kg	6	1.17	0.408	0.74	1.60	1	2
Nogal 50mg/kg	6	2.67	1.033	1.58	3.75	1	4
Nogal 250 mg/kg	6	0.50	0.548	-0.07	1.07	0	1
Nogal 500 mg/kg	6	0.17	0.408	-0.26	0.60	0	1

Tabla 13. Porcentaje de inhibición de úlceras gástricas: escala de Alada et al (2008) modificada⁴ y escala de Marhuenda⁸

Tratamiento	N	Valor. Media Escala de Alada et al	Valor. Media Escala de Marhuenda	Promedio	Porcentaje de inhibición (%)
Blanco	6	0	0	0	100
Control	6	2.17	4.33	3.25	0
Omeprazol 20 mg/kg	6	2.00	2.33	2.165	33.38
Sucralfato 600 mg/kg	6	1.17	1.17	1.17	64.00
Nogal 50 mg/kg	6	2.50	2.67	2.585	20.46
Nogal 250 mg/kg	6	0.50	0.50	0.50	84.61
Nogal 500 mg/kg	6	0.17	0.17	0.17	94.77
Total	42				

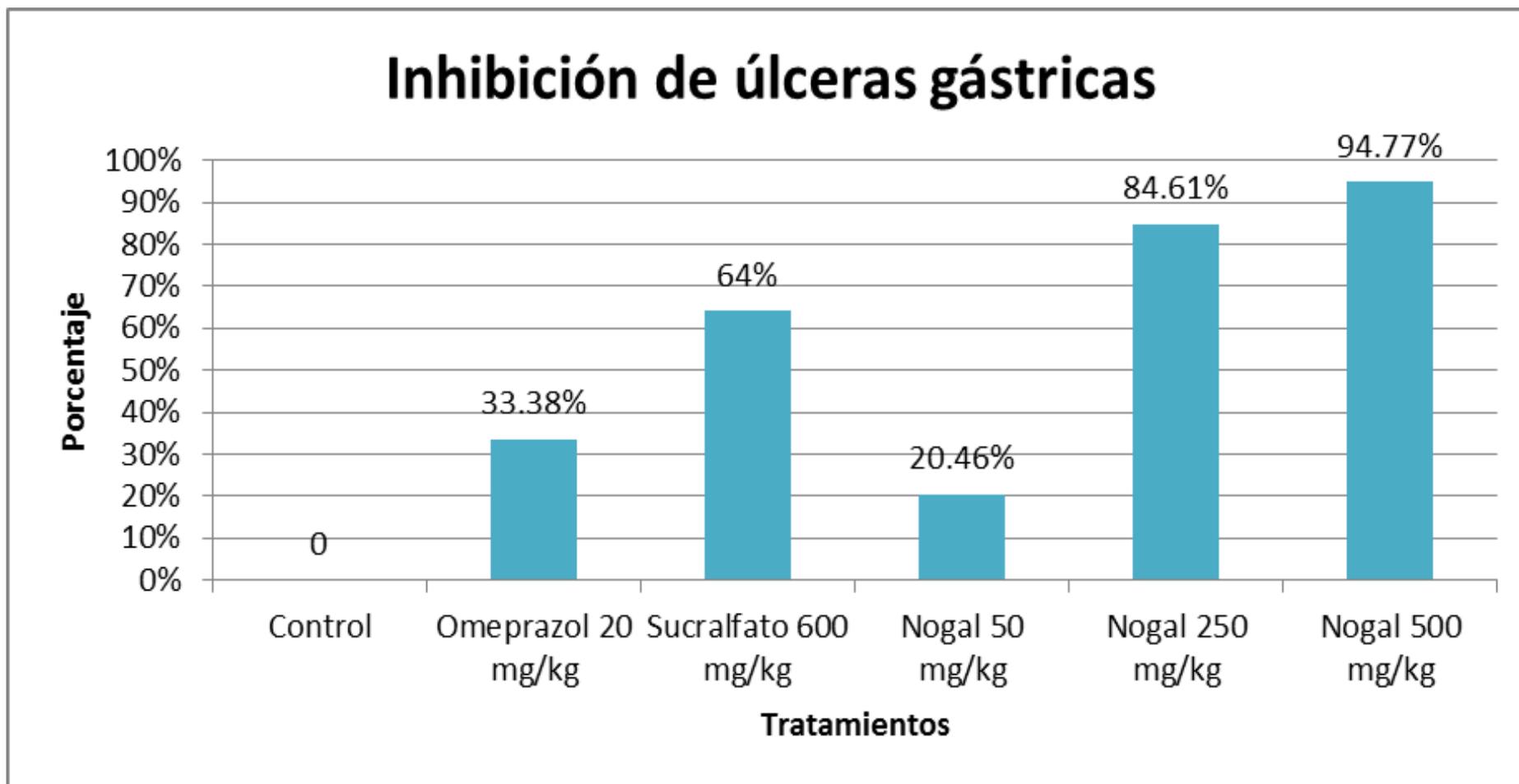


Figura 17. Porcentaje de inhibición de úlceras gástricas: escala de Alada et al (2008) modificada⁴ y escala de Marhuenda⁸

V. DISCUSIÓN

La elaboración del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de ***Juglans neotropica* Diels** comprendió la determinación de humedad, evaluación de parámetros fisicoquímicos, marcha de solubilidad, marcha fitoquímica y huella cromatográfica. El porcentaje de humedad de las hojas frescas fue 44.56 %, encontrándose dentro de los valores normales de humedad para hojas (20 - 75 %).³¹ Los parámetros fisicoquímicos del extracto fueron olor, color, aspecto, pH, densidad relativa e índice de refracción (tabla 7). La marcha de solubilidad (tabla 8) demostró que el extracto seco era más soluble en solventes polares: etanol 70° y clorados: cloroformo y diclorometano.

La marcha fitoquímica (tabla 9) reveló la presencia de carbohidratos, azúcares reductores, compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, antraquinonas esteroides, triterpenos, saponinas y alcaloides. En el estudio realizado por Juro et al, el extracto hidroalcohólico de las hojas de ***Juglans neotropica* Diels** demostró la presencia de aminoácidos, flavonoides, taninos y saponinas como componentes mayoritarios, mientras que los compuestos fenólicos y lactonas se encontraban en menor cantidad. También se encontraron gran cantidad de taninos gálicos y catéquicos, al igual que en este estudio, lo que remarca su acción astringente.⁵

Los compuestos fenólicos como taninos y flavonoides; y algunos terpenos, actúan como antioxidantes, infiriendo así un efecto citoprotector, que en diferentes plantas ya se ha comprobado su efecto gastroprotector, antisecretor, antiinflamatorio e inhibidor de la migración de las células inflamatorias y actividad ante los radicales libres; los flavonoides son considerados protectores celulares, conociendo su actividad como antioxidantes, además incrementan las prostaglandinas que se encuentran disminuidas por inhibición de la COX posterior al uso de AINES.³² Sánchez Calero et al demostraron que el extracto acuoso de *Rhizopora mangle* posee propiedades antioxidantes frente al daño oxidativo de biomoléculas como proteínas y ADN, donde los compuestos fenólicos son los principales responsables de la actividad.³³

Zina Taveira et al describieron el mecanismo de acción de los taninos sobre las úlceras pépticas: precipitan micro proteínas en el lugar de la úlcera péptica, formando una película protectora que previene la absorción de sustancias tóxicas, y promueve la resistencia a la acción de las enzimas proteolíticas.²

La concentración de taninos y flavonoides se determinó por cromatografía de capa delgada, utilizando tres sistemas de solventes: BAW (4:1:5) para taninos y flavonoides, acetona: metanol (1:1) para taninos y acetato de etilo: metanol (95:5) para flavonoides. Los reveladores fueron tricloruro férrico, vainillin clorhídrico y vainillin sulfúrico para taninos y tricloruro de aluminio para flavonoides. Para el sistema de solventes BAW, en el caso de los taninos, se observó mayor concentración de ácido tánico con el revelador de tricloruro férrico, al observar la muestra problema como el estándar recorrieron la misma distancia ($r_f = 0.78$) (figuras 8 y 9). En el caso de los flavonoides, el extracto hidroalcohólico mostró mayor concentración de quercetina antes (figuras 10 y 11) y después (figuras 12 y 13) del revelado con luz UV 366 nm y con tricloruro de aluminio, donde la muestra problema recorrió una distancia cercana al estándar ($r_{fMP} = 0.78$ y $r_{fST} = 0.86$), con coloración naranja que la diferencia de la quercetina: amarillo, probablemente se debió a que la muestra no estaba purificada o que contenía otro tipo de flavonoides como flavonoles con un 3-OH libre y con y/o sin 5-OH libre. No se obtuvieron resultados favorables con los sistemas acetona: metanol y acetato de etilo: metanol; a pesar de la ventaja del recorrido más rápido en la fase estacionaria. Los reveladores para estos sistemas no arrojaron los mismos resultados que se observaron en *Boldoa purpurascens cav* color amarillo parduzco para taninos²⁶ y en *Brownea ariza* Brenth de color amarillo para flavonoides²⁸; esto probablemente debido a que el extracto no estaba purificado.

Para la cuantificación del compuesto fenólico mayoritario se utilizó el método colorimétrico de Folin Ciocalteu, tomando como solución patrón ácido gálico (figura 14). El valor obtenido fue 16.909 ± 0.382 mg EAG/g de extracto seco. En el estudio realizado por Cosmulescu y Trandafir, se analizaron 14 cultivos de *Juglans regia*, donde el contenido de polifenoles variaba de 17.7 mg EAG/g de extracto seco hasta 39.6 mg EAG/g de extracto seco y el contenido

promedio fue 28.1 mg EAG/g de extracto seco.¹² Rahimipannah et al usaron las cáscaras de *Juglans regia* para evaluar el contenido de polifenoles totales, que dio como resultado 34.3 mg EAG/g de extracto seco.³⁴ Las diferencias entre estos estudios podrían deberse a factores como el lugar de cultivo y el órgano de la planta utilizado.

En la evaluación de la actividad gastroprotectora, se utilizó un modelo de inducción de úlceras por etanol 96°. Aunque no se conoce el mecanismo exacto por el cual el etanol produce lesiones gástricas, un estudio sugirió la hiperproducción del factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α), aumento de la apoptosis e incremento de la peroxidación lipídica inducida por radicales libres como posibles mecanismos.³⁵

En la presente investigación, se observó que la administración por vía orogástrica del extracto hidroalcohólico de hojas de ***Juglans neotropica* Diels** a dosis de 250 y 500 mg/kg ejercen un efecto inhibitorio de las úlceras gástricas con un porcentaje de 84.61 y 94.77 % respectivamente (tabla 13), siendo el efecto dosis dependiente y estadísticamente significativo a $p < 0.05$, como en el estudio de Palomino Pacheco et al⁶. También se observó una mejoría en el edema y la hemorragia ($p < 0.05$), donde los valores obtenidos en estos indicadores demuestran ausencia de edema y leve sangrado en el grupo donde se administró el extracto a 500 mg/kg.

Juro et al demostraron la actividad cicatrizante del extracto de hojas de *Juglans neotropica* Diels al 5 % bajo las presentaciones de emulsión aceite y gel e hidrogel con una eficacia de cicatrización de 94.4 y 93.86 % respectivamente, además alcanzaron el 100 % de eficacia al día 21⁵. En el estudio de Huamán et al, el extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* presenta actividad antiulcerosa frente a etanol 96° a 400 mg/kg con un porcentaje de inhibición de 28.3 %³⁶. Sandoval et al demostraron en el estudio de actividad antioxidante y citoprotectora de *Solanum tuberosum* variedad tomasa, la fracción sobrenadante posee actividad antioxidante en dosis de 5mL/kg de peso y la fracción del precipitado brinda citoprotección a la mucosa gástrica de manera dosis dependiente³⁷.

El omeprazol, a dosis de 20 mg/kg, no demostró ser efectivo frente a las úlceras producidas por etanol 96° (33.38 %), a diferencia del sucralfato: 3 mL/kg (600 mg/kg) con eficacia de 64 %, que podría deberse tanto a la dosificación de los fármacos como al mecanismo de acción de cada uno: sucralfato es una compleja sal de sacarosa, sulfato e hidróxido de aluminio que, tras su ingestión oral y en contacto con un pH gástrico bajo, se polimeriza y origina una pasta pegajosa cargada negativamente que se adhiere de modo selectivo a las proteínas o restos proteicos del cráter ulceroso, cargadas positivamente, formando una barrera protectora que impide la actividad del ácido y la pepsina sobre la zona lesionada.²²

En el análisis histopatológico (figuras 38 al 47), se observaron descamaciones, inflamación, congestión y presencia de macrófagos. El grupo control presentó mucosa congestiva y empastamiento, que significa severa inflamación de la mucosa gástrica, que demuestran las lesiones formadas por el etanol. El extracto hidroalcohólico de ***Juglans neotropica* Diels**, a dosis de 250 y 500 mg/kg mostraron mejor gastroprotección que omeprazol, observándose en el extracto ligeras erosiones y descamación, y en el fármaco, mayor inflamación y congestión.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de ***Juglans neotropica* Diels** “nogal peruano” fue efectivo como agente gastroprotector en el modelo de inducción de úlceras gástricas por etanol 96°.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de ***Juglans neotropica* Diels** son compuestos fenólicos: flavonoides y taninos, antraquinonas, esteroides, triterpenos, saponinas y alcaloides.
3. El compuesto fenólico mayoritario en el extracto hidroalcohólico estuvo representado por taninos: 16.909 ± 0.382 mg EAG/g de extracto seco, de acuerdo al método colorimétrico de Folin Ciocalteu.
4. La actividad gastroprotectora del extracto hidroalcohólico se observó a la concentración de 500 mg/kg con porcentaje de inhibición de 94.77 % en el modelo de inducción de úlceras gástricas por etanol 96°.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kuklinski C. Farmacognosia Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Ediciones Omega. 2003
2. Zinia Taveira de Jesus N, de Souza Falcao H, Fernandes Gomes I, de Almeida Leite T, Rodrigues de Moraes Lima G, Barbosa-Filho JM et al. Tannins, Peptic Ulcers and Related Mechanisms. Int J Mol Sci. 2012; 13(3): 3203-3228.
3. Béjar E, Suárez S. Propiedades antioxidante y gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de hojas de *Jungia paniculata* DC Gray "Matico serrano", in Vitro. VI Jornadas Científicas Sanfernandinas y IX Jornadas de Investigación en Salud. An Fac med. 2007; 68 Supl 1: S19-S41.
4. Arroyo J, Almora Y, Quino M, Martínez J, Condorhuamán M, Flores M et al. Efecto citoprotector y antisecretor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas. An Fac med. 2009; 70(2): 89-96.
5. Juro S, Flores V, Mendoza Y, del Carpio C. Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels "nogal" en ratones albinos. Folia dermatol. Perú 2010; 21(1): 19-24.
6. Palomino-Pacheco M, Huamán Gutiérrez ÓG, Béjar Camarena E, Jurado Teixeira B, Palomino- Pacheco C. Evaluación gastroprotectora del extracto hidroalcohólico de hojas de *Guilleminea densa* (Hum. Bonpl. ex Willd.) Moq. (Sanguinaria) en úlceras inducidas con etanol. Rev acad Perú Salud 2010; 17(2): 55-60
7. Casado R, Landa A, Calvo JJ, Terencio MC, Calvo MI. Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Jungia paniculata*. Pharm Biol. 2010; 48(8): 897–905
8. Ramírez Cruz FJM. Efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze "Canchalagua" en ratas albinas [Tesis magister] Lima (Perú): Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.

9. Reynel C, Marcelo J. Árboles de los Ecosistemas Forestales Andinos. Manual de Identificación de Especies. Serie Investigación y Sistematización N°9. Programa Regional ECOBONA – INTERCOOPERATION. Lima. 2009.
10. Eidi A, Moghadam JZ, Mortazavi P, Rezazadeh S, Olamafar S. Hepatoprotective effects of *Juglans regia* extract against CCl₄-induced oxidative damage in rats. *Pharm Biol.* 2013; 51 (5): 558-565.
11. Nogal. [Internet]. Ecotintes. [accesada el 20 de febrero del 2014]. Disponible en: <http://www.ecotintes.com/content/es/nogal>
12. Cosmulescu S, Trandafir I. Anti-oxidant activities and total phenolic contents of leaf extracts from 14 cultivars of walnut (*Juglans regia* L.). *J Hortic Sci Biotechnol.* 2012; 87 (5): 504-508.
13. Carvalho M, Ferrreira PJ, Mendes VS, Silva R, Pereira JA, Jerónimo C et al. Human cáncer cell antiproliferative and antioxidant activities of *Juglans regia* L. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48: 441-447.
14. Santos-Filho SD, Leite Diniz C, Santos do Carmo F, de Souza da Fonseca A, Bernardo-Filho M. Influence of an Extract of *Juglans regia* on the Growth of *Escherichia coli*, on the Electrophoretic Profile of Plasmid DNA and on the Radiolabeling of Blood Constituents. *Braz arch biol technol.* 2008, 51: 163-168.
15. Nabavi SF, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Mahmoudi M, Rad SK. Biological activities of *Juglans regia* flowers. *Braz J Pharmacogn.* 2011; 21 (3): 465-470.
16. Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM. Antihemolytic activity and mineral contents of *Juglans regia* flowers. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 17: 1881-1883
17. Bulló M, Nogués MR, López-Uriarte P, Salas-Salvadó J, Romeu M. Effect of whole walnuts and walnut-skin extracts on oxidant status in mice. *Nutrition.* 2010; 26: 823-828.
18. Gibaja Oviedo S. Pigmentos naturales quinónicos. Fondo Editorial UNMSM Lima, 1998.

19. Brack Egg A. Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles en el Perú. Ecología y Desarrollo. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. 1999.
20. Juglans regia. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana [Internet] Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana; 2009. [accesada el 21 Julio del 2013]. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7629>.
21. Guía de Seguimiento Farmacoterapéutico sobre Úlcera Péptica. Universidad de Granada. 2009
22. Montes Teves P, Salazar Ventura S, Monge Salgado E. Cambios en la Epidemiología de la Úlcera Péptica y su Relación con la Infección con *Helicobacter Pylori*. Hospital Daniel Carrión 2000-2005. Rev Gastroenterol Perú. 2007; 27 (4): 382-388.
23. Bunnett NW, Lingappa VR. Enfermedad gastrointestinal. En: McPhee SJ, Ganong WF. Fisiopatología médica: una introducción a la medicina clínica. 5ta edición. México: Editorial El Manual Moderno. 2007. p 337-385.
24. Esplugues JV, Flórez J. Farmacología de la secreción ácida gástrica y de la ulceración mucosa digestiva. En: Flórez J. Farmacología humana. 3ra edición. Barcelona: Editorial Masson. 1997. p 757-784
25. Salomón Izquierdo S, López Hernández O, González Sanabia ML. Desarrollo de una tecnología para la obtención de extracto acuoso de *Momordica charantia* L. Rev Cubana Plant Med. 2011; 16 (4): 304-312.
26. Hernández Ortega Y, González Mosquera DM. Extracción y Caracterización preliminar de taninos a partir de *Boldoa purpurascens* cav. Rev Cub Quím. 2007; 19 (2): 52-54.
27. Gorriti Gutiérrez A, Córdova Rivera A, Jurado Teixeira B, Ortega Romero EC, Retuerto Figueroa MG. Manual de Laboratorio de Farmacognosia I. Cátedra de Farmacognosia y Medicina Tradicional. UNMSM. 2013.

28. Gil JF, Gómez M, Trejos J. Citotoxicidad y Actividad Anticancerígena de dos flavonoides aislados y purificados de *Brownea ariza* Brenth. Vitae-Colombia. 2009; 16(1): 93-101
29. Jiménez López P, Girbés Juan T. Determinación del contenido total de polifenoles en alimentos con el reactivo de Folin-Ciocalteu. Prácticas de Fundamentos de Alimentación y Nutrición. Grado de Nutrición Humana y Dietética. Nutrición y Bromatología. Facultad de Medicina; Universidad de Valladolid. 2012.
30. Palomino LR, García CM, Gil JH, Rojano BA, Durango DL. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquía (Colombia). Vitae-Colombia. 2009; 16(3): 388-395.
31. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Serie Ciencia y Tecnología. Convenio Andrés Bello, Bogotá, Colombia. 2000.
32. Ancheta Henríquez JR, Guzmán Santamaría MG. Efecto citoprotector del extracto acuoso de hojas de *Bixa Orellana* (Achiote) en úlceras gástricas inducidas por indometacina en un modelo de ratones. [Tesis doctoral] Antiguo Cuscatlán (El Salvador): Universidad Dr. José Matías Delgado; 2011.
33. Sánchez Calero J, Martínez Sánchez G, Faure García R. Efecto protector de los polifenoles de *Rhizophora mangle* L. sobre el daño oxidativo a proteínas y ADN. Rev Cubana Plant Med. 2011; 16(1): 1-12
34. Rahimipanah M, Harmedi M, Mirzapour M. Antioxidant activity and phenolic contents of Persian walnut (*Juglans regia* L.) green husk extract. Afr J Food Sci Technol. 2010; 1(4): 105-111.
35. Estruch R. Efectos del alcohol en la fisiología humana. Adicciones. 2002; 14 (1): 43 – 61.
36. Huamán O, Sandoval M, Arnao I, Béjar E. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote), en ratas. An Fac med. 2009; 70(2): 97-102.

37. Sandoval-Vegas M, Huamán-Gutiérrez O, Oré-Sifuentes R, Loli-Ponce A, Ayala-Pío S. Efecto antioxidante y citoprotector del *Solanum tuberosum* (papa) en la mucosa gástrica de animales de experimentación. An Fac med. 2010; 71(3): 147-52.

ANEXOS



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú, DECANA DE AMERICA

MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

CONSTANCIA N° 52 USM-2014

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (frutos), recibida de, **Paola Estefanía HURTADO MANRIQUE** de Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Juglans neotropica*** Diels y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: HAMAMELIDIDAE

ORDEN: JUGLANDALES

FAMILIA: JUGLANDACEAE

GENERO: Juglans

ESPECIE: *Juglans neotropica* Diels

Nombre vulgar: "Nogal peruano"

Determinado por: Blgo. Mario Benavente Palacios

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 3 de abril del 2014



Haydeé Montoya Terreros
Dña. Haydeé Montoya Terreros
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



Figura 18. *Juglans neotropica* Diels “nogal peruano”¹¹



Figura 19. Muestra fresca de hojas de *Juglans neotropica* Diels



Figura 20. Muestra vegetal lavada y aireada



Figura 21. Muestra fresca para determinación de humedad



Figura 22. Muestra vegetal secada en estufa



Figura 23. Muestra preparada para la molienda



Figura 24. Tamizado de la muestra pulverizada



Figura 25. Preparación del extracto hidroalcohólico



Figura 26. Filtrado del extracto hidroalcohólico



Figura 27. Realización de la marcha fitoquímica



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Vicerrectorado de Investigación

CERTIFICADO

San Martín de Porres, 19 de Noviembre del 2013

Mediante la Presente se certifica que las 42 ratas de la cepa SpragueDawley de sexo macho, con pesos entre 250 a 300 gr y de 2.5 meses de edad, adquiridas por la señorita Paola Estefanía Hurtado Manrique, estudiante de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, están en perfecto estado sanitario y fisiológico, para ser utilizadas en cualquier protocolo Biomédico.

Atentamente



M.V.Z. Fernando Benavides M.

Jefe de Bioterio-LID

Vicerrectorado de Investigación-UPCH

UNIVERSIDAD ACREDITADA INTERNACIONALMENTE CON MENCIÓN ESPECIAL EN INVESTIGACIÓN

50 AÑOS DE
EXCELENCIA ACADÉMICA Y
A LA VANGUARDIA DE
LA INVESTIGACIÓN

Av. Honorio Delgado 430, Lima 31, P.O Box 4314, Lima 100
Teléfonos: 3190004 / 3190000 anexo 2258 / Telefax: 3190004 anexo 2395
E-mail: vrinve@oficinas-upch.pe / Página Web: www.upch.edu.pe



Figura 28. Material biológico con agua *ad libitum*



Figura 29. Material biológico en jaulas metálicas

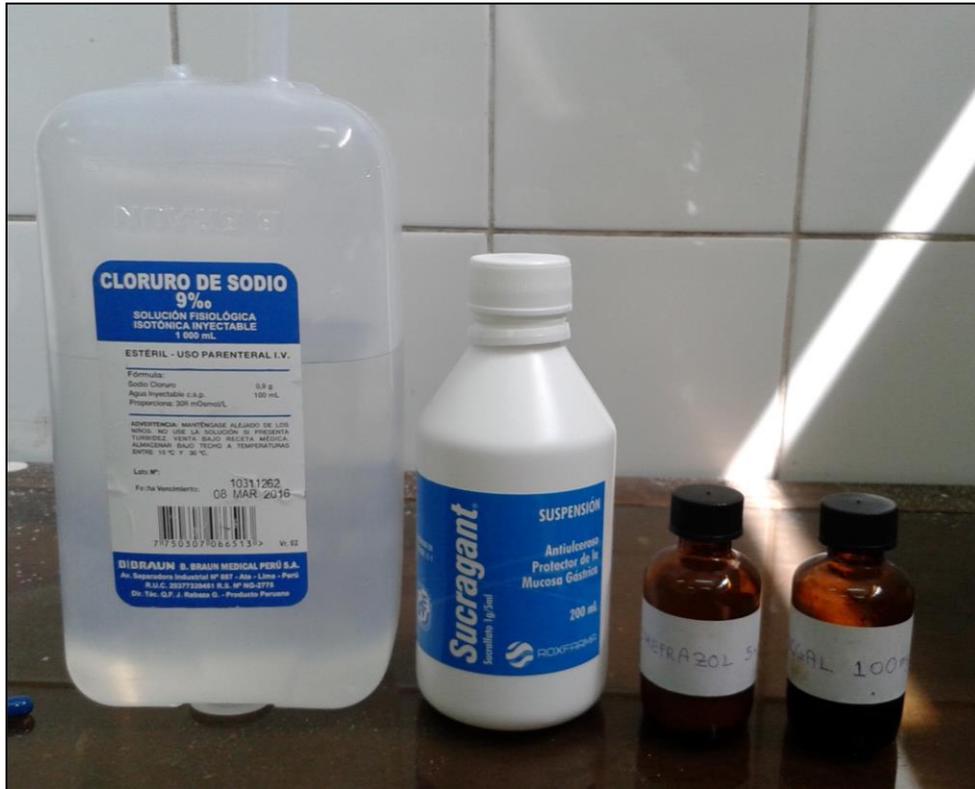


Figura 30. Solución de suero fisiológico, Medicamentos y Extracto de nogal



Figura 31. Grupo A “Blanco”: se observa edema en todos los estómagos y hemorragia en uno debido al ayuno.



Figura 32. Grupo B “Suero fisiológico 1 mL/250 g”: se observa edema y hemorragia severa en todos los estómagos debido al etanol 96°.



Figura 33. Grupo C “Omeprazol 20 mg/kg”: se observa intenso edema en todos y hemorragia en algunos.



Figura 34. Grupo D “Sucralfato 3 mL/kg”: se observa menor inflamación y hemorragia comparado con el grupo control.

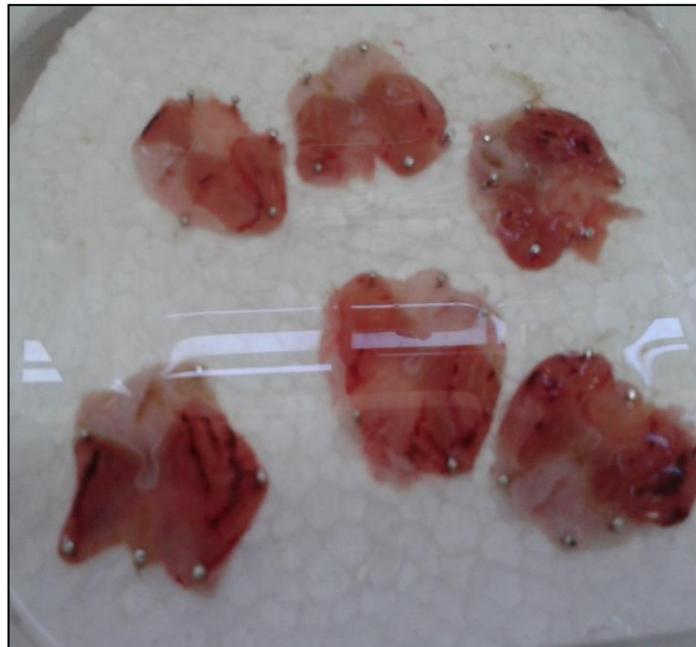


Figura 35. Grupo E “nogal 50 mg/kg”: se observa mayor inflamación y hemorragia que en los grupos A, B, C y D.



Figura 36. Grupo F “nogal 250 mg/kg”: se observa menor inflamación en todos los estómagos y pequeña hemorragia en uno.



Figura 37. Grupo G “nogal 500 mg/kg”: no se observa inflamación en ningún estómago y microhemorragia en uno.

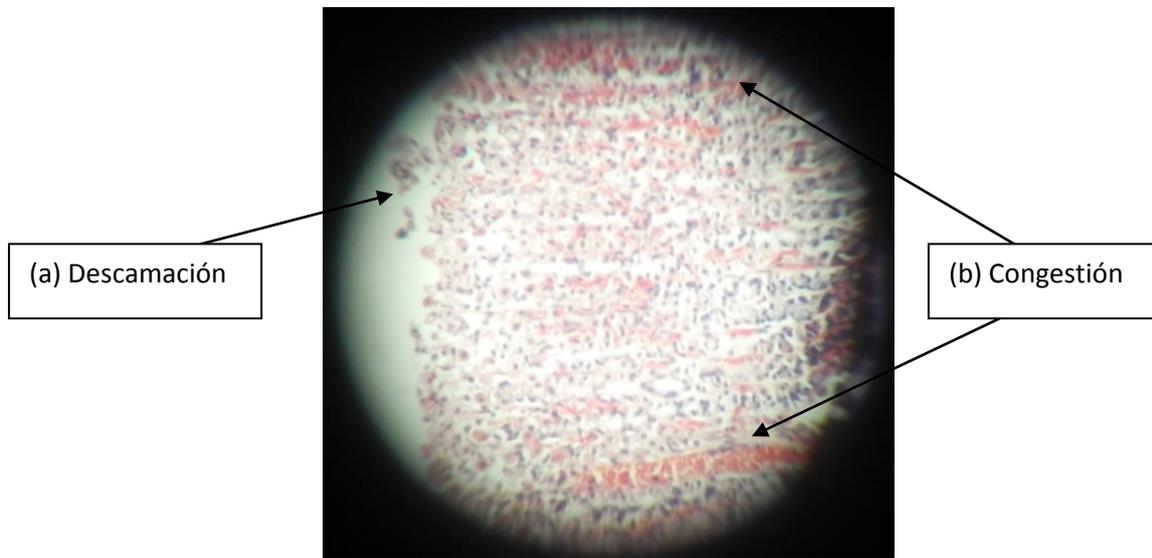


Figura 38. Grupo A: se observa erosiones, (a) discreta descamación, (b) ligera congestión e hipertrofia glandular

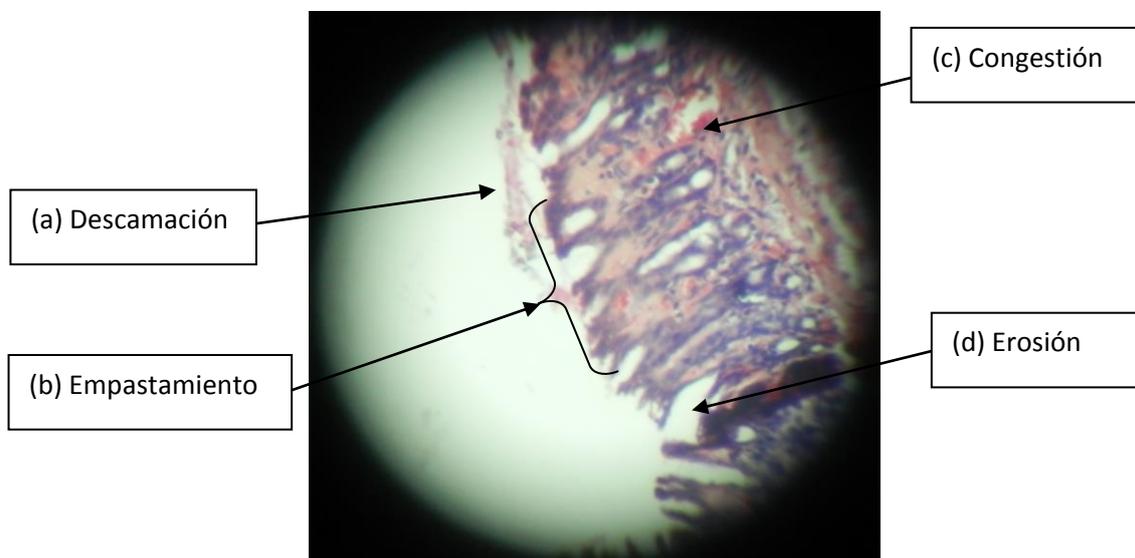


Figura 39. Grupo B: se observa (a) descamación, (b) empastamiento, (c) congestión, (d) erosiones, aumento de macrófagos e hipertrofia glandular

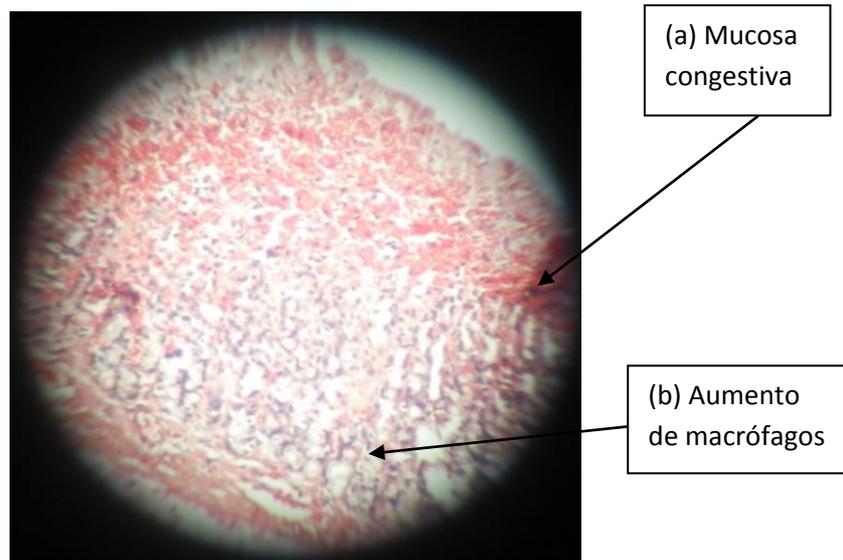


Figura 40. En la lámina del mismo grupo se observa (a) mucosa congestiva y (b) aumento de macrófagos debido a la reacción de la mucosa gástrica frente al etanol.

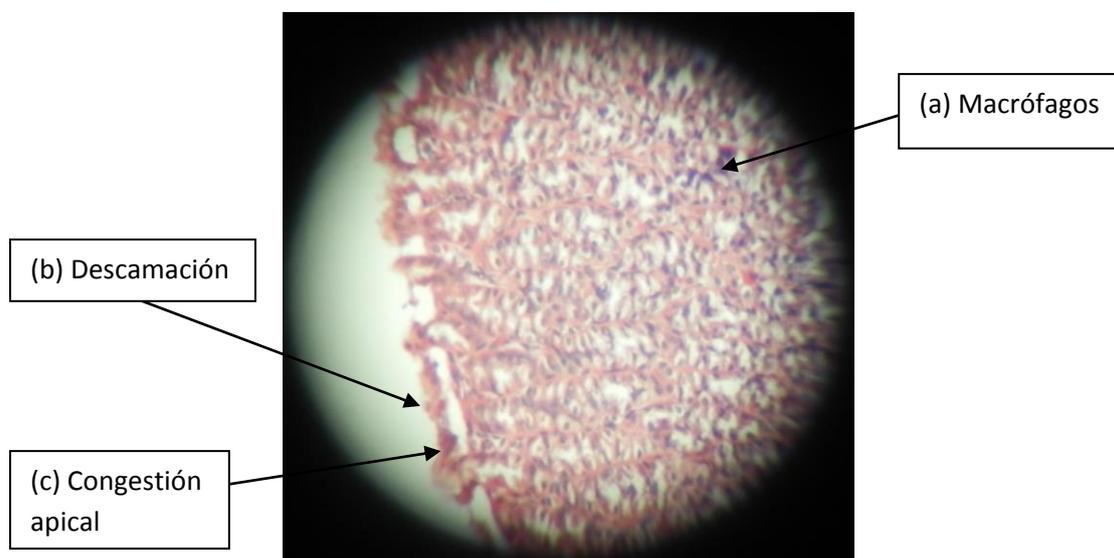


Figura 41. Grupo C: se observa discreta descamación, congestión apical, macrófagos, empastamientos, erosiones, hemorragia superficial y aumento de polimorfos nucleares. En la lámina se observa (a) macrófagos, (b) descamación y (c) congestión apical.

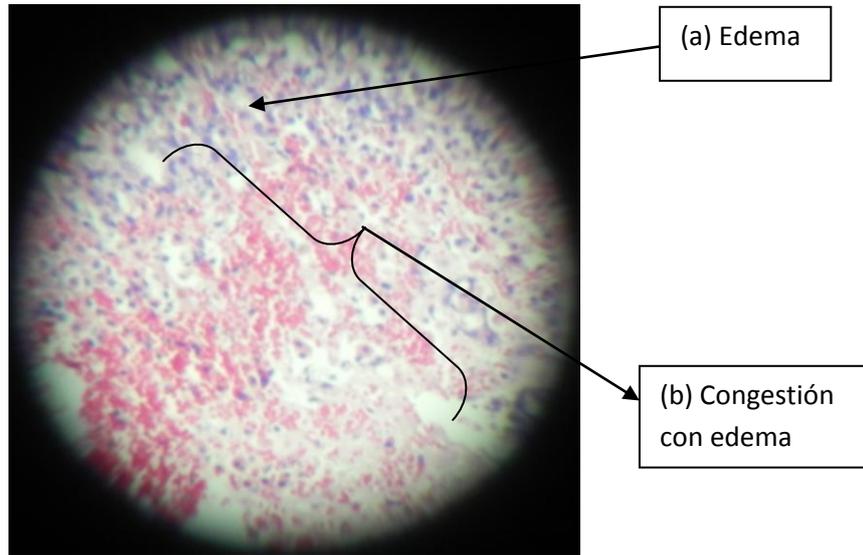


Figura 42. Grupo D: se observa edema, descamación, erosiones, discreto empastamiento, congestión basal y macrófagos. En la lámina, se observa (a) edema y (b) congestión con edema.

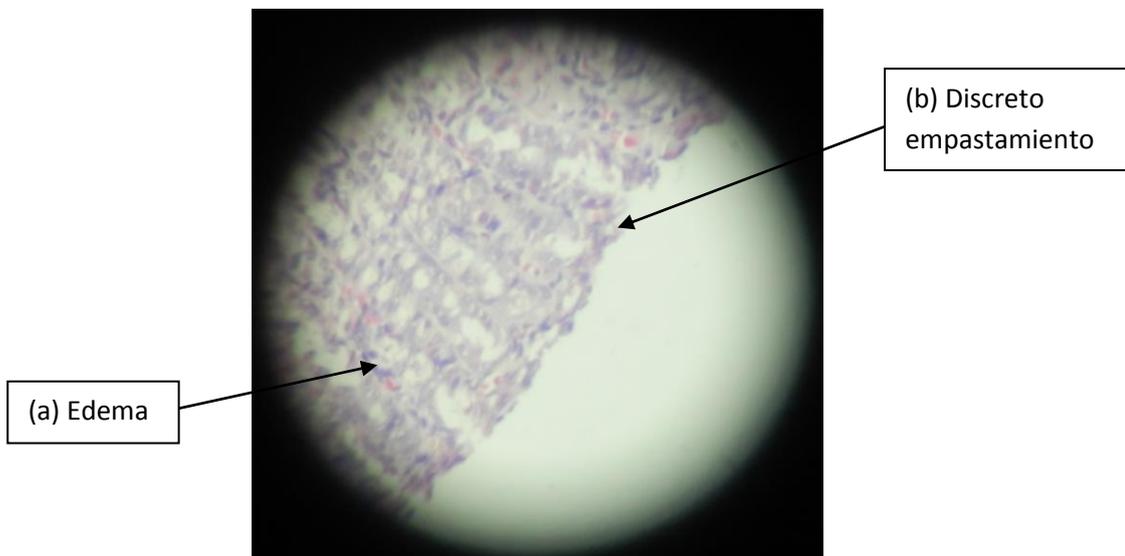


Figura 43. En esta lámina del mismo grupo, se observa (a) edema y (b) discreto empastamiento de las células de la mucosa gástrica.

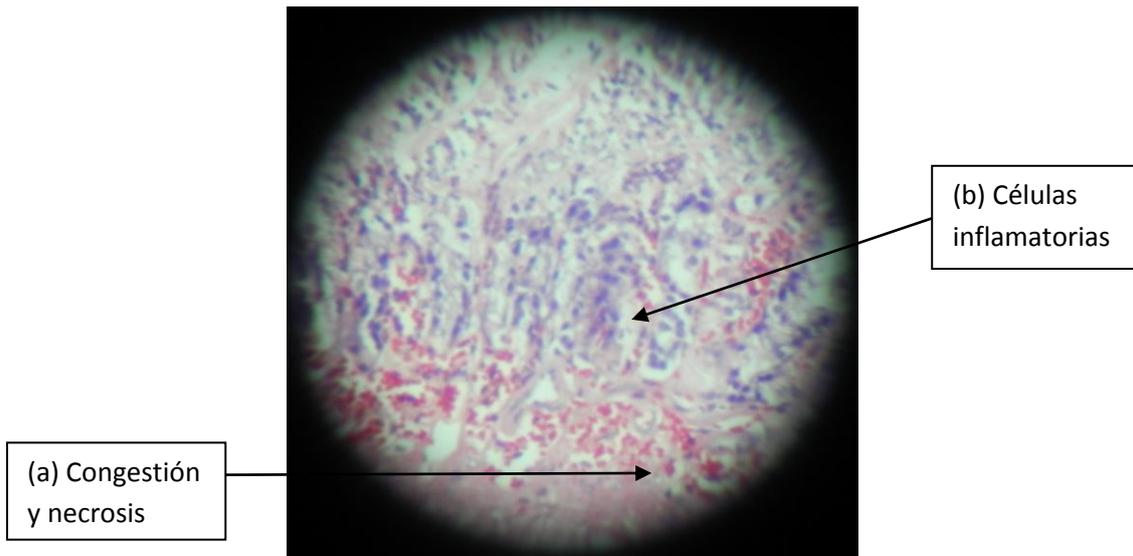


Figura 44. Grupo E: se observa descamaciones, erosiones, (a) congestión, empastamiento, (b) células inflamatorias, macrófagos, hipertrofia glandular y (a) necrosis.

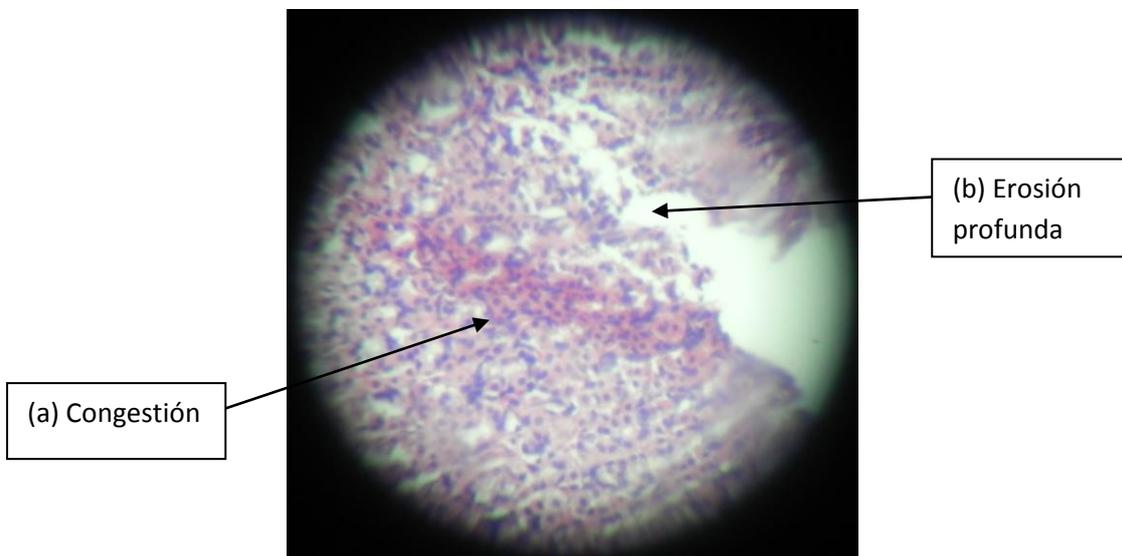


Figura 45. Grupo F: se observa descamación, discretas erosiones, ligera congestión, secreción e hipertrofia glandular. En esta lámina se observa (a) congestión y (b) erosión profunda.

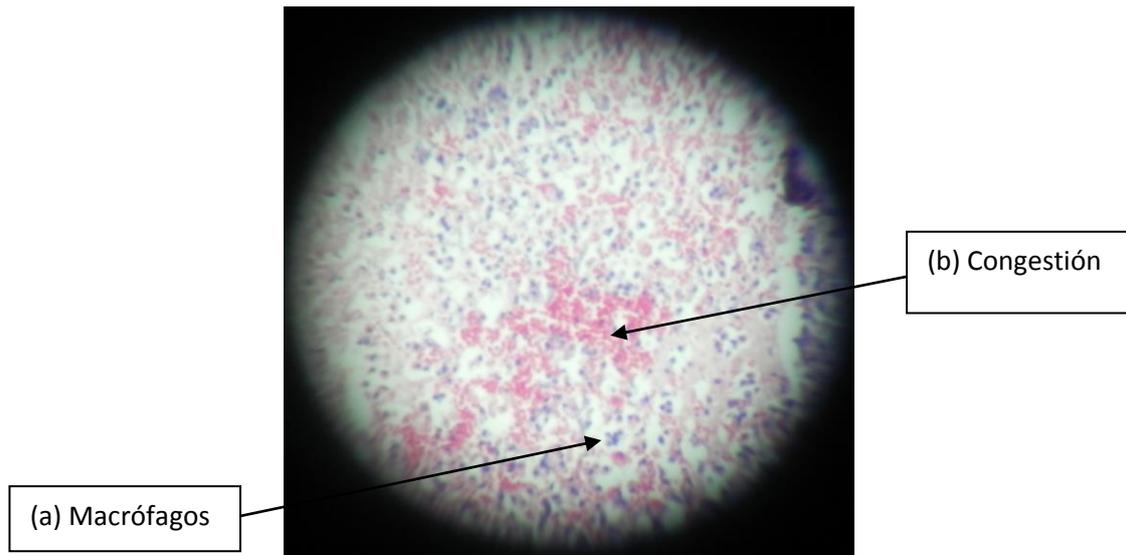


Figura 46. En esta lámina del mismo grupo se observa (a) macrófagos y (b) congestión celular, lo que significa que las células de la mucosa gástrica se han defendido de la agresión del etanol.

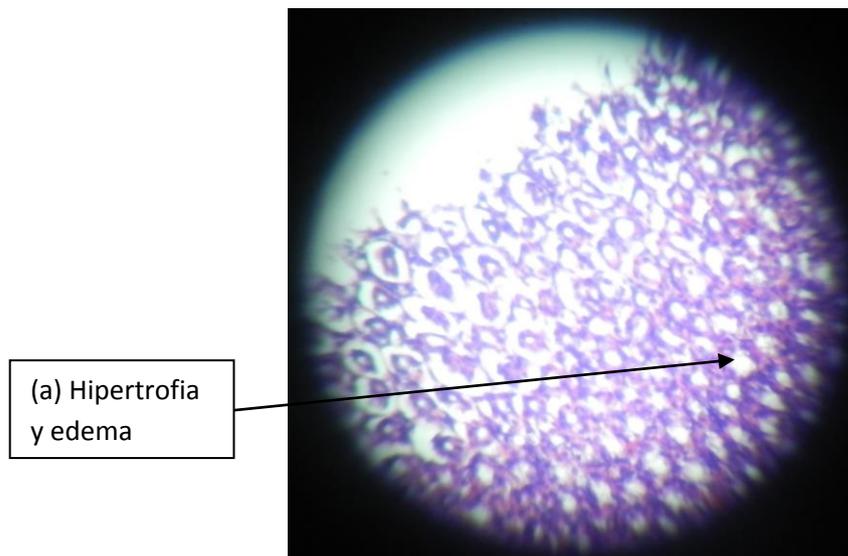


Figura 47. Grupo G: se observa descamación, erosión, edema, congestión e hipertrofia. En la lámina se observa (a) hipertrofia y edema.